



HAL
open science

Applications de la modélisation à l'analyse des cinétiques des marqueurs tumoraux sériques

Mélanie Wilbaux

► **To cite this version:**

Mélanie Wilbaux. Applications de la modélisation à l'analyse des cinétiques des marqueurs tumoraux sériques. Pharmacologie. Université Claude Bernard - Lyon I, 2014. Français. NNT : 2014LYO10225 . tel-01127177

HAL Id: tel-01127177

<https://theses.hal.science/tel-01127177>

Submitted on 7 Mar 2015

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

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



N° d'ordre 225 - 2014

Année 2014

THESE DE L'UNIVERSITE DE LYON

Délivrée par

L'UNIVERSITE CLAUDE BERNARD LYON 1

Ecole Doctorale Interdisciplinaire Sciences-Santé

DIPLOME DE DOCTORAT

Spécialité Recherche Clinique

(Arrêté du 7 août 2006)

Présentée et soutenue publiquement le 16 Octobre 2014 par

Mélanie WILBAUX

Applications de la modélisation à l'analyse des cinétiques des marqueurs tumoraux sériques

Directeur de thèse : Pr. Michel TOD

Co-directeur de thèse : Dr. Benoit YOU

JURY :
Pr. Gilles FREYER, président
Pr. Nicolas SIMON, rapporteur
Dr. Benjamin RIBBA, rapporteur
Pr. Eric PUJADE-LAURAIN, examinateur
Pr. Michel TOD, directeur
Dr. Benoit YOU, co-directeur



“Prediction is very difficult, especially if it's about the future.”

Niels Bohr

UNIVERSITE CLAUDE BERNARD - LYON 1

Président de l'Université

Vice-président du Conseil d'Administration

Vice-président du Conseil des Etudes et de la Vie Universitaire

Vice-président du Conseil Scientifique

Directeur Général des Services

M. François-Noël GILLY

M. le Professeur Hamda BEN HADID

M. le Professeur Philippe LALLE

M. le Professeur Germain GILLET

M. Alain HELLEU

COMPOSANTES SANTE

Faculté de Médecine Lyon Est – Claude Bernard

Faculté de Médecine et de Maïeutique Lyon Sud – Charles Mérieux

Faculté d'Odontologie

Institut des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques

Institut des Sciences et Techniques de la Réadaptation

Département de formation et Centre de Recherche en Biologie Humaine

Directeur : M. le Professeur J. ETIENNE

Directeur : Mme la Professeure C. BURILLON

Directeur : M. le Professeur D. BOURGEOIS

Directeur : Mme la Professeure C. VINCIGUERRA

Directeur : M. le Professeur Y. MATILLON

Directeur : Mme. la Professeure A-M. SCHOTT

COMPOSANTES ET DEPARTEMENTS DE SCIENCES ET TECHNOLOGIE

Faculté des Sciences et Technologies

Département Biologie

Département Chimie Biochimie

Département GEP

Département Informatique

Département Mathématiques

Département Mécanique

Département Physique

UFR Sciences et Techniques des Activités Physiques et Sportives

Observatoire des Sciences de l'Univers de Lyon

Polytech Lyon

Ecole Supérieure de Chimie Physique Electronique

Institut Universitaire de Technologie de Lyon 1

Ecole Supérieure du Professorat et de l'Education

Institut de Science Financière et d'Assurances

Directeur : M. F. DE MARCHI

Directeur : M. le Professeur F. FLEURY

Directeur : Mme Caroline FELIX

Directeur : M. Hassan HAMMOURI

Directeur : M. le Professeur S. AKKOUCHE

Directeur : M. Georges TOMANOV

Directeur : M. le Professeur H. BEN HADID

Directeur : M. Jean-Claude PLENET

Directeur : M. Y. VANPOULLE

Directeur : M. B. GUIDERDONI

Directeur : M. P. FOURNIER

Directeur : M. G. PIGNAULT

Directeur : M. C. VITON

Directeur : M. A. MOUGNIOTTE

Directeur : M. N. LEBOISNE

REMERCIEMENTS

Au terme de ce travail, je souhaite adresser mes sincères remerciements à tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce projet.

Je remercie grandement :

- ✓ le **Pr. Gilles Freyer** d'avoir accepté d'être président du jury. Un grand merci pour votre soutien et pour m'avoir fait confiance en m'intégrant dans l'équipe.
- ✓ le **Dr. Benjamin Ribba** de m'avoir fait l'honneur d'être rapporteur de ma thèse. Je te remercie plus particulièrement pour l'intérêt que tu as manifesté à l'égard de mes travaux tout au long de ces trois années, pour ton soutien et pour m'avoir permis de participer au séminaire de Grenoble lors de ma première année de thèse.
- ✓ le **Pr. Nicolas Simon** pour avoir accepté d'évaluer mes travaux en qualité de rapporteur.
- ✓ le **Pr. Eric Pujade-Lauraine** pour avoir accepté de prendre part à mon jury de thèse, même si la modélisation n'est pas votre spécialité. Je vous remercie d'avoir apporté votre point de vue clinique.
- ✓ mon directeur de thèse, le **Pr. Michel Tod**, pour m'avoir dirigé tout au long de ces années. Michel, je vous suis reconnaissante de m'avoir fait bénéficier tout au long de ce travail de vos compétences, vos brillantes idées et de votre efficacité certaine que je n'oublierai jamais. J'ai également été extrêmement sensible à vos qualités humaines d'écoute et de compréhension tout au long de ce travail. Je suis très honorée de vous avoir eu pour directeur de thèse et je souhaite à tous les futurs doctorants d'avoir un encadrant de cette envergure !
- ✓ mon co-encadrant, le **Dr. Benoît You**, qui fut pour moi un co-directeur de thèse attentif et disponible malgré ses nombreuses charges. Benoît, je te remercie pour ton optimisme, ta patience, pour le temps que tu as pu consacrer à la relecture des papiers et du manuscrit, et tes nombreux conseils. Merci pour toutes tes collaborations scientifiques qui nous ont permis de travailler sur des données aussi riches. Tu as apporté à nos nombreuses discussions ton regard clinique et tes questions nous ont toujours poussés à réfléchir à la cohérence de nos travaux de modélisation, ce qui s'est avéré une expérience très enrichissante. Je n'oublierai jamais tes qualités humaines et ta gentillesse.
- ✓ ma « co-co-encadrante » : le **Dr. Emilie Hénin**. Je ne te remercierai jamais assez pour ta patience, ton esprit critique, ton soutien infaillible et ton aide précieuse. Tu t'es toujours rendu disponible pour moi : du concours de l'allocation doctorale à la soutenance de thèse, en passant par les communications orales du PAGE... Merci pour toutes les heures

passées à essayer de résoudre des erreurs de codes sous NONMEM, faire des calculs de delta-méthode... J'ai énormément appris à tes côtés. Cette thèse te doit beaucoup. Je te remercie également pour ta gentillesse, ta bonne humeur et tous les bons moments passés ensemble.

Je n'aurai jamais pu réaliser ce travail doctoral sans le soutien d'un grand nombre de personnes dont la générosité et la bonne humeur m'ont permis de passer toutes ces années dans de bonnes conditions.

Je tiens donc à remercier :

- ✓ **Olivier Colombar** pour avoir pris le temps de m'apprendre R durant mon Master ; je sais qu'il y avait du boulot, car je partais de zéro !
- ✓ **Fabienne** pour ta gentillesse et ton soutien.
- ✓ **Raymonde** pour ton efficacité dans l'organisation et la résolution des problèmes administratifs. Je n'oublierai jamais ta sympathie, toutes tes petites histoires qui me font tellement rire !

J'ai une pensée particulière aux super nageuses de notre **Piscine-Club**, Brigitte, Raymonde et Emilie : nos séances de natation et surtout nos fameux pique-niques me manquent beaucoup !

Mes remerciements vont également à :

- ✓ **Cécile**, j'espère qu'on pourra se refaire des petits restos quand je reviendrai sur Lyon.
- ✓ **Gigi** et **Cathy** : je garderai de très bons souvenirs avec vous : atelier chocolat, cocktail et piscine chez Cathy...
- ✓ **Sylvain, Mévidette, Anaïs** et **Klervi** pour leur gentillesse et leur bonne humeur.

J'ai également une pensée pour toutes les personnes rencontrées au cours de ma thèse, que je remercie pour leur soutien et l'intérêt manifesté à l'égard de ma recherche : **Christian Laveille, Pascal Chanu, Camille Vong, Pauline Mazzoco, Inès Paule, Laure Lalande, David Ternant, Nicolas Azzopardi, Edouard Ollier, Amélie Marsot, Ludivine Fronton...**

Enfin, ma reconnaissance va à ceux qui ont plus particulièrement assuré le soutien affectif de ce travail doctoral.

Mes plus profonds remerciements vont à mes parents. Tout au long de mon cursus, ils m'ont toujours soutenue, encouragée et aidée. Ils ont su me donner toutes les chances pour réussir. Qu'ils trouvent, dans la réalisation de ce travail, l'aboutissement de leurs efforts ainsi que l'expression de ma plus affectueuse gratitude.

J'adresse toute mon affection à ma famille pour leur soutien, leur confiance et leur joie de vivre : mes Tatans adorées Martine et la Pète, ma marraine Mamou, mes super Tontons Patrick, Jean-

Pierre et Richard, mes couz, Anne-Sophie (dit Cunégonde), Margote, Aurélie, Thibault, Popolinou, Sylvain (dit cokinou), ma mémé, ma mamie...

Un grand merci à mes « deuxièmes parents », Chantal et Serge, d'avoir été auprès de moi pendant toutes ces années.

Enfin ces remerciements ne sauraient être complets si je n'y incluais mon frère pour m'avoir aidé, conseillé, et surtout pour avoir supporté mes plaintes au téléphone ! Pour nos voyages qui m'ont permis de m'échapper de la thèse : New-York, Stockholm, Londres. Je suis maintenant prête pour affronter notre nouveau challenge : l'ascension du Mont-Blanc.

Je remercie mon chéri, Bertrand, qui a su me soutenir, me supporter et m'encourager pendant toute la durée de ma thèse et plus particulièrement durant mes périodes de doutes.

Un grand merci également à Dom et Michel de m'avoir soutenu pendant ces trois ans.

Je souhaite également remercier mes amies de grande date qui ont su m'apporter confiance et écoute à tous les moments et m'ont permis de penser à autre chose qu'à ma thèse : mes petits eucalyptus Alex et Lolite, et mes coéquipières, Princesse Morène, ma petite Maud et Elo.

Encore un grand merci à tous pour m'avoir conduit à ce jour mémorable. Merci aux personnes qui ont cru en moi et m'ont permis d'arriver au bout de cette thèse.

A mon grand-père...

RESUME

Applications de la modélisation à l'analyse des cinétiques des marqueurs tumoraux sériques

Résumé

Le cancer est la première cause de mortalité dans le monde. Malgré ce constat, le développement des médicaments en oncologie présente le taux de réussite le plus bas. Il est donc nécessaire de développer de nouvelles stratégies pour la prédiction précoce de l'efficacité des traitements.

Les marqueurs tumoraux sériques sont des molécules produites par la tumeur et libérées dans le sang. Leur cinétique est censée refléter la réponse de la tumeur au traitement en cours. Plusieurs méthodes d'analyses ont été décrites, mais très peu sont utilisées en pratique, due à l'hétérogénéité et la faible reproductibilité des résultats.

Nous proposons, dans cette thèse, d'utiliser les techniques de modélisation mathématiques selon l'approche de population afin de décrire les cinétiques de plusieurs marqueurs tumoraux sériques et d'analyser leurs potentielles applications.

Dans un premier temps, nous avons construit un modèle reliant les cinétiques de taille tumorale et de CA-125 dans le cancer de l'ovaire. Nous avons ensuite évalué son application pour : i) la prévision de la réponse tumorale au niveau individuel ; ii) la prédiction précoce de la survie au niveau d'une population dans le développement du médicament.

Enfin, nous avons réalisé un travail plus méthodologique sur la modélisation des cinétiques conjointes de PSA et d'un nouveau marqueur, le nombre de cellules tumorales circulantes, dans le cancer de la prostate. Un modèle atypique combinant plusieurs innovations en pharmacométrie a été développé. En perspective, un lien va être établi avec la survie.

En conclusion, la modélisation mathématique est un outil efficace pour l'évaluation précoce de l'efficacité des traitements.

Mots-clés

Oncologie ; marqueurs tumoraux sériques ; modélisation mathématique ; approche de population ; modèle non-linéaire à effets mixtes ; cinétique ; CA-125 ; PSA ; CTCs ; développement du médicament

ABSTRACT

Applications of mathematical modeling for analysis of serum tumor marker kinetics

Abstract

Cancer is the leading cause of death worldwide; however, oncology drugs present the lowest rate of successful drug development. Therefore, there is a need for predictive factors able to inform early on treatment efficacy, prior to imaging results.

Serum tumor markers are molecules produced by cancer cells and released into blood. Their kinetics during treatment is considered as a reflection of tumor response. As a consequence, many approaches meant to monitor marker kinetics have been reported. However very few have been adopted in oncology practice, due to the high heterogeneity and the low reproducibility in methods and outcomes.

Our thesis project aimed at building mathematical models, using population approach, for different serum tumor markers, in order to describe their kinetics and to assess their potential applications.

In a first step, we built a semi-mechanistic model linking tumor size and CA-125 kinetics induced by chemotherapy in ovarian cancer patients. This model allowed assessment of CA-125 as: i) a biomarker of tumor size dynamics and treatment efficacy for clinical purposes; ii) an early predictor of clinical benefit during drug development.

Then, we realized a more fundamental work by developing a semi-mechanistic model for characterizing the relationships between PSA kinetics and circulating tumor cell count dynamics during treatment in metastatic prostate cancer patients. This is an atypical model combining several advanced features in pharmacometrics. We have planned to assess a link with survival.

In conclusion, mathematical modeling could be an efficient tool for the early prediction of treatment efficacy.

Keywords

Oncology; serum tumor marker; mathematical modeling; population approach; non-linear mixed effects modeling; kinetics; CA-125; PSA; CTCs; drug development

LISTE DES PUBLICATIONS

Publications en premier auteur :

Mélanie WILBAUX, Emilie HENIN, Amit OZA, Olivier COLOMBAN, Eric PUJADE-LAURAINÉ, Gilles FREYER, Michel TOD, Benoit YOU.

Prediction of tumour response induced by chemotherapy using modelling of CA-125 kinetics in recurrent ovarian cancer patients.

British Journal of Cancer 110(6): 1517-1524. 2014.

Mélanie WILBAUX, Emilie HENIN, Amit OZA, Olivier COLOMBAN, Eric PUJADE-LAURAINÉ, Gilles FREYER, Michel TOD, Benoit YOU.

Dynamic modeling in ovarian cancer: An original approach linking early changes in modeled longitudinal CA-125 kinetics and survival to help decisions in early drug development.

Gynecologic Oncology 133(3): 460-466. 2014.

Mélanie WILBAUX, Michel TOD, Johann DE BONO, David LORENTE, Joaquin MATEO, Gilles FREYER, Benoit YOU, Emilie HENIN.

A joint model for the longitudinal kinetics of CTC count and PSA concentration during treatment in metastatic castration-resistant prostate cancer.

Soumis à *Clinical Pharmacology & Therapeutics: Pharmacometrics & Systems*, 2014.

Publication en co-auteur :

Roula ALMUFTI, **Mélanie WILBAUX**, Amit OZA, Emilie HENIN, Gilles FREYER, Michel TOD, Olivier COLOMBAN, Benoit YOU.

A critical review of the analytical approaches for circulating tumor biomarker kinetics during treatment.

Annals of Oncology 25 (1): 41-56. 2014.

LISTE DES COMMUNICATIONS

Communications orales :

Mélanie WILBAUX, Benoit YOU, Emilie HENIN, Olivier COLOMBAN, Gilles FREYER, Michel TOD.

Population K-PD joint modeling of tumor size and CA-125 kinetics after chemotherapy in relapsed ovarian cancer (ROC) patients.

21st PAGE Meeting – Oral Clinical Applications, Abstract 2587. June 2012, Venice, Italy.

Mélanie WILBAUX, Michel TOD, Johann DE BONO, David LORENTE, Joaquin MATEO, Gilles FREYER, Benoit YOU, Emilie HENIN.

A dynamic K-PD joint model for the kinetics of CTC (Circulating Tumor Cell) count and PSA concentration during treatment in metastatic castration-resistant prostate cancer.

23rd PAGE Meeting – Lewis Sheiner Student Session, Abstract 3029. June 2014, Alicante, Spain.

Présentations à des séminaires :

Mélanie WILBAUX, Benoit YOU, Emilie HENIN, Olivier COLOMBAN, Gilles FREYER, Michel TOD.

Mathematical modeling of tumor size and CA-125 kinetics in relapsed ovarian cancer patients treated with chemotherapy.

Séminaire Recherche de la Faculté de Médecine Lyon-Sud. September 2012, Lyon, France.

Mélanie WILBAUX, Benoit YOU, Emilie HENIN, Olivier COLOMBAN, Gilles FREYER, Michel TOD.

Mathematical modeling of tumor size and CA-125 kinetics in relapsed ovarian cancer patients.

17^{ème} Journée Scientifique de l'EDISS. October 2012, Lyon, France

Mélanie WILBAUX, Emilie HENIN, Gilles FREYER, Benoit YOU, Michel TOD.

Dynamic modeling in ovarian cancer: an original approach linking early changes in CA-

125 kinetics and survival, to help decisions in early drug development.
18^{ème} Journée Scientifique de l'EDISS. October 2013, Lyon, France.

Communications affichées :

Mélanie WILBAUX, Benoit YOU, Emilie HENIN, Olivier COLOMBAN, Michel TOD, Gilles FREYER.

Population K-PD joint modeling of tumor size and CA-125 kinetics after chemotherapy in recurrent ovarian cancer patients.

7^{ème} Edition des Journées Scientifiques du CLARA. March 2012, Lyon, France.

Mélanie WILBAUX, Emilie HENIN, Olivier COLOMBAN, Amit OZA, Eric PUJADE-LAURAIN, Gilles FREYER, Michel TOD, Benoit YOU.

Benefit in progression-free survival (PFS) to expect based on CA-125 reduction at week 6 in recurrent ovarian cancer (ROC) patients: CALYPSO phase III trial data (a GINECO-GCIG study).

2013 ASCO Annual Meeting, J Clin Oncol 31 (suppl; abstr 5547). June 2013, Chicago.

Mélanie WILBAUX, Emilie HENIN, Olivier COLOMBAN, Amit OZA, Eric PUJADE-LAURAIN, Gilles FREYER, Benoit YOU, Michel TOD.

A drug-independent model predicting Progression-Free Survival to support early drug development in recurrent ovarian cancer.

22nd PAGE Meeting – Poster Oncology, Abstract 2716. June 2013, Glasgow, Scotland

Mélanie WILBAUX, Benoit YOU, Emilie HENIN, Anne-Claire HARDY-BESSARD, Alain LORTHOLARY, Eric PUJADE-LAURAIN, Gilles FREYER, Michel TOD, Alexander REUSS, Andreas DU BOIS, Jalid SEHOULI, Uwe WAGNER, Jacobus PFISTERER.

Validation of modeled early longitudinal CA-125 kinetics for predicting survival in ovarian cancer (OC) phase III trials: could the failure of adding gemcitabine to carboplatin-paclitaxel (AGO-OVAR 9) have been foreseen earlier in the trial?

39th ESMO Congress – Poster Biomarkers, Abstract 7287. September 2014, Madrid, Spain.

INDEX DES FIGURES

Figure 1 - Contrôles principaux de l'axe hypothalamo-hypophysio-gonadique.....	- 31 -
Figure 2 - CTCs et processus métastatique d'après Danila et al. (Danila <i>et al</i> , 2011).....	- 58 -
Figure 3 - La technique <i>CellSearch</i> pour la détection et l'énumération des CTCs, d'après Paterlini et al. (Paterlini-Brechot & Benali, 2007).....	- 59 -
Figure 4 - Approches d'analyses des marqueurs tumoraux basées sur une valeur unique (Almufti <i>et al</i> , 2013).....	- 63 -
Figure 5 - Approches d'analyses des marqueurs tumoraux basées sur au moins deux valeurs (Almufti <i>et al</i> , 2013).....	- 65 -
Figure 6 - Principe de la modélisation PK-PD.....	- 68 -
Figure 7 - Les principaux modèles PK.....	- 70 -
Figure 8 - Modèle direct : profils cinétiques de concentration et de réponse (Upton & Mould, 2014).....	- 71 -
Figure 9 - Modèle du E_{max}	- 72 -
Figure 10 - Modèle indirect : profils cinétiques de concentration et de réponse (Upton & Mould, 2014).....	- 73 -
Figure 11 - Phénomène d'hystérésis (Upton & Mould, 2014).....	- 73 -
Figure 12 - Représentation compartimentale d'un modèle indirect.....	- 74 -
Figure 13 - Les différents modèles d'action indirecte.....	- 74 -
Figure 14 - Modèle K-PD.....	- 76 -
Figure 15 - Les différents niveaux de variabilité.....	- 78 -
Figure 16 - Modèle d'erreur résiduelle additif.....	- 79 -
Figure 17 - Modèle d'erreur résiduelle proportionnel.....	- 80 -
Figure 18 - Modèle additif de variabilité inter-individuelle.....	- 81 -
Figure 19 - Modèle exponentiel de variabilité inter-individuelle.....	- 81 -
Figure 20 - Formalisation des différentes variabilités.....	- 82 -
Figure 21 - Modèle de cascade métastatique selon Coumans et al. (Coumans <i>et al</i> , 2013).....	- 88 -
Figure 22 - <i>Learn & Confirm paradigm</i> dans le développement du médicament (Lalonde <i>et al</i> , 2007).....	- 95 -
Figure 23 - Modèle TS-CA.....	- 103 -
Figure 24 - Suivi de la réponse tumorale au traitement.....	- 106 -
Figure 25 - Prédiction de la réponse tumorale au traitement.....	- 107 -
Figure 26 - AUC des courbes ROC en fonction du temps.....	- 112 -
Figure 27 - Graphiques de validation du modèle TS-CA sur les données AGO-OVAR.....	- 115 -
Figure 28 - Validations interne et externe du modèle de PFS ajusté aux données AGO-OVAR.....	- 116 -
-	
Figure 29 - Profils cinétiques du nombre de CTCs et du PSA.....	- 157 -
Figure 30 - Nombre de CTCs en fonction des concentrations de PSA.....	- 158 -
Figure 31 - Représentation simplifiée du modèle reliant les cinétiques de CTCs et PSA.....	- 159 -
Figure 32 - Principe du modèle de <i>Cell lifespan</i>	- 160 -
Figure 33 - Représentation compartimentale du modèle reliant les cinétiques de CTCs et PSA.....	- 162 -

INDEX DES TABLEAUX

Tableau I : Classification pharmaco-chimique des agents cytotoxiques.....	- 30 -
Tableau II : Classification FIGO et équivalence TNM dans le cancer de l’ovaire.....	- 37 -
Tableau III : Taux de survie relative à 5 ans en fonction des stades FIGO dans le cancer de l’ovaire.....	- 38 -
Tableau IV : Classification TNM dans le cancer de la prostate.....	- 43 -
Tableau V : Classification de D’Amico dans le cancer de la prostate.....	- 44 -
Tableau VI : Marqueurs tumoraux les plus utilisés.....	- 49 -
Tableau VII : Performance des prédictions de réponses tumorales.....	- 108 -
Tableau VIII : Différences entre les populations des essais CALYPSO et AGO-OVAR.....	- 114 -
Tableau IX : Paramètres estimés sur AGO-OVAR 5 et 7.....	- 116 -

ABREVIATIONS

AGO : *Arbeitsgemeinschaft Gynaekologische Onkologie*, Groupe de travail en oncologie gynécologique

AIC : *Akaike Information Criterion*, Critère d'information d'Akaike

AMM : Autorisation de Mise sur le Marché

AUC : *Area Under the Curve*, Aire sous la courbe

BLQ : *Below Limit of Quantification*, Valeurs inférieurs à la limite de quantification

CA-125 : *Cancer Antigen*, Antigène de tumeur de l'anticorps OC-125

CALYPSO : *Caelyx in Platinum-Sensitive Ovarian cancer*, Essai sur le caelyx dans le cancer de l'ovaire sensible au platine

CD : Carboplatine – Doxorubicine liposomale pégylée

CI : *Confidence Interval*, Intervalle de confiance

CP : Carboplatine - Paclitaxel

CTCs : *Circulating Tumor Cells*, Cellules Tumorales Circulantes

Δ CA125 : Variation relative de CA-125 du temps 0 à la semaine 6

Δ TS : Variation relative de taille tumorale du temps 0 à la semaine 6

EBEs : *Empirical Bayes Estimates*, Estimations bayésiennes

EMA : *European Medicines Agency*, Agence européenne des médicaments

EpCAM : *Epithelial Cell Adhesion Molecule*, Molécule d'adhérence cellulaire épithéliale

FDA : *Food and Drug Administration*, Agence américaine des produits alimentaires et médicamenteux

FIGO : Fédération Internationale des Gynécologues Obstétriciens

FO : *First Order*, Méthode d'approximation de premier ordre

FOCE : *First Order Conditional Estimation*, Méthode d'estimation conditionnelle d'ordre 1

GCIG : *Gynecologic Cancer InterGroup*, Inter-groupe sur les cancers gynécologiques

GOF : *Goodness-Of-Fit*, Ajustement d'un modèle aux données

hCG : *Human Chorionic Gonadotrophin*, Hormone gonadotrophine chorionique

IIV : *Inter-Individual Variability*, Variabilité inter-individuelle

IRM : Imagerie par Résonance Magnétique

K-PD : *Kinetic – Pharmacodynamic*, Cinétique-pharmacodynamique

LOQ : *Limit Of Quantification*, Limite de quantification

M&S : *Modeling & Simulation*, Modélisation et simulation

MAE : *Mean Absolute prediction Error*, Critère d'erreur absolue moyenne

mCRPC : *Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer*, Cancer métastatique de la prostate résistant à la castration

MPE : *Mean Prediction Error*, Critère d'erreur moyenne

NLME : *Non-Linear Mixed Effects*, Approche non-linéaire à effets mixtes

NONMEM : *NON-linear Mixed Effects Model*, Logiciel de modélisation non-linéaire à effets mixtes

NPDE : *Normalised Prediction Distribution Errors*, Erreurs normalisées sur la distribution prédictive

OFV : *Objective Function Value*, Valeur de la fonction objective

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

ORR : *Objective Response Rate*, Réponse tumorale objective

OS : *Overall Survival*, Survie globale

OVAR : *OVARian cancer study group*, Groupe sur le cancer de l'ovaire

PFS : *Progression-Free Survival*, Survie sans progression

PK : *PharmacoKinetics*, Pharmacocinétique

PK-PD : *PharmacoKinetics-Pharmacodynamics*, Pharmacocinétique – Pharmacodynamie

PROs : *Patient-Reported Outcomes*, Critères d'évaluation rapportés par le patient

PSA : *Prostate-Specific Antigen*, Antigène spécifique de prostate

RECIST : *Response Evaluation Criteria In Solid Tumors*, Critère d'évaluation de la réponse tumorale dans les tumeurs solides

ROC : *Recurrent Ovarian Cancer*, Cancer de l'ovaire récurrent / *Receiver Operating Characteristics*, Courbe caractéristique de performance d'un test

RSE : *Relative Standard Error*, Erreur standard relative

SAEM : *Stochastic Approximation Expectation Maximization*, Algorithme d'approximation stochastique d'Expectation Maximisation

SE : *Standard Error*, Erreur standard

SLD : *Sum of the Longest Dimension or Diameter*, Somme des plus grandes dimensions ou diamètres

TNM : Tumeur - *Nodes* (ganglions lymphatiques) - Métastases. Classification basée sur la taille de la tumeur (T), l'atteinte éventuelle des ganglions lymphatiques (N) et la présence éventuelle de métastases (M)

VPC : *Visual Predictive Check*, Vérification visuelle de la qualité prédictive du modèle

SYMBOLES DES EQUATIONS

α : Paramètre de « forme » de la fonction de survie / Facteur d'échelle appliqué à CTC_{Total}

$\alpha_{\Delta CA125}$: Taux de variation de la durée de vie par unité de $\Delta CA125$

α_X : Taux de variation du temps de PFS par unité de covariable X

A : Quantité de médicament

A_1 : Quantité de médicament dans le compartiment central

A_2 : Quantité de médicament dans le compartiment périphérique ou de transit

A_{50} : Quantité de médicament produisant 50% de l'effet inhibiteur maximal

A_{50_c} : Quantité de médicament de chimiothérapie produisant 50% de l'effet inhibiteur maximal

A_{50_h} : Quantité de médicament d'hormonothérapie produisant 50% de l'effet inhibiteur maximal

A_{bs} : Compartiment de dépôt de la quantité de médicament qui va être absorbée

A_c : Quantité de médicaments dans le compartiment central pour la chimiothérapie

A_{cD} : Quantité de médicaments dans le compartiment central retardé pour la chimiothérapie

A_h : Quantité de médicaments dans le compartiment central pour l'hormonothérapie

A_hD : Quantité de médicaments dans le compartiment central retardé pour l'hormonothérapie

C : Concentration en médicament

CA_0 : Valeur initiale de CA-125 / Concentration de CA-125 prédite au temps 0

CA_{Week6} : Concentration de CA-125 prédite à la semaine 6

CTC_{Obs} : Nombre de CTCs observé dans l'aliquote

CTC_{Total} : Nombre de CTCs dans le sang total

$\Delta CA125$: Variation relative de CA-125 du temps 0 à la semaine 6

ΔTS : Variation relative de taille tumorale du temps 0 à la semaine 6

$\varepsilon_{i,j}$: Erreur résiduelle chez le $i^{\text{ème}}$ individu au $j^{\text{ème}}$ temps

η_i : Vecteur d'effets aléatoires inter-individuels

E : Effet ou Réponse

E_0 : Effet basal sans médicament

EC_{50} : Concentration de médicament entraînant 50% de l'effet maximal

EDK_{50} : Valeur de l'IR entraînant 50% d'inhibition de K_{in}

E_{max} : Effet maximal

$F_{i,j}$: Prédiction individuelle chez le $i^{\text{ème}}$ individu au $j^{\text{ème}}$ temps

IC_{50} : Concentration de médicament entraînant 50% de l'inhibition maximale

I_{max} : Inhibition maximale

IR : Taux virtuel de perfusion (*Infusion Rate*)

k : Vitesse de transfert

k_{10} : Constante d'élimination

k_{12} : Constante de vitesse de distribution entre les compartiments 1 et 2

k_{21} : Constante de vitesse de distribution entre les compartiments 2 et 1

k_a : Constante d'absorption

K : Constante de vitesse d'élimination du traitement

K_0 : Taux de production des CTCs

K_2 : Facteur de proportionnalité permettant de relier K_{PROD2} au taux de variation de la taille tumorale

K_c : Constante de vitesse d'élimination du traitement de chimiothérapie

KDE : Pseudo-constante d'élimination du compartiment virtuel

K_{ELIM} : Constante de vitesse d'élimination du CA-125

K_h : Constante de vitesse d'élimination du traitement d'hormonothérapie

k_{in} : Constante de production ou de synthèse

Kin_{LV} : Taux de production de la variable latente

Kin_{PSA} : Taux de production du PSA

k_{out} : Constante de vitesse d'élimination

$Kout_{LV}$: Taux d'élimination de la variable latente

$Kout_{PSA}$: Taux d'élimination du PSA

K_{PROD1} : Taux de production basal de CA-125

K_{PROD2} : Taux de production de CA-125 par une tumeur stationnaire

K_{PROL} : Taux de croissance de la tumeur

K_{REDUC} : Taux de décroissance de la tumeur

λ : Paramètre de puissance de la transformation Box-Cox / Paramètre d'échelle de la fonction de survie / Nombre de CTCs attendu dans l'aliquote

LS : Durée de vie (*Lifespan*)

LV : Variable latente

LV_0 : Valeur initiale de variable latente

LVD : Variable latente retardée

μ : Logarithme de la médiane de PFS lorsque la covariable vaut 0

n : Nombre de CTCs observé

ω^2 : Variance de la matrice Ω^2

Ω^2 : Matrice de variance-covariance pour les effets aléatoires inter-individuels

$OVDP$: Paramètre de sur-dispersion (*Overdispersion*)

PSA_0 : Valeur initiale de PSA

R : Réponse ou Effet

$rate$: Transfert de substance entre deux compartiments

σ : Paramètre de variation de la pente de la courbe de PFS (sigmoïdité)

σ^2 : Variance de la distribution normale des erreurs résiduelles

SC_{50} : Concentration de médicament entraînant 50% de la stimulation maximale

SF_{LV} : Facteur d'échelle appliqué à Kin_{LV} par la fonction logit

S_{max} : Stimulation maximale

$S(t)$: Fonction de survie

θ : Vecteur de paramètres d'effets fixes

θ_i : Vecteur de paramètres pour l'individu i

T : Temps de PFS

TS_0 : Valeur initiale de taille tumorale

$TumorSize$: Données de taille tumorale

VAR_{TS} : Variation de taille tumorale en fonction du temps

X : Covariable

$X_{i,j}$: Variable indépendante mesurée chez le $i^{\text{ème}}$ individu au $j^{\text{ème}}$ temps

$Y_{i,j}$: Variable dépendante mesurée chez le $i^{\text{ème}}$ individu au $j^{\text{ème}}$ temps

TABLE DES MATIERES

Introduction	- 24 -
Chapitre I – Contexte de la thèse	- 26 -
I- Le cancer	- 27 -
1- Généralités.....	- 27 -
2- Le cancer de l’ovaire.....	- 33 -
3- Le cancer de la prostate	- 41 -
II- Les marqueurs tumoraux.....	- 46 -
1- Généralités.....	- 46 -
2- Le CA-125 dans le cancer de l’ovaire.....	- 50 -
3- Le PSA dans le cancer de la prostate.....	- 53 -
4- Les Cellules Tumorales Circulantes (CTCs)	- 56 -
5- Analyse de la cinétique des marqueurs tumoraux.....	- 62 -
III- La pharmacométrie et l’approche de population	- 67 -
1- Définitions	- 67 -
2- Modélisation de données PK.....	- 69 -
3- Modélisation de données PK-PD	- 70 -
4- Approche de population	- 76 -
5- Modélisation de la cinétique des marqueurs tumoraux.....	- 87 -
IV- Développement du médicament en oncologie	- 89 -
1- Les étapes du développement du médicament en oncologie.....	- 89 -
2- Evaluation de l’efficacité au cours du développement du médicament en oncologie.....	- 90 -
3- Problématiques dans le développement du médicament en oncologie.....	- 93 -
4- Place de la modélisation dans le développement du médicament en oncologie.....	- 94 -
Objectifs de la thèse	- 98 -
Chapitre II – Modélisation de la cinétique du CA-125 dans le cancer de l’ovaire	- 100 -
I- Résumé.....	- 101 -
1- Patientes et Données.....	- 102 -
2- Modèle TS-CA	- 103 -
3- Applications cliniques.....	- 106 -
4- Applications dans le développement du médicament.....	- 109 -
5- Vérification du caractère générique du modèle de PFS.....	- 113 -
6- Discussion et Conclusion	- 118 -
II- Publication I : Prédiction de l’évolution de la réponse tumorale à partir du CA-125 ..	- 121 -
III- Publication II : Prédiction de la survie sans progression à partir de la variation précoce de CA-125	- 139 -

Chapitre III - Modélisation des cinétiques des CTCs et du PSA dans le cancer de la prostate	- 155 -
I- Résumé.....	- 156 -
1- Patients et Données	- 156 -
2- Modèle reliant les cinétiques de CTCs et PSA	- 158 -
3- Résultats	- 164 -
4- Discussion et Conclusion	- 165 -
II- Manuscrit III : Modélisation conjointe des cinétiques des CTCs et du PSA	- 167 -
Discussion et Conclusion	- 195 -
Discussion générale et Perspectives	- 196 -
Conclusion.....	- 202 -
Bibliographie.....	- 204 -
Annexe I	- 215 -
Annexe II.....	- 217 -

INTRODUCTION

Le cancer représente la principale cause de décès dans le monde. Il reste encore de nombreux progrès à apporter en oncologie : i) dans la recherche et le développement des médicaments, avec la découverte de nouvelles molécules ou l'amélioration des techniques d'évaluation de l'efficacité d'un nouveau médicament ; ii) mais également dans la pratique clinique pour le suivi du patient, afin de prédire si celui-ci répond au traitement, si la dose doit être ajustée...

Dans les travaux de cette thèse, nous nous sommes intéressés plus particulièrement à la problématique de l'évaluation de l'efficacité des traitements. En effet, le développement de prédicteurs précoces du bénéfice clinique est nécessaire pour une meilleure prise en charge des patients, mais également pour accélérer le développement des médicaments. Pour cela, nous avons analysé, par des approches de pharmacométrie, les cinétiques de plusieurs marqueurs tumoraux sériques et tenté de les relier à des critères cliniques afin d'évaluer ou de prévoir l'évolution de la maladie sous traitement.

Dans une première partie, les projets de cette thèse ont été remis dans leur contexte, par la description des différents cancers et marqueurs tumoraux étudiés, ainsi que des principales techniques de pharmacométrie utilisées. Les premiers travaux avaient pour objectif d'analyser la cinétique du CA-125 dans le cancer de l'ovaire, ainsi que ses potentielles applications pour la prédiction d'un critère clinique, tant au niveau individuel qu'à celui d'une population. Nous avons ensuite cherché à analyser la cinétique d'un nouveau type de marqueur, les cellules tumorales circulantes, ainsi que sa relation avec la cinétique du PSA, dans le cancer de la prostate.

Cette thèse a été réalisée au sein de l'équipe 2 de Ciblage Thérapeutique en Oncologie (CTO) de l'EMR 3738, située à la Faculté de médecine de Lyon-Sud sous la direction du Professeur Michel Tod et du Docteur Benoit You. L'EMR 3738 – CTO est une équipe mixte de recherche de l'Université Claude Bernard Lyon I / Hospices Civils de Lyon, qui travaille en collaboration avec le Centre d'Investigation des Thérapeutiques en

Oncologie et en Hématologie de Lyon-Sud (CITOHL). Quatre équipes composent l'EMR 3738 : l'équipe 1 s'intéresse à l'étude des carcinomes péritonéaux, l'équipe 2 à la modélisation en cancérologie, l'équipe 3 à l'imagerie et l'équipe 4 à la radiobiologie cellulaire et moléculaire. L'équipe 2 de modélisation est composée de pharmacologues, pharmacométriciens, biostatisticiens et oncologues qui focalisent leurs recherches sur les essais cliniques aux designs innovants, l'optimisation des agents anticancéreux en combinaison et l'étude des biomarqueurs pour l'évaluation thérapeutique par des approches de modélisation-simulation.

Les bases de données des marqueurs tumoraux analysés dans cette thèse ont été obtenues grâce à des collaborations liées avec le GINECO (Groupe d'Investigateurs Nationaux pour l'Etude des Cancers Ovariens et du sein), le groupe AGO (*Arbeitsgemeinschaft Gynaekologische Onkologie*) et avec l'équipe de J. De Bono de l'*Institute of Cancer Research* de Londres.

CHAPITRE I – CONTEXTE DE LA THESE

I- LE CANCER

1- GENERALITES

a) Définition et processus tumoral

Selon la définition de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), le terme général de « cancer » s'applique à un grand groupe de maladies pouvant toucher n'importe quelle partie de l'organisme. Sa principale caractéristique est la prolifération rapide de cellules anormales qui peuvent se propager dans d'autres organes et former des métastases.

Le processus tumoral est décomposé en cinq étapes :

- **Initiation** : le développement tumoral est généralement initié par un agent cancérigène (physique, chimique ou génétique) qui provoque une anomalie au niveau de l'ADN d'une cellule saine. Si l'ADN mute au niveau de gènes contrôlant la division cellulaire, la cellule est définitivement altérée. Au cours de cette étape, la cellule acquiert les caractéristiques lui permettant de se transformer en cellule cancéreuse, comme la capacité de prolifération illimitée.
- **Promotion** : au cours de cette phase, des facteurs de promotion (nutrition, alcool, infections, hormones...) induisent la prolifération des cellules initiées. La promotion peut être réversible et modulée par de nombreux facteurs immunitaires et hormonaux.
- **Prolifération incontrôlée** : certaines cellules acquièrent suffisamment d'indépendance pour proliférer en échappant au contrôle des facteurs de croissance. Les cellules changent de forme et prolifèrent de façon anormale.
- **Angiogenèse** : pour se multiplier, les cellules cancéreuses ont besoin d'oxygène et de nutriments (glucose...), et doivent également éliminer leurs déchets (CO₂...). L'étape d'angiogenèse correspond au développement d'un système sanguin nourricier.

- Processus métastatique : à partir du foyer initial, la tumeur peut : i) se développer localement, provoquant un envahissement des tissus adjacents et une compression des organes voisins ; ii) envahir les ganglions lymphatiques ; iii) se propager à distance et former des métastases.

b) Epidémiologie du cancer

Le cancer représente la principale cause de mortalité dans le monde, avec un nombre de cas en constante augmentation. Une progression de 45% du nombre de décès par cancer est prévue dans le monde entre 2007 et 2030, en partie due à l'accroissement et au vieillissement de la population mondiale (Jemal *et al*, 2011).

Les résultats de l'étude de référence GLOBOCAN 2008, lancée par le Centre International de Recherche sur le Cancer (CIRC), donnent une estimation précise de la charge mondiale du cancer, en termes d'incidence et de mortalité, pour l'année 2008. Au cours de cette année, le cancer représentait environ 12,7 millions de nouveaux cas, et 7,6 millions de décès (Jemal *et al*, 2011). Chez les femmes, le cancer du sein est le plus fréquemment diagnostiqué et correspond à la principale cause de décès (23% des cancers et 14% des décès). Chez les hommes, le cancer du poumon comprend 17% des nouveaux cas de cancers et 23% des décès par cancer (Jemal *et al*, 2011).

Un lien a été établi entre l'apparition du cancer et un certain nombre de facteurs de risque : mode de vie inadapté, exposition à des cancérogènes physiques (rayonnement ultraviolet...), chimiques (amiante...) ou biologiques (infections virales, bactériennes). Il a également été observé qu'environ 30% des décès par cancer étaient dus aux cinq principaux facteurs de risque comportementaux et alimentaires : un indice élevé de masse corporelle, une faible consommation de fruits et légumes, le manque d'exercice physique, le tabagisme et la consommation d'alcool (Jemal *et al*, 2011).

c) La prise en charge du cancer

L'objectif des traitements contre le cancer est de guérir la maladie, si cela est possible, ou à défaut de prolonger la vie du patient, tout en améliorant sa qualité de vie. La prise

en charge du cancer implique la sélection cohérente d'une ou plusieurs interventions thérapeutiques : chirurgie, radiothérapie, chimiothérapie, hormonothérapie ou thérapie ciblée.

i. La chirurgie :

Les cancers sont fréquemment traités par la chirurgie, en première intention quand celle-ci est possible. C'est un traitement local qui a pour objectif principal de retirer la tumeur, mais également d'évaluer sa gravité et son étendue. La chirurgie peut aussi être utilisée pour extraire des ganglions lymphatiques envahis par les cellules cancéreuses ou, éventuellement, une métastase isolée à distance de la tumeur primaire.

ii. La radiothérapie :

La radiothérapie est un traitement classique de la prise en charge des cancers au niveau local. Elle utilise des rayonnements de haute énergie (électrons, photons ou protons) ou gamma, qui détruisent les cellules cancéreuses en modifiant leur patrimoine génétique, les empêchant ainsi de se développer.

iii. Chimiothérapie :

La chimiothérapie représente l'un des modes principaux de traitement du cancer. Elle correspond à l'utilisation de médicaments dits cytotoxiques ou cytostatiques car visant à détruire les cellules cancéreuses ou limiter leur prolifération. Le principe général de la chimiothérapie repose sur un traitement systémique, qui atteint toutes les cellules du corps en altérant les processus de la division cellulaire.

Au stade localisé, les chimiothérapies peuvent être administrées à deux temps : i) chimiothérapie néo-adjuvante, réalisée avant le traitement local dans le but de réduire la taille de la tumeur ; ou ii) chimiothérapie adjuvante, réalisée après chirurgie pour détruire les cellules cancéreuses résiduelles. Au stade métastatique, la chimiothérapie vise à ralentir l'évolution tumorale pour augmenter la durée et la qualité de vie.

Il existe plusieurs types d'agents cytotoxiques ayant des mécanismes d'action différents. Ces médicaments peuvent être classés selon leur site d'action pharmacologique et leur nature chimique, comme résumé dans le Tableau I.

Site d'action	Nature chimique	Exemples de médicaments
Synthèse de l'ADN	Antimétabolites	Méthotrexate, 5-fluorouracile, capécitabine
Transcription et réplication de l'ADN	Alkylants	Busulfan, cyclophosphamide
	Sels de platine	Carboplatine, cisplatine
	Antitopoisomérases I	Doxorubicine, topotecan
	Antitopoisomérases II	Epirubicine, irinotécan
Tubuline (mitose)	Vinca-alaloides : inhibition polymérisation microtubules	Vinblastine, vincristine
	Taxanes : inhibition dépolymérisation microtubules	Paclitaxel, docetaxel

Tableau I : Classification pharmaco-chimique des agents cytotoxiques.

Les chimiothérapies sont, la plupart du temps, organisées en cycles ou cures, dans lesquels chaque période de traitement est suivi d'une période de repos qui permet aux cellules saines de se régénérer.

iv. Hormonothérapie :

L'hormonothérapie implique toute manipulation hormonale visant à modifier la croissance tumorale. Elle est utilisée pour les cancers dits hormono-dépendants, comme certains cancers du sein et de la prostate. Dans ce type de cancer, la croissance et la différenciation de la tumeur sont régulées par les stéroïdes sexuels (œstrogènes, androgènes), eux-mêmes contrôlés par l'axe hypothalamo-hypophysaire. L'hypothalamus sécrète la GnRH (*Gonadotrophin Releasing Hormone* ou hormone hypothalamique de libération des gonadostimulines) qui rejoint l'hypophyse afin de stimuler la libération de deux hormones gonadotrophines : la FSH (*Follicule Stimulating Hormone* ou hormone folliculostimulante) et la LH (*Luteinizing Hormone* ou hormone

lutéinisante). Celles-ci vont agir au niveau des gonades pour stimuler la sécrétion des stéroïdes sexuels. Enfin, il existe également une production périphérique d'androgènes par les glandes surrénales. Les principaux contrôles de l'axe hypothalamo-hypophysogonadique sont représentés sur la Figure 1 (rétrocontrôles négatifs non schématisés) :

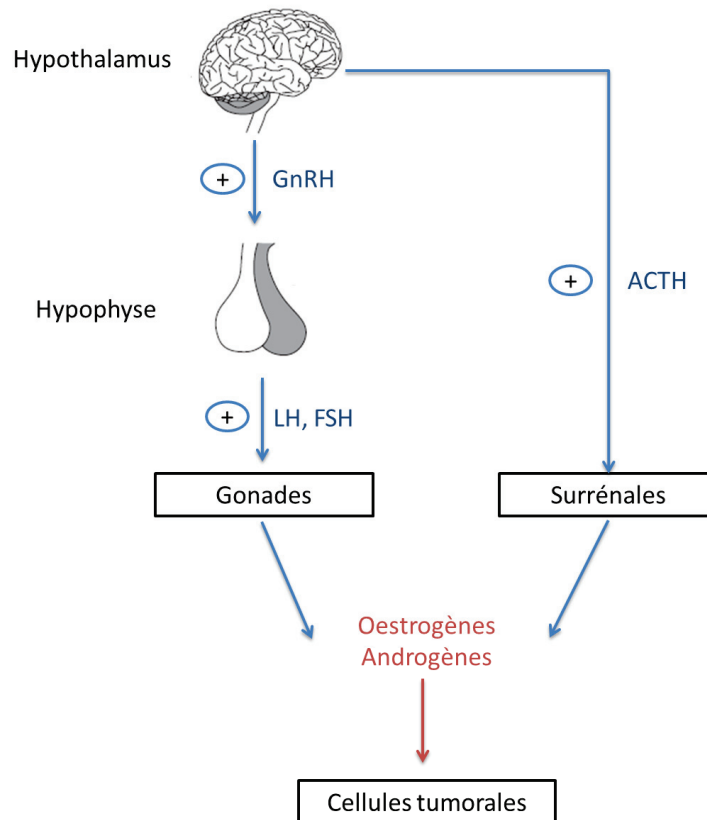


Figure 1 - Contrôles principaux de l'axe hypothalamo-hypophysogonadique.

Les principales techniques d'hormonothérapie sont les suivantes :

- ✓ suppression de la production des hormones sexuelles d'origine gonadiques : castration physique ou interférence avec l'axe de stimulation hypothalamo-hypophysogonadique ;
- ✓ suppression de la production périphérique d'hormones sexuelles dérivées de précurseurs surrénaliens (chez les sujets ménopausées ou castrés) ;
- ✓ suppression de l'effet des hormones sexuelles au niveau des récepteurs des cellules tumorales : antihormones.

v. Thérapies ciblées :

Les thérapies ciblées sont des traitements modernes, en développement depuis quelques années, qui ciblent les anomalies spécifiques du cancer, comme des gènes, des protéines ou des modifications de l'environnement tissulaire contribuant à la croissance du cancer. On parle de traitements ciblés car leur action est centrée sur les cellules cancéreuses, limitant ainsi les dommages causés aux cellules normales du corps et réduisant les effets secondaires.

Ces traitements freinent la croissance tumorale en interférant avec des molécules spécifiques de certaines cascades de signalisation. On distingue plusieurs types de traitements :

- ✓ Les anticorps monoclonaux : ils ciblent un antigène soluble ou présent sur la membrane de la cellule tumorale bloquant sa fonction et/ou provoquant la mort cellulaire.
- ✓ Les cytokines anti-tumorales : elles agissent directement sur la cellule tumorale, ou indirectement via une activation de l'immunité anti-tumorale.
- ✓ Les inhibiteurs de la transduction : ils agissent en bloquant les cascades enzymatiques nécessaires à la médiation du signal de prolifération au noyau.
- ✓ Les anti-angiogéniques : ils agissent en bloquant les vaisseaux nourriciers permettant à la tumeur de se développer (angiogenèse).

Dans la suite de la thèse, nous allons nous intéresser plus spécifiquement à deux cancers :

- le cancer de l'ovaire : un des cancers gynécologiques à l'origine d'un grand nombre de décès ;
- le cancer de la prostate : le cancer le plus fréquent chez l'homme dans les pays développés.

2- LE CANCER DE L'OVAIRE

Le cancer de l'ovaire représentait plus de 225 000 nouveaux cas dans le monde en 2008 (Jemal *et al*, 2011). Cette fréquence peut paraître faible, mais il correspond à la deuxième cause de mortalité parmi les cancers gynécologiques chez la femme. En effet, en raison d'un diagnostic le plus souvent tardif, le pronostic vital des cancers ovariens reste engagé.

Même si les facteurs de risque du cancer de l'ovaire demeurent mal connus, certains d'entre eux ont pu être mis en évidence : âge, facteurs hormonaux (puberté précoce, ménopause tardive, nulliparité...), facteurs familiaux (antécédents familiaux de certains cancers, mutations BRCA1 et BRCA2) (Chiaffarino *et al*, 2001; Holschneider & Berek, 2000). Par ailleurs, certains facteurs protecteurs réduiraient le risque de développer un cancer de l'ovaire, comme la multiparité, les grossesses menées à terme, l'allaitement ou l'utilisation de contraceptifs oraux (Chiaffarino *et al*, 2001; Holschneider & Berek, 2000).

a) Les différents types de cancer de l'ovaire

La classification histologique de l'OMS distingue trois groupes de tumeurs ovariennes (Scully, 1987).

i. Les tumeurs épithéliales :

Ce type de tumeur apparaît chez des femmes âgées de plus de 50 ans. Il s'agit de cancers graves et fréquents, puisqu'ils représentent environ 80% des tumeurs malignes de l'ovaire. Les tumeurs épithéliales se forment aux dépens de l'enveloppe épithéliale des ovaires. Parmi celles-ci, plusieurs classes peuvent être caractérisées selon le type de cellules qui prolifèrent (tumeurs séreuses, mucineuses, endométriales...) (Kaku *et al*, 2003).

ii. Les tumeurs germinales :

Elles représentent 15 à 20% de l'ensemble des tumeurs ovariennes, et touchent les femmes jeunes. Cette catégorie rassemble toutes les tumeurs développées à partir des cellules germinales primordiales, issues de la gonade embryonnaire.

iii. Les tumeurs du mésenchyme et des cordons sexuels :

Elles représentent 6% des tumeurs ovariennes, et se forment au niveau des cellules qui lient et soutiennent les différents éléments de l'ovaire.

Les tumeurs de type épithélial étant les plus fréquentes, nous nous intéresserons seulement à ce type de cancer ovarien pour la suite de la thèse.

b) Extension du cancer de l'ovaire

Dans son évolution naturelle, le cancer de l'ovaire s'étend progressivement de l'ovaire aux organes pelviens et au péritoine, puis enfin dissémine à distance avec des métastases (Lengyel, 2010).

A l'origine, la tumeur est limitée à l'ovaire (un seul ou les deux) : on parle de forme précoce ou localisée du cancer. En se développant, les cellules cancéreuses ont tendance à s'étendre à distance de l'ovaire et peuvent s'échapper dans la cavité péritonéale : on est, dans ce cas, en présence d'une forme avancée du cancer de l'ovaire. Dans cette cavité, les cellules se greffent sur les organes de l'abdomen, et provoquent en général une irritation du péritoine, qui produira du liquide, l'ascite. Il arrive que l'ascite franchisse le diaphragme et s'accumule dans la plèvre, ce qui provoque une pleurésie. Les cellules cancéreuses peuvent aussi se propager dans les ganglions lymphatiques en arrière du péritoine : c'est l'envahissement ganglionnaire. Enfin, les cellules tumorales peuvent se répandre en dehors de la cavité abdominale (aux poumons, au foie et parfois au cerveau) pour former les métastases. Les méthodes d'imageries traditionnelles manquent de sensibilité pour détecter les métastases situées dans la cavité péritonéale.

c) Diagnostic du cancer de l'ovaire

Le diagnostic du cancer de l'ovaire se fait à partir de l'examen clinique, complété par des examens d'imagerie médicale. Mais ce n'est que l'exploration chirurgicale qui permet d'établir le diagnostic et de faire un bilan précis de l'extension locale du cancer.

Les différentes étapes du diagnostic sont les suivantes :

- Examen clinique : il comprend un interrogatoire sur les antécédents médicaux, chirurgicaux, gynécologiques et familiaux, ainsi que sur les symptômes. Des examens gynécologiques sont également réalisés : touchés vaginaux et rectaux, palpations de l'abdomen et des ganglions...
- Examen radiologique : il comprend en première intention une échographie pelvienne et abdominale, suivie d'une IRM (Imagerie par Résonance Magnétique) abdomino-pelvienne, et enfin une radiographie pulmonaire.
- Examen biologique : il correspond au dosage du marqueur tumoral (CA-125), qui servira au suivi de la maladie.

d) Classification du cancer de l'ovaire et pronostic

L'évaluation du stade d'évolution d'un cancer nécessite un ensemble d'examens permettant d'évaluer la nature précise et l'étendue de la maladie. C'est l'un des facteurs déterminant pour le choix du type de traitement.

Le système de classification appliqué en cancérologie pour décrire l'extension d'un cancer est le système TNM (2003), développé par le Comité Américain sur le cancer, ou l'AJCC (*American Joint Committee on Cancer*). Il s'agit d'une classification établie selon trois critères, à partir des données cliniques, issues de l'imagerie et de l'examen anatomopathologique post-opératoire (pTNM) :

- T (Tumeur) : taille de la tumeur primitive ;
- N (ganglions lymphatiques (*Nodes*)) : atteinte éventuelle des ganglions lymphatiques régionaux ;

- M (Métastases) : présence éventuelle de métastases à distance.

Chacune de ces lettres est cotée avec des chiffres allant de 0 à 4 (ou X en cas d'impossibilité d'évaluation).

Dans le cancer de l'ovaire, les caractéristiques, T, N, et M, attribuées au cancer, peuvent être regroupées en stades. Les stades sont exprimés par un chiffre allant de 0, pour les cancers localisés, à IV, pour les cas les plus avancés. Ils correspondent à la classification de la Fédération Internationale des Gynécologues Obstétriciens, ou FIGO (Berek *et al*, 2012). C'est la classification la plus utilisée dans le cancer de l'ovaire.

Les différents stades FIGO, définis en 2006, ainsi que l'équivalence TNM sont définis dans le tableau ci-dessous (Tableau II) (Berek *et al*, 2012) :

Catégorie TNM	Stade FIGO	Description
T1. N0. M0	I	Growth limited to the ovaries
T1a. N0. M0	IA	Growth limited to one ovary; no ascites present containing malignant cells. No tumor on the external surface; capsule intact
T1b. N0. M0	IB	Growth limited to both ovaries; no ascites present containing malignant cells. No tumor on the external surfaces; capsules intact
T1c. N0. M0	IC	Tumor either Stage IA or IB, but with tumor on surface of one or both ovaries, or with capsule ruptured, or with ascites present containing malignant cells, or with positive peritoneal washings
T2. N0. M0	II	Growth involving one or both ovaries with pelvic extension
T2a. N0. M0	IIA	Extension and/or metastases to the uterus and/or tubes
T2b. N0. M0	IIB	Extension to other pelvic tissues
T2c. N0. M0	IIC	Tumor either Stage IIA or IIB, but with tumor on surface of one or both ovaries, or with capsule(s) ruptured, or with ascites present containing malignant cells, or with positive peritoneal washings
T3. N0. M0	III	Tumor involving one or both ovaries with histologically confirmed peritoneal implants outside the pelvis and/or

		positive regional lymph nodes. Superficial liver metastasis equals Stage III. Tumor is limited to the true pelvis, but with histologically proven malignant extension to small bowel or omentum
T3a. N0. M0	IIIA	Tumor grossly limited to the true pelvis, with negative nodes, but with histologically confirmed microscopic seeding of abdominal peritoneal surfaces, or histologic proven extension to small bowel or mesentery
T3b. N0. M0	IIIB	Tumor of one or both ovaries with histologically confirmed implants, peritoneal metastasis of abdominal peritoneal surfaces, none exceeding 2 cm in diameter; nodes are negative
T3c. N0. M0 Any T. N1. M0	IIIC	Peritoneal metastasis beyond the pelvis >2 cm in diameter and/or positive regional lymph nodes
Any T. Any N. M1	IV	Growth involving one or both ovaries with distant metastases. If pleural effusion is present, there must be positive cytology to allot a case to Stage IV. Parenchymal liver metastasis equals Stage IV

Tableau II : Classification FIGO et équivalence TNM dans le cancer de l'ovaire.

Des modifications ont été récemment appliquées à cette classification FIGO (Prat, 2014).

La guérison nécessite que la totalité de la tumeur d'une patiente soit éradiquée en fin de traitement. Or il est difficile d'affirmer ce pronostic puisqu'il est impossible de détecter par des moyens cliniques et radiologiques une tumeur résiduelle de moins de 10^6 cellules (ou 5 mm). C'est pourquoi, la survie à 5 ans est le critère le plus souvent utilisé pour évaluer l'efficacité des traitements. En raison du diagnostic tardif, le pronostic du cancer de l'ovaire reste assez sombre : environ 45% de survie à 5 ans, tout stade confondu. Le tableau ci-dessous résume les survies à 5 ans pour chaque stade FIGO (Tableau III) :

Stade FIGO	Taux de survie relative à 5 ans (%)
I	89 %
IA	94 %
IB	91 %

IC	80 %
II	66 %
IIA	76 %
IIB	67%
IIC	57 %
III	34 %
IIIA	45 %
IIIB	39%
IIIC	35 %
IV	18%

Tableau III : Taux de survie relative à 5 ans en fonction des stades FIGO dans le cancer de l’ovaire.

Ces données sont issues de l’Institut National sur le cancer, ou NCI (*National Cancer Institute*) et basées sur des patientes diagnostiquées de 1988 à 2001 (SEER Cancer Statistics Factsheets: Ovary Cancer. National Cancer Institute. Bethesda, MD, <http://seer.cancer.gov/statfacts/html/ovary.html>)

e) Prise en charge du cancer de l’ovaire

Le traitement du cancer de l’ovaire repose sur la résection la plus complète possible de tous les foyers cancéreux, appelée cytoréduction. Pour cela, la stratégie thérapeutique consiste à associer la chirurgie et la chimiothérapie, et plus rarement la radiothérapie.

i. La chirurgie :

A ce jour, le traitement chirurgical standard des stades avancés est la chirurgie d’emblée complète. Des travaux ont également été publiés en faveur de la chirurgie d’intervalle (Vergote *et al*, 2010). Celle-ci est utilisée lors d’un deuxième effort chirurgical intercalé au sein d’une ligne de chimiothérapie après une première tentative insuffisante, ou lorsque la cytoréduction complète initiale est impossible.

ii. La radiothérapie :

Elle est très peu utilisée pour la prise en charge du cancer de l'ovaire, car l'ensemble de la cavité abdominale est exposé aux rayons.

iii. La chimiothérapie :

Étant donné le caractère chimio-sensible des cancers ovariens, la chimiothérapie est fondamentale dans la prise en charge des cancers de l'ovaire. Au stade localisé, des chimiothérapies néo-adjuvantes ou adjuvantes peuvent être données.

Actuellement, le traitement standard en première ligne dans les cancers de l'ovaire associe un sel de platine à un taxane, tel que l'association carboplatine – paclitaxel, par voie intraveineuse (Ozols *et al*, 2003). Le carboplatine (Paraplatine®) interfère avec la synthèse de l'ADN par formation de pontages inter- et intra-caténaux. Le paclitaxel (Taxol®) perturbe les mécanismes de régulation des cellules par sa fixation spécifique aux microtubules, qui jouent un rôle capital dans la mitose cellulaire.

L'administration de la chimiothérapie par voie intrapéritonéale (IP) a été beaucoup étudiée, car elle permet l'obtention de fortes concentrations de médicament à la surface des tumeurs situées dans la cavité abdomino-pelvienne, tout en limitant sa concentration plasmatique, qui est associée à un risque de toxicité systémique non négligeable (Jaaback & Johnson, 2006). Cependant, la morbidité reste élevée en raison du cathéter laissé en place en intrapéritonéal.

f) Prise en charge des rechutes

La rechute, ou récurrence, correspond à la réapparition de cellules tumorales dans le corps. Celle-ci est souvent lente et nécessite plusieurs semaines à plusieurs mois avant que des symptômes soient présents. Son évolution passe par trois stades successifs :

- ✓ Stade préclinique : seuls des examens sensibles, comme le dosage de marqueurs tumoraux ou l'imagerie, permettent de définir des anomalies.

- ✓ Stade clinique asymptomatique : des examens cliniques et paracliniques permettent de faire le diagnostic.
- ✓ Stade clinique symptomatique : où le patient consulte pour des symptômes.

Les traitements standards, vus précédemment, entraînent une réponse complète pour 40% à 60% des patientes ; cependant plus de 90% des patientes vont rechuter au cours des deux premières années suivant le diagnostic de rechute (Schmid & Oehler, 2014). On distingue deux types de prise en charge des récidives tumorales ovariennes : la chirurgie et la chimiothérapie.

i. La chirurgie :

Elle est réalisée lorsque la rechute survient tardivement après le traitement de première ligne, et lorsque celle-ci est localisée. La majorité des récidives étant abdominale, il a été proposé d'intensifier le traitement local par une Chimio-Hyperthermie IntraPéritonéale (CHIP), qui consiste à associer un traitement classique à un rinçage de l'abdomen par chimiothérapie chauffée (Chan *et al*, 2012). Enfin, la chirurgie palliative, sans influence sur la maladie elle-même, permet d'offrir à la patiente un confort de vie acceptable.

ii. La chimiothérapie des rechutes :

Actuellement, le facteur prédictif de réponse utilisé est la durée de l'intervalle libre sans traitement. Ce facteur permet le classement des récidives en délais de rechute par rapport au traitement antérieur à base de platine (Markman *et al*, 1991) :

- ✓ rechute sensible au platine : patientes qui rechutent après un délai supérieur ou égal à 6 mois après l'arrêt de la dernière chimiothérapie ;
- ✓ rechute résistante ou réfractaire au platine : patientes qui progressent avant l'arrêt de la précédente chimiothérapie ou dans les 6 mois qui suivent.

Les patientes sensibles au platine sont de nouveau traitées par du carboplatine, le plus souvent associé au paclitaxel ou à la doxorubicine liposomale pégylée (Caelyx®), depuis l'essai CALYPSO (CAeLYx in Platinum Sensitive Ovarian) (Pujade-Lauraine *et al*, 2010).

Les patientes résistantes au platine sont traitées par des monothérapies, autres qu'un sel de platine, comme le topotecan (Hycamtin®) ou la doxorubicine liposomale pégylée (Bookman *et al*, 1998; Gordon *et al*, 2004).

Les espoirs sont désormais fondés sur le développement des thérapies ciblées, le médicament le plus étudié jusqu'à maintenant étant un inhibiteur d'angiogenèse, le bevacizumab (Avastin®) (Schmid & Oehler, 2014).

3- LE CANCER DE LA PROSTATE

Le cancer de la prostate représente le cancer masculin le plus fréquent dans les pays développés, avec plus de 903 000 nouveaux cas dans le monde pour l'année 2008 (Jemal *et al*, 2011). Il correspond à la 3^{ème} cause de mortalité par cancer (Jemal *et al*, 2011).

C'est celui dont l'incidence a le plus augmenté ces 25 dernières années, due en grande partie au vieillissement de la population, mais également au recours plus fréquent au dépistage. L'âge est le principal facteur de risque du cancer de la prostate, avec une moyenne de diagnostic à 71 ans (Gann, 2002). Deux autres facteurs augmentent la probabilité de survenue : les antécédents familiaux précoces dans la parenté au premier ou deuxième degré et l'origine géographique des populations (les afro-américains ayant des prévalences supérieures à la moyenne) (Gann, 2002).

a) Extension du cancer de la prostate

La prostate est une glande qui produit le liquide séminal, constituant 95% du sperme. Elle est sous la dépendance de la testostérone, sécrétée essentiellement par les testicules et en partie par les glandes surrénales.

Après la formation d'une tumeur localisée, celle-ci grossit jusqu'à s'étendre au-delà de la capsule, entourant la prostate. Des cellules cancéreuses peuvent se détacher de la tumeur et emprunter les vaisseaux sanguins ou lymphatiques pour aller se fixer sur

d'autres parties du corps : les ganglions lymphatiques à proximité de la prostate, les os et plus tardivement le foie et les poumons. Le site le plus fréquent d'extension métastatique correspond aux métastases osseuses ; celles-ci étant difficilement mesurables avec les moyens radiologiques actuels (Bubendorf *et al*, 2000).

b) Diagnostic du cancer de la prostate

Le cancer de la prostate évolue lentement et est généralement asymptomatique dans les premiers stades. Les différentes étapes du diagnostic sont les suivantes :

- Examen clinique : il comprend un interrogatoire sur les antécédents personnels et familiaux, la recherche d'éventuels troubles fonctionnels génito-urinaires et un toucher rectal afin d'évaluer le volume de la prostate.
- Examens paracliniques : ils comprennent échographies endorectales, scanners, IRM, biopsies et dosages du marqueur tumoral (PSA ou *Prostate-Specific Antigen*).

c) Classification du cancer de la prostate et pronostic

Il existe trois grands types de classification pour évaluer le stade d'extension et l'agressivité de la tumeur dans le cancer de la prostate :

i. Stade de la maladie : classification TNM

La classification TNM de 2009 est actuellement utilisée (Tableau IV) (Sobin *et al*, 2009) :

Catégorie TNM	Description
T0	Absence de tumeur
T1	Tumeur non palpable au toucher rectal ou non visible en imagerie
T1a	Tumeur occupant moins de 5% du tissu réséqué
T1b	Tumeur occupant plus de 5% du tissu réséqué
T1c	Tumeur découverte sur une biopsie prostatique en raison d'une élévation du taux de PSA

T2	Tumeur limitée à la prostate
T2a	Tumeur atteignant la moitié d'un lobe ou moins
T2b	Tumeur atteignant plus de la moitié d'un lobe mais sans atteindre les deux lobes
T2c	Tumeur atteignant les deux lobes
T3	Extension au-delà de la capsule
T3a	Extension extra-capsulaire uni- ou bilatérale
T3b	Extension aux vésicules séminales uni- ou bilatérale
T4	Tumeur fixée ou atteignant d'autres structures que les vésicules séminales (sphincter externe, muscles releveurs de l'anus ou paroi pelvienne)
N0	Absence de métastase ganglionnaire
N1	Atteinte ganglionnaire(s) régionale(s)
M0	Absence de métastases à distance
M1	Métastases à distance
M1a	Atteinte des ganglions non régionaux
M1b	Atteinte osseuse
M1c	Autres sites

Tableau IV : Classification TNM dans le cancer de la prostate.

ii. Agressivité tumorale : score de Gleason

Le score de Gleason, redéfini par l'OMS en 2005, s'établit en effectuant la somme des deux grades les plus représentés dans un ordre décroissant (Egevad, 2008). Il est coté de 2 à 10, un mauvais pronostic correspondant à une valeur supérieur à 7.

iii. Risque de rechute après chirurgie : classification de D'Amico

La classification de D'Amico concerne les tumeurs localisées, et distingue trois niveaux de risque de rechute (Tableau V) (D'Amico *et al*, 2002) :

	Catégorie TNM	Score de Gleason	PSA (ng.mL⁻¹)
Risque faible	≤ T2a (et)	≤ 6 (et)	≤ 10
Risque intermédiaire	T2b (ou)	7 (ou)	10 - 20
Risque élevé	≥ T2c	≥ 8	> 20

Tableau V : Classification de D'Amico dans le cancer de la prostate.

d) Prise en charge du cancer de la prostate

Les principales modalités de prise en charge des cancers de la prostate sont la chirurgie, la radiothérapie et l'hormonothérapie. La chimiothérapie peut également être utilisée pour les cas résistants aux autres traitements.

i. La chirurgie :

Le traitement de référence pour les cancers localisés de la prostate est une prostatectomie radicale. Elle consiste à réséquer toute la prostate ainsi que les vésicules séminales.

ii. La radiothérapie externe :

La radiothérapie externe détruit les cellules de la tumeur en irradiant la prostate grâce à une source de rayons située à l'extérieur du patient.

iii. La curiethérapie :

La curiethérapie s'effectue pour des cancers localisés. Ce traitement consiste à implanter des sources radioactives à l'intérieur de la prostate, présentant ainsi l'avantage d'être faiblement toxique pour les organes proches de la prostate.

iv. L'hormonothérapie :

Le cancer de la prostate est un cancer dit hormono-sensible puisque son développement est stimulé par la testostérone. L'hormonothérapie va donc consister à empêcher l'action stimulante des androgènes sur les cellules cancéreuses.

v. La chimiothérapie :

La chimiothérapie est utilisée pour traiter les cancers métastatiques hormono-résistants. Le traitement de référence associe le docetaxel à la prednisone (Tannock *et al*, 2004). Le docetaxel (Taxotere®) fait partie des taxanes qui inhibent la dépolymérisation des microtubules. La prednisone est un corticostéroïde, inhibant la synthèse des précurseurs de testostérone d'origine surrénalienne.

En cas de reprise évolutive après cette combinaison de traitements, de nouveaux médicaments sont disponibles, comme le cabazitaxel (Jevtana®), ou l'abiratérone (Zytiga®) (de Bono *et al*, 2011; Paller & Antonarakis, 2011). Enfin, des thérapies ciblées sont également en cours de développement (Agarwal *et al*, 2014).

Le suivi de patients atteints de cancers de l'ovaire ou de la prostate reste une problématique majeure, en raison du manque de sensibilité des techniques d'imagerie pour détecter certaines métastases, notamment celles situées dans les os. Ainsi, l'analyse de marqueurs tumoraux pour évaluer l'évolution tumorale ou le bénéfice clinique permettrait de remédier aux limites de l'imagerie.

II- LES MARQUEURS TUMORAUX

1- GENERALITES

a) Définitions générales

Selon les membres du groupe de travail sur les définitions des biomarqueurs (*Biomarkers Definitions Working Group*), un biomarqueur (*biological marker*) est défini comme une caractéristique mesurée de manière objective et évaluée en tant qu'indicateur de processus physiologique, pathologique et de l'action des médicaments (*Biomarkers Definitions Working Group*, 2001). Ils distinguent plusieurs types de critères :

- Critère clinique (*clinical endpoint*) : toute caractéristique, ou variable, ayant une signification directe dans l'existence des individus concernés par le traitement (survie, qualité de vie).
- Critère intermédiaire : critère de jugement de l'effet qui n'est pas clinique ; on désigne ainsi tous les critères biologiques qui ne sont pas perçus par les individus, mais mesurés avec une technique spécifique.
- Critère de substitution (*surrogate endpoint*) : critère intermédiaire présentant des propriétés telles que l'on peut substituer l'évaluation de l'effet du traitement sur le critère clinique par celle sur le critère de substitution.

b) Marqueurs tumoraux

En oncologie, on parle de marqueur tumoral pour une molécule produite par les cellules tumorales et libérée dans un liquide de l'organisme (sang, urine...) où sa concentration peut être mesurée. La présence et l'évolution de cette molécule sert d'indicateur, de marqueur de l'activation tumorale.

Le marqueur tumoral idéal serait une substance qui combinerait les caractéristiques suivantes :

- spécificité : détectable uniquement dans un type de tumeur ;
- sensibilité : non-détectable dans des conditions physiologiques ou de maladies bénignes ;
- corrélation avec un critère clinique pertinent ;
- corrélation avec la charge tumorale et réponse rapide à une évolution de celle-ci ;
- reproductible ;
- test simple, rapide et peu onéreux.

Cependant, cette description reste théorique, et à ce jour, il n'existe aucun marqueur satisfaisant l'ensemble de ces caractéristiques.

c) Classification des marqueurs tumoraux

De nombreuses approches ont été utilisées pour classer les marqueurs tumoraux. Une de ces méthodes consiste à les catégoriser selon leur structure moléculaire. On distingue ainsi six classes de marqueurs tumoraux (Novaković, 2004) :

- ✓ Les antigènes onco-fœtaux (α -FoetoProtéine (AFP), Antigène Carcino-Embryonnaire (CEA)) : ils sont normalement produits durant le développement embryonnaire. Des concentrations élevées chez l'adulte résultent d'une réactivation de certains gènes contrôlant la croissance cellulaire et sont directement liés à la tumeur.
- ✓ Les hormones (insuline, prolactine, β -HCG (*human chorionic gonadotropin*)) : des tumeurs malignes peuvent altérer la synthèse et la sécrétion de nombreuses hormones, pouvant ainsi servir de marqueur tumoral.
- ✓ Les enzymes (phosphatase alcaline, déshydrogénase lactique (LDH)) : certaines enzymes sont produites en quantité plus importante lors du processus tumoral.
- ✓ Les antigènes de tumeur (CA-125, CA-19.9, PSA) : groupe de marqueurs hétérogène qui comprend de nombreux éléments de membranes de cellules tumorales. Les technologies actuelles permettent leur détection par des méthodes de dosage d'immunohistochimie, utilisant un anticorps spécifique du

marqueur. Les marqueurs de ce groupe sont les plus spécifiques et reflètent le plus fidèlement l'évolution tumorale.

- ✓ Les protéines spéciales du sérum : comprend de nombreuses protéines, la plus connue étant la ferritine.
- ✓ Nouveaux marqueurs circulants : l'introduction récente de nouvelles technologies a permis la quantification de faibles quantités de protéines circulantes, comme les Cellules Tumorales Circulantes (CTCs) ou les acides nucléiques circulants (ADN ou ARN), spécifiques d'un certain type de cancer.

d) Intérêts des marqueurs tumoraux

Les principales applications des marqueurs tumoraux sont les suivantes :

- ✓ Dépistage (*screening*) : identification dans une population à risque des personnes susceptibles d'être atteintes d'un cancer.
- ✓ Diagnostic : orientation du clinicien, devant des symptômes, vers la nature du primitif tumoral.
- ✓ Pronostic : prédiction de l'agressivité et de l'extension tumorale afin d'orienter la thérapeutique.
- ✓ Evaluation ou suivi de l'efficacité thérapeutique (*monitoring*) : les variations de la concentration en marqueur tumoral reflètent l'efficacité du traitement.
- ✓ Suivi après traitement pour dépister les rechutes de façon précoce.

En général, peu de marqueurs sont utilisés pour le dépistage ou le diagnostic, en raison de leur manque de spécificité et sensibilité.

e) Les problèmes rencontrés

Il existe de fortes variabilités dans le dosage des marqueurs tumoraux. Les sources de ces fluctuations sont d'origines biologique et analytique.

On distingue deux types de fluctuations biologiques : la variabilité intra-individuelle liée à l'état du patient (rythme circadien, vieillissement, pathologie bénigne associée...) et la

variabilité inter-individuelle inhérente à l'hétérogénéité de la population (origine ethnique, facteurs génétiques...).

Les fluctuations analytiques peuvent provenir de différentes sources : pré-analytique, correspondant aux variations de la collecte des échantillons jusqu'au début du dosage, et analytique, correspondant aux variations importantes entre les techniques.

f) Les principaux marqueurs tumoraux

Les marqueurs tumoraux les plus utilisés sont résumés dans le tableau suivant (Tableau VI) (Sharma, 2009) :

Type de cancer	Marqueur tumoral	Intérêt
Cancer du sein	CA 15-3, CA 27-29	suivi
Cancer colorectal	CEA, CA 19-9	pronostic, suivi
Choriocarcinome	β -hCG	diagnostic, pronostic, suivi
Tumeurs germinales	AFP, B-hCG	diagnostic, pronostic, suivi
Lymphome	LDH	diagnostic, pronostic
Cancer de l'ovaire	CA-125	diagnostic, suivi
Cancer de la prostate	PSA	dépistage, diagnostic, pronostic, suivi

Tableau VI : Marqueurs tumoraux les plus utilisés.

Nous nous sommes intéressés, dans les travaux de cette thèse, à trois marqueurs tumoraux sériques :

- CA-125 (*Cancer-Antigen*) : marqueur tumoral du cancer de l'ovaire ;
- PSA (*Prostate-specific Antigen*) : marqueur tumoral du cancer de la prostate ;
- CTCs (*Circulating Tumor Cells*), ou cellules tumorales circulantes : marqueur tumoral en pleine émergence utilisé dans plusieurs types de cancers.

2- LE CA-125 DANS LE CANCER DE L'OVAIRE

Le CA-125, ou antigène de tumeur de l'anticorps du carcinome ovarien OC-125, est le marqueur tumoral sérique du cancer épithélial de l'ovaire. Il a été décrit par Bast et al., en 1983, suite à la découverte de son anticorps, l'OC-125 (*Ovarian Carcinoma 125*) (Bast et al, 1981).

a) Production du CA-125

Le CA-125 est une glycoprotéine de poids moléculaire élevé, 250 kDa, présente dans de nombreux tissus épithéliaux adultes, comme l'endomètre ou les séreuses (Duffy et al, 2005). Il a également été trouvé dans des cellules d'origines mésothéliales (pleurales, péricardiques...) ainsi que dans de nombreux autres épithéliums (rein, poumons...) (Duffy et al, 2005). Enfin, il peut également être exprimé dans des tissus adultes ovariens normaux. Le CA-125 a une distribution très étendue dans les tissus humains, et manque donc de spécificité.

Le CA-125 peut être présent sous deux formes : attaché à la surface de ces cellules ou libéré sous forme soluble dans les fluides corporels. Sa sécrétion est permise par une interaction de son récepteur avec le facteur de croissance épidermique, ou l'EGF (*Epidermal Growth Factor*), provoquant la perte du domaine transmembranaire qui sert d'attachement du CA-125 à la membrane (O'Brien et al, 2001).

b) Le taux de CA-125

La concentration du CA-125 est exprimée en Unité.mL⁻¹ (U.mL⁻¹), et pour la plupart des auteurs sa valeur seuil maximale de référence est de 35 U.mL⁻¹ (Bast et al, 1983). La demi-vie biologique du CA-125 est de 7 à 14 jours (Bast et al, 1983).

La concentration sérique de CA-125 est élevée lors d'invasion vasculaire, de destruction de tissu et d'inflammation, associées à un cancer de l'ovaire (Bast et al, 1983).

Cependant, des taux élevés peuvent aussi être observés dans des conditions physiologiques, comme en début de grossesse ou pendant les menstruations, ou dans des situations pathologiques bénignes, telles que l'endométriose, l'altération du péritoine et des séreuses, la présence de kyste, ou encore lors de cirrhose ou hépatite (Duffy *et al*, 2005).

c) Fonctions et rôles du CA-125

Les fonctions du CA-125 sont encore mal connues, cependant, deux rôles ont pu être décrits (Scholler & Urban, 2007) :

- Rôle dans la réponse immunitaire : il atténuerait la lyse anticorps-cellule par le système du complément. De plus, il pourrait inhiber la réponse cytotoxique des cellules NK, ou « tueur naturel » (*Natural Killer*). Le CA-125 aurait donc un rôle de suppresseur de la réponse immunitaire anti-tumeur.
- Rôle d'interaction avec d'autres molécules :
 - galectine-1 : formation de ponts intra- ou inter-moléculaires qui pourraient exercer des réponses extracellulaires ;
 - mésothéline : leur liaison entrainerait l'implantation des cellules tumorales dans le péritoine (métastases péritonéales).

d) Le CA-125 : marqueur tumoral

Le CA-125 apparaît comme une aide à la pratique clinique lors des différentes étapes de la prise en charge des patientes atteintes d'un cancer de l'ovaire.

En raison de son manque de spécificité et des taux élevés de faux-positifs, le CA-125 ne peut être utilisé seul pour le dépistage du cancer de l'ovaire. Il est adopté, en pratique, en combinaison avec d'autres examens, comme l'échographie pelvienne (Menon *et al*, 2009; Menon *et al*, 2014).

Le dosage du CA-125 est un standard avant toute chirurgie ovarienne. Il serait utilisable pour évaluer la résécabilité chirurgicale, un taux préopératoire supérieur à 500 U.mL⁻¹

étant associé à un risque important de chirurgie non-optimale (Vorgias *et al*, 2009). Ainsi, le dosage du CA-125 paraît être un bon marqueur de l'étendue des lésions tumorales.

Par ailleurs, il a été largement admis et démontré que le CA-125 serait un bon marqueur d'évaluation de l'efficacité des chimiothérapies dans le suivi des patientes (Gupta & Lis, 2009). En effet, le profil d'évolution biologique du marqueur étant corrélé à l'évolution clinico-radiologique de la maladie, l'évolution du CA-125 sous chimiothérapie apparaît être un marqueur prédictif de la chimio-sensibilité et pronostique en termes de survie des patientes. Son dosage permettrait ainsi de différencier rapidement les tumeurs chimio-résistantes afin d'ajuster le traitement.

Enfin, le CA-125 est fréquemment utilisé pour détecter de façon précoce les récurrences, puisqu'une élévation du marqueur peut précéder la rechute clinique, détectable par imagerie, de 3 à 4 mois (van der Burg *et al*, 1990). L'intérêt de mettre en évidence une récurrence rapidement serait de pouvoir mettre en place une nouvelle stratégie thérapeutique.

En pratique, le paramètre le plus utilisé est le critère de Rustin, qui a été défini par l'inter-groupe sur les cancers gynécologiques, ou GCIG (*Gynecologic Cancer InterGroup*) (Rustin *et al*, 2011). Il caractérise la réponse au traitement par une réduction de 50% de la concentration de CA-125, maintenue pendant au moins 28 jours ; et la progression par un doublement de CA-125 à partir de sa limite supérieure considérée comme normale (35 U.mL^{-1}) ou du nadir, confirmé par un second échantillon (Rustin *et al*, 2011).

De nombreux auteurs ont étudié l'intérêt du dosage du CA-125 pour évaluer l'efficacité d'un traitement et le risque de rechute. Cependant, les paramètres utilisés pour caractériser l'évolution du marqueur sous traitement varient selon les études (demi-vie, normalisation du marqueur...), et la méthodologie optimale reste encore à déterminer.

3- LE PSA DANS LE CANCER DE LA PROSTATE

Le PSA, ou antigène spécifique de la prostate (*Prostate-Specific Antigen*), est le marqueur tumoral sérique du cancer de la prostate. Il a été purifié en 1979 par l'équipe de Wang et al. (Wang *et al*, 1979).

a) Production du PSA

Le PSA est une glycoprotéine de 34 kDa, de la famille des kallikréines, avec une forte activité enzymatique (Wang *et al*, 1979). Il est sécrété en grande partie par les cellules épithéliales de la prostate, et en moindre quantité par les cellules épithéliales des glandes prostatiques et périurétrales (Wang *et al*, 1979). Ce marqueur a également été retrouvé dans les cellules prostatiques saines, non tumorales.

Dans la circulation générale, le PSA est présent sous deux formes : environ 70% du PSA total circule sous forme liée (à des inhibiteurs endogènes de protéases : α 1-antichymotrypsine ou α 2-macroglobuline), et 30% sous forme libre (Balk *et al*, 2003). Les mécanismes de dégradation du PSA sont encore mal connus ; mais il a été démontré que la fraction libre du PSA, de bas poids moléculaire, était éliminée par filtration glomérulaire, alors que la fraction conjuguée était métabolisée au niveau du foie (Kilic *et al*, 1998).

Le gène codant le PSA est contrôlé par un promoteur androgéno-dépendant ; ainsi la présence de molécules androgènes, comme la testostérone, augmente l'activité transcriptionnelle du gène (Balk *et al*, 2003).

b) Le taux de PSA

La concentration du PSA est exprimée en nanogramme.mL⁻¹ (ng.mL⁻¹), et une concentration sanguine inférieure à 4 ng.mL⁻¹, ou plus récemment à 2,5 ng.mL⁻¹, est

généralement considérée comme normale (Catalona *et al*, 1991; Krumholtz *et al*, 2002). Sa demi-vie biologique est comprise entre 2 et 3 jours (Stamey *et al*, 1987).

Le cancer de la prostate entraîne une forte sécrétion de PSA dans la circulation sanguine, augmentant sa concentration jusqu'à 10^5 fois. Par ailleurs, le taux de PSA peut également augmenter avec certains facteurs physiologiques, comme l'âge, le poids ou une manipulation prostatique (Adhyam & Gupta, 2013). Enfin, le dosage sanguin du PSA reflétant l'activité prostatique, certaines affections inflammatoires bénignes, telles que les hyperplasies bénignes de la prostate (BPH), prostatites ou rétentions urinaires aiguës, vont augmenter sa valeur de façon importante (Adhyam & Gupta, 2013).

c) Fonctions et rôles du PSA

Le PSA possède une activité enzymatique protéolytique, impliquée dans la liquéfaction du liquide séminal facilitant la migration des spermatozoïdes (Lilja *et al*, 1987). De plus, Webber *et al*. ont suggéré que, comme d'autres protéases, le PSA favoriserait l'invasion des cellules cancéreuses prostatiques et la croissance tumorale au sein des tissus, via notamment leur liaison à des facteurs de croissance de l'insuline (Webber *et al*, 1995).

d) Le PSA : marqueur tumoral

Le PSA est utilisé, en association avec le toucher rectal, pour le dépistage du cancer de la prostate, avec une valeur de référence de 2,5 ou 4 ng.mL⁻¹ (Catalona *et al*, 1991; Krumholtz *et al*, 2002). Cependant, ce test reste assez controversé en raison des coûts et des nombreux cas de sur-diagnostic de cancers cliniquement insignifiants (Pienta, 2009).

La deuxième fonction du PSA dans la prise en charge actuelle du cancer de la prostate est pronostique. L'augmentation du PSA est indépendamment corrélée à l'agressivité du cancer ; il représente, en effet, un des critères de définitions des trois groupes à risques de la classification de D'Amico (D'Amico *et al*, 2002).

De plus, l'utilisation du PSA comme outil de surveillance de l'efficacité thérapeutique a largement été étudiée. De nombreuses études se sont plus particulièrement intéressées à la demi-vie de la décroissance du PSA, ou vélocité du PSA (PSAV) à différents stades de cancer de prostate (Fitzpatrick *et al*, 2009).

Enfin, le PSA est utilisé pour la prédiction de la rechute clinique. Après prostatectomie radicale, éliminant toute production résiduelle de PSA, plusieurs valeurs seuils du taux de PSA ont été proposées afin de définir la récurrence, celles-ci variant de 0,2 ng.mL⁻¹ à 0,4 ng.mL⁻¹ (Amling *et al*, 2001; Stephenson *et al*, 2006). Après radiothérapie ou traitements conservateurs, le temps de doublement du PSA (PSADT pour *PSA-Doubling Time*) semble être un bon moyen de prédire la rechute (Fitzpatrick *et al*, 2009).

En pratique, le Groupe de travail sur le PSA (*Prostate-Specific Antigen Working Group*) a défini un critère dont la réponse biochimique à un traitement correspond à une décroissance du PSA d'au moins 50%, à partir de deux mesures éloignées de 3 à 4 semaines (Scher *et al*, 2008). La progression a été déterminée comme l'augmentation d'au moins 25% du taux de PSA, avec une augmentation absolue de 2 ng.mL⁻¹ ou plus du nadir (Scher *et al*, 2008).

Comme pour le CA-125, de nombreux critères, caractérisant l'évolution de la tumeur, ont été évalués ; mais la méthodologie optimale pour l'évaluation de l'efficacité des traitements et pour la prédiction des rechutes reste encore à déterminer.

L'utilisation du PSA en tant que biomarqueur présente, cependant, quelques inconvénients. Premièrement, la production de PSA par les cellules tumorales prostatiques n'est pas fonction linéaire du volume tumoral. Une tumeur avec un volume élevé mais dont les cellules sont peu différenciées peut exprimer moins de PSA qu'une petite tumeur plus différenciée. Ainsi, dans les cancers de la prostate métastatique, on observe souvent, pour un cancer agressif, un taux de PSA discordant, car très bas (Fitzpatrick *et al*, 2009). Dans certaines circonstances, le PSA n'est donc pas efficace pour mesurer de façon exacte la charge tumorale ou pour suivre la réponse au traitement.

Par ailleurs, il a été démontré que l'utilité du PSA diminue avec la progression du cancer. En effet, les tumeurs deviennent plus hétérogènes, entraînant de fortes variabilités dans

l'expression tumorale du PSA, ce qui peut conduire à des faux positifs ou des faux négatifs (Fitzpatrick *et al*, 2009).

Enfin, malgré les nombreuses recherches sur ce sujet, le PSA n'a pas encore été établi comme critère de substitution, puisque le changement de PSA ne reflète seulement qu'une partie de l'effet du traitement (Newling, 2009; Petrylak *et al*, 2006).

4- LES CELLULES TUMORALES CIRCULANTES (CTCS)

Ashworth, 1869: « A case of cancer in which cells similar to those in the tumours were seen in the blood after death »

Les Cellules Tumoraux Circulantes, ou CTCs (*Circulating Tumor Cells*), ont été décrites par l'équipe d'Ashworth et al. en 1869, qui a constaté que certaines cellules, présentes dans le sang d'un patient atteint d'un cancer métastatique, ne ressemblaient pas à des cellules sanguines normales, mais paraissaient similaires à celles de la tumeur (Ashworth, 1869). Les CTCs correspondent, en effet, aux cellules qui se sont détachées de la tumeur et qui transitent dans le sang périphérique entraînant potentiellement le développement de métastases. Ces cellules font l'objet actuellement d'une recherche importante en oncologie afin de définir leur intérêt en tant que biomarqueur (Krebs *et al*, 2011).

a) Les CTCs : issues du processus métastatique

Le développement de métastases est lié au passage de cellules tumorales dans la circulation sanguine (ou lymphatique), puis à leur dissémination dans l'organisme. Paget et al. ont été les premiers à montrer que la dissémination ne se faisait pas de façon aléatoire ; ils ont ainsi décrit la théorie du « *seed and soil* » (graine et sol), les propriétés intrinsèques des cellules tumorales (*seeds*) et le microenvironnement de l'hôte (*soil*)

représentant des déterminants vitaux (Paget, 1989). Les cellules cancéreuses qui quittent le foyer tumoral initial doivent franchir plusieurs étapes, chacune représentant un obstacle que seul un petit nombre de cellules réussira à franchir (Paterlini-Brechot & Benali, 2007) :

- ✓ Détachement de la cellule tumorale de son milieu d'origine et invasion de la matrice extracellulaire : cette étape met en jeu les molécules d'adhésion par la perte de l'ancrage cellulaire ainsi que les protéases extracellulaires qui vont dégrader la matrice extracellulaire (MEC). Durant celle-ci, la cellule tumorale passe d'un phénotype épithélial très différencié à un phénotype de cellule migratrice, mobile et invasive ; c'est ce qu'on appelle la transition épithélio-mésenchymateuse (EMT).
- ✓ Intravasation : il s'agit du passage dans le courant sanguin ou lymphatique. Elle se fait soit au sein de la tumeur dans les petits vaisseaux induits par l'angiogenèse qui sont très perméables, soit en périphérie de la tumeur dans les petits vaisseaux lymphatiques.
- ✓ Survie dans la circulation : dans la circulation, les cellules cancéreuses ne prolifèrent pas. Elles doivent résister à des agressions mécaniques : pression sanguine, élongation et friction dans les capillaires.
- ✓ Extravasation : les cellules tumorales quittent la circulation sanguine pour envahir les tissus. Durant cette étape, la cellule tumorale subit la transition mésenchymo-épithéliale (MET).
- ✓ Survie et prolifération dans un site étranger : un écosystème favorable est indispensable à la survie et la prolifération de ces cellules tumorales dans un site secondaire.

À ce stade, la majorité des cellules cancéreuses meurent par apoptose, certaines restent en dormance ou donnent des micro-métastases indétectables. Seule une minorité de cellules donnera naissance à des métastases actives détectables.

La figure ci-dessous résume les principales étapes du processus métastatique (Figure 2) (Danila *et al*, 2011) :

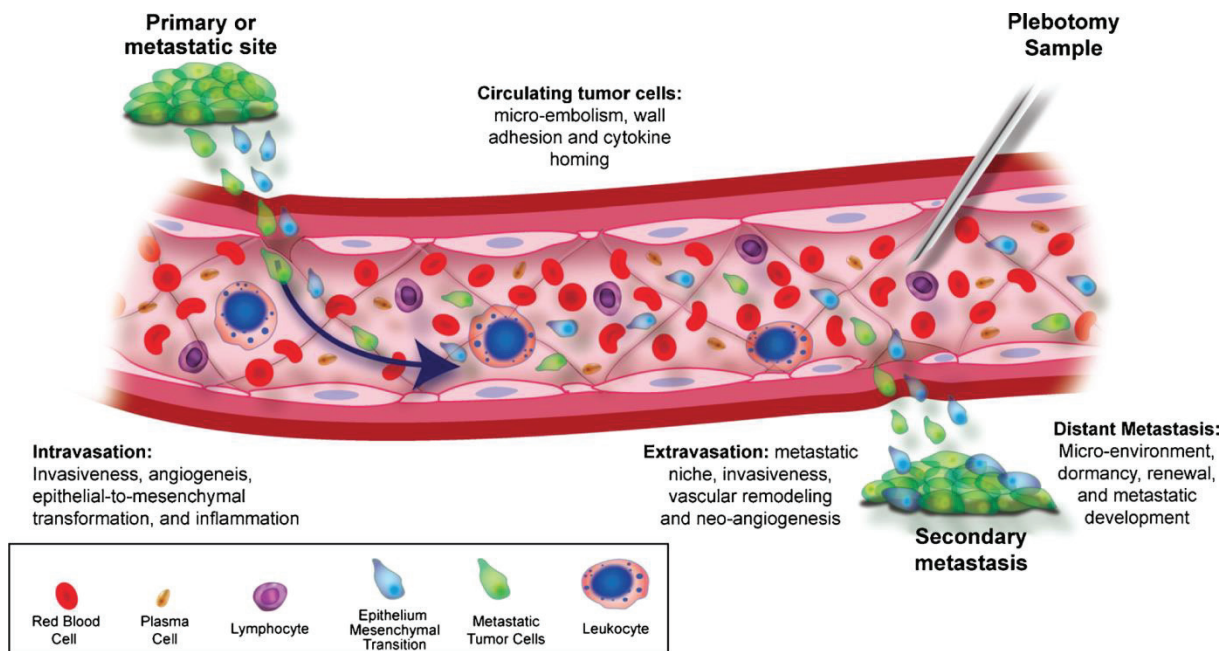


Figure 2 - CTCs et processus métastatique d'après Danila et al. (Danila *et al*, 2011).

Les CTCs correspondent donc aux cellules tumorales, ayant passé l'étape d'intravasation, qui sont en transit dans le sang périphérique.

Par ailleurs, Kim et al. ont récemment démontré que les CTCs étaient capables de recoloniser l'organe d'origine via la circulation sanguine et d'accélérer la croissance tumorale et l'angiogenèse par l'expression de facteurs spécifiques; processus qu'ils ont appelé auto-ensemencement (*self-seeding*) (Kim *et al*, 2009).

b) Détection des CTCs

Les CTCs représentent une infime minorité des éléments figurés du sang, avec une concentration d'environ 1 CTC pour 10^5 - 10^7 cellules mononuclées sanguines (Allan & Keeney, 2010). L'expression « trouver une aiguille dans une botte de foin » (*finding the needle in the haystack*) leur est d'ailleurs souvent associée. Leur présence correspond à un évènement rare et leur détection nécessite la capacité de repérer une seule cellule présentant des caractéristiques spécifiques parmi de nombreuses autres.

Grâce aux progrès technologiques récents, de nombreuses méthodes de détection et d'énumération des CTCs ont été reportées (Liberko *et al*, 2013). Actuellement, seule la

technique *CellSearch*, commercialisée par la société Veridex, a été approuvée par l'Agence Américaine des produits alimentaires et médicamenteux, ou FDA (*Food and Drug Administration*) pour l'analyse des CTCs dans les cancers du sein, de la prostate et colorectal (Cohen *et al*, 2008; Cristofanilli *et al*, 2004; de Bono *et al*, 2008).

La technique *CellSearch* est basée sur une approche immunologique qui a pour but d'énumérer les CTCs, à partir d'un échantillon de 7,5 mL de sang. Après centrifugation, un enrichissement immuno-magnétique sélectionne toutes les cellules épithéliales sur l'expression de la molécule d'adhérence cellulaire épithéliale, ou EpCAM (*EPithelial Cell Adhesion Molecule*). Les cellules ainsi isolées sont détectées en fluorescence, après marquage nucléaire (DAPI, ou diamidino-4',6-phénylindol-2 dichlorhydrate) et immuno-marquage des cytokératines et de l'antigène leucocytaire commun, ou CD45 (*Cluster of Differentiation*), marqueur des leucocytes. Les corps fluorescents sont ensuite analysés un à un. Enfin, un logiciel de reconnaissance d'image permet d'isoler les CTCs à partir de plusieurs critères : i) morphologie ronde ; ii) taille adaptée ; iii) noyau fluorescent entouré par du cytoplasme ; iv) positif à la cytokératine et v) non-expression de l'antigène CD45. Les données de CTCs sont exprimées en nombre de cellules par 7,5 mL de sang. La figure ci-dessous résume les étapes de la technique *CellSearch* (Figure 3) (Paterlini-Brechot & Benali, 2007) :

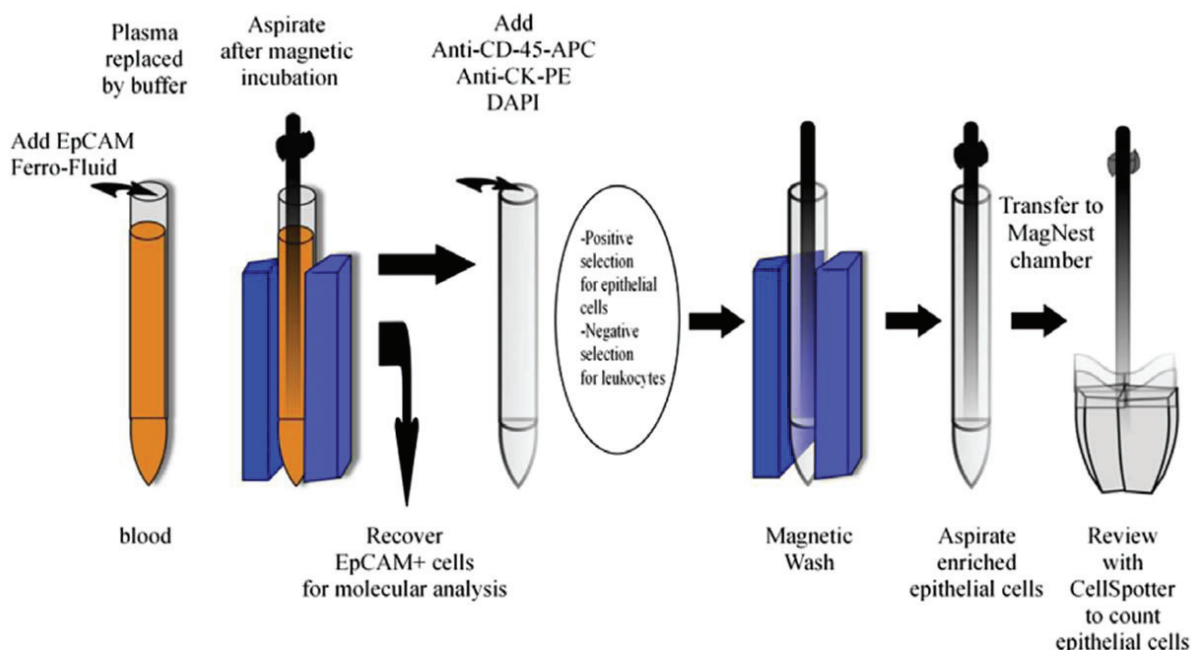


Figure 3 - La technique *CellSearch* pour la détection et l'énumération des CTCs, d'après Paterlini *et al*. (Paterlini-Brechot & Benali, 2007).

c) Difficultés liées à l'analyse des CTCs

En pratique, le principal défi dans l'analyse des CTCs correspond à leur détection dans un volume d'échantillon limité, également appelé aliquote. Etant donné leur rare fréquence par rapport aux autres éléments figurés du sang, le nombre de CTCs obtenu dans l'aliquote ne reflète pas le nombre de CTCs présent dans le sang total. Ceci a été mis en évidence par Tibbe et al., qui ont proposé l'utilisation d'un processus de Poisson pour prendre en compte la fluctuation d'échantillonnage des CTCs dans le sang (Tibbe *et al*, 2007). Les auteurs ont également identifié trois sources majeures de variabilité dans les numérations de CTCs (Tibbe *et al*, 2007) :

- l'erreur d'échantillonnage du nombre de CTCs dans l'aliquote (distribution de Poisson) ;
- la variabilité dans l'efficacité de la technique d'enrichissement ;
- les variabilités intra- et inter-expérimentateurs.

d) Les CTCs : marqueurs tumoraux

L'émergence des nouvelles technologies d'analyses des CTCs a suscité un grand intérêt concernant leur utilisation en tant que marqueurs tumoraux. Durant ces dernières années, la recherche sur les CTCs a progressé rapidement afin de démontrer leurs potentielles applications en tant que biomarqueur pronostic ou prédictif dans plusieurs cancers solides (Krebs *et al*, 2011).

Dans le cancer de la prostate castration-résistant, De Bono et al. ont montré que des patients avec un nombre de CTCs basal supérieur à 5 pour 7,5 mL de sang était associé à une moins longue survie (11,5 mois) que pour des patients ayant un nombre inférieur à 5 CTCs/7,5 mL (21,7 mois) (de Bono *et al*, 2008). Ainsi, la valeur seuil de 5 CTCs/7,5 mL a été utilisé pour séparer les patients à pronostic favorable de ceux à pronostic non-favorable. Les nombres de CTCs à différents temps après initiation du traitement restaient également des facteurs pronostics de la survie. Les auteurs ont enfin montré que le nombre de CTCs était un meilleur prédicteur de la survie que la décroissance du PSA (> 30% ou 50%) (de Bono *et al*, 2008).

La valeur seuil du nombre de CTCs, pronostique de la survie, est dépendante du type de cancer : 5 CTCs/7,5 mL dans les cancers métastatiques du sein et de la prostate ou 3 CTCs/7,5 mL dans le cancer colorectal (Cohen *et al*, 2008; Cristofanilli *et al*, 2004; de Bono *et al*, 2008).

La plupart des études utilisent une dichotomisation du nombre de CTCs (< ou ≥ 5) pour établir leur lien avec la survie. Cependant celle-ci présente quelques limitations, la principale étant la perte de puissance statistique. Scher *et al.* ont utilisé une approche alternative, en considérant le nombre de CTCs dans le cancer de la prostate comme une variable continue, et ont ainsi montré que plus le nombre de CTCs étaient élevé, moins bon était le pronostic (Scher *et al*, 2009).

Par ailleurs, la variation du nombre de CTCs pendant traitement a également été démontrée comme prédicteur de la survie, mettant en évidence leur utilisation potentielle comme biomarqueur de substitution (de Bono *et al*, 2008).

Plus récemment, Goldkorn *et al.* ont validé de manière prospective l'utilité pronostique de l'énumération des CTCs dans une large cohorte de patients sous docetaxel (Goldkorn *et al*, 2014). Ils ont ainsi démontré que le nombre de CTCs basal avait une valeur pronostique et que l'augmentation du nombre de CTCs à 3 semaines était associée à une mauvaise survie. La numération des CTCs pourrait ainsi potentiellement servir de métrique précoce pour aider à rediriger et optimiser les thérapies.

Enfin, la caractérisation des CTCs au niveau moléculaire est également beaucoup étudiée dans le but de faciliter la personnalisation des traitements (Krebs *et al*, 2011). Elle pourrait, en effet, représenter une « biopsie liquide » en temps réel, donnant ainsi des informations sur l'expression ou la mutation de certains gènes. Attard *et al.* ont, par exemple, montré que l'hétérogénéité génétique des récepteurs des androgènes (ou AR pour *Androgen-Receptor*), ainsi que la perte du gène suppresseur de tumeur PTEN (*Phosphatase and TENsin homolog* ou Phosphatase et homologue de la Tensine) dans les CTCs pouvaient avoir des implications importantes dans le développement de thérapies ciblant les récepteurs aux androgènes (Attard *et al*, 2009).

Les marqueurs tumoraux sériques pourraient jouer un rôle important pour le diagnostic, le pronostic et surtout pour l'évaluation de l'efficacité thérapeutique ainsi que la prédiction des rechutes. L'analyse de leur cinétique, censée être représentative de l'évolution de la charge tumorale, pourrait servir de suivi en « temps-réel » de l'efficacité des traitements. Celle-ci serait d'autant plus importante dans les situations où l'imagerie n'est pas disponible ou insuffisante.

Nous allons maintenant synthétiser les principales méthodes d'analyses des données de cinétiques des marqueurs tumoraux, publiées dans la littérature.

5- ANALYSE DE LA CINÉTIQUE DES MARQUEURS TUMORAUX

Pour un patient donné, le clinicien dispose des concentrations de marqueurs tumoraux sériques à différents temps tout au long du traitement. L'analyse de cette cinétique pendant traitement permettrait d'évaluer l'efficacité thérapeutique, les variations des concentrations étant censées refléter les variations tumorales.

Cependant, il n'existe pas de méthode standard pour analyser la cinétique des biomarqueurs. De nombreuses techniques ont été décrites dans la littérature ; certaines basées sur une valeur unique, d'autres sur au moins deux valeurs. La publication d'Almufti et al., dont je suis co-auteur, résume ces différentes approches (Almufti *et al*, 2013).

a) Approches basées sur une valeur unique

Leur utilisation repose sur la valeur prédictive d'un seul point d'observation spécifique, permettant de discriminer les patients à pronostic favorables des non-favorables. Quatre types de valeurs seuil peuvent être décrites (Almufti *et al*, 2013) :

- ✓ La concentration basale : elle correspond à la concentration de marqueur mesurée avant le début du traitement.
- ✓ La normalisation du marqueur : elle correspond à la diminution des concentrations jusqu'à des valeurs normales à un temps t .
- ✓ Le nadir : il correspond à la concentration la plus faible mesurée sous traitement.
- ✓ La valeur seuil à un temps t .

Les graphiques ci-dessous résument chacune de ces quatre approches (Figure 4) (Almufti *et al*, 2013) :

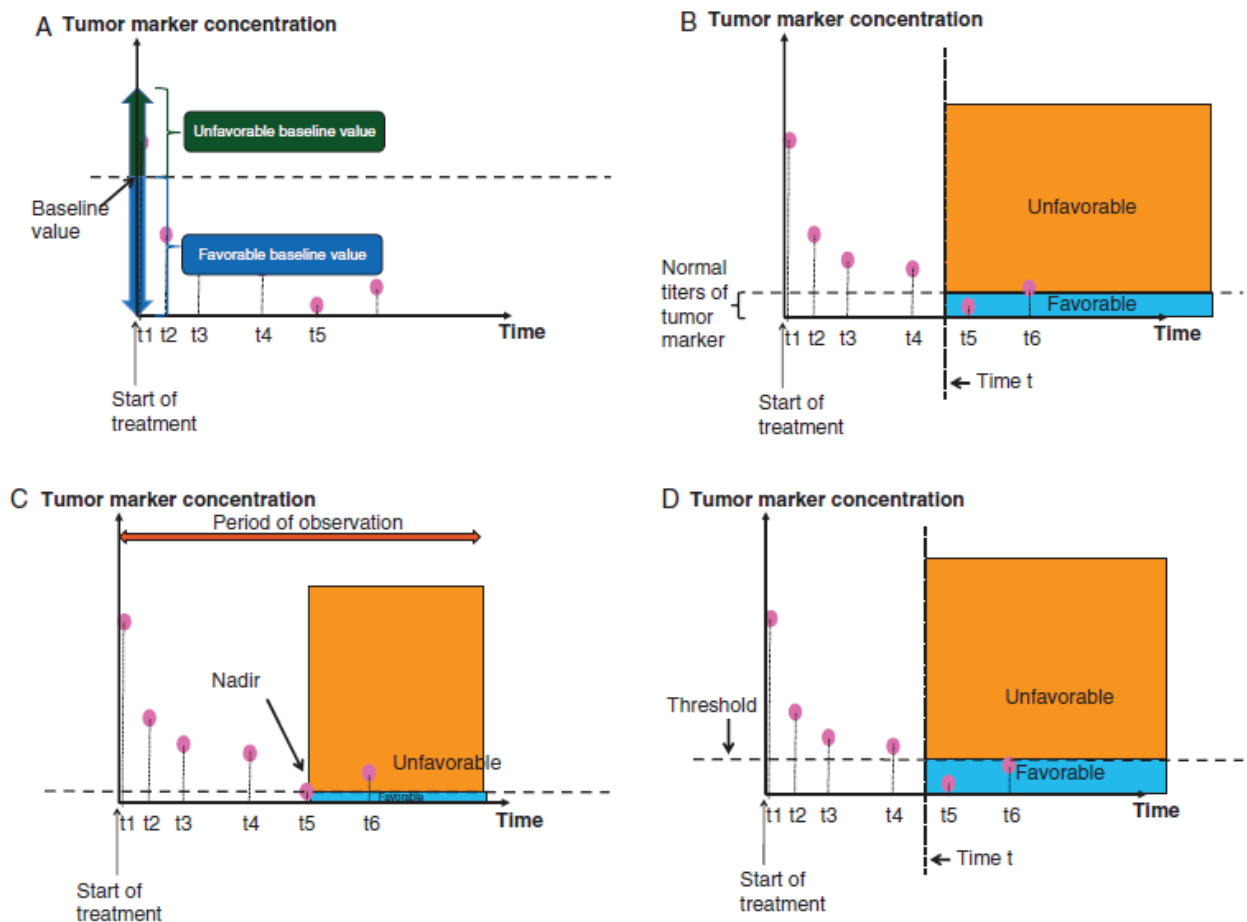


Figure 4 - Approches d'analyses des marqueurs tumoraux basées sur une valeur unique (Almufti *et al*, 2013).

A : concentration basale ; B : normalisation ; C : nadir ; D : valeur seuil à un temps t .

Malgré la simplicité de ces méthodes, celles-ci manquent de précision puisqu'une seule valeur est utilisée pour caractériser tout le profil cinétique du marqueur. De plus, l'impact des variabilités inter- et intra-individuelles n'est pas pris en compte.

b) Approches basées sur au moins deux valeurs

Leur utilisation nécessite au moins deux points d'observation pour décrire le profil cinétique du marqueur. Quatre types d'approche sont distingués dans la littérature :

- ✓ Le pourcentage de changement des concentrations de marqueur : calculé avec ou sans fenêtre de temps.
- ✓ La pente : généralement calculée par régression linéaire.
- ✓ Approches avec temps jusqu' à un certain évènement (*time-to-event*) :
 - Le temps de demi-vie : il correspond à l'intervalle de temps nécessaire pour observer une diminution de 50% du marqueur.
 - Le temps au nadir : il correspond au temps nécessaire pour observer une décroissance du marqueur jusqu'à sa valeur minimale pendant la période d'observation.
 - Le temps à normalisation : il correspond au temps nécessaire à la normalisation du marqueur.
- ✓ L'aire sous la courbe : elle correspond à la mesure de la surface située sous le tracé de la cinétique du marqueur.

Les graphiques ci-dessous résument ces quatre approches (Figure 5) (Almufti *et al*, 2013) :

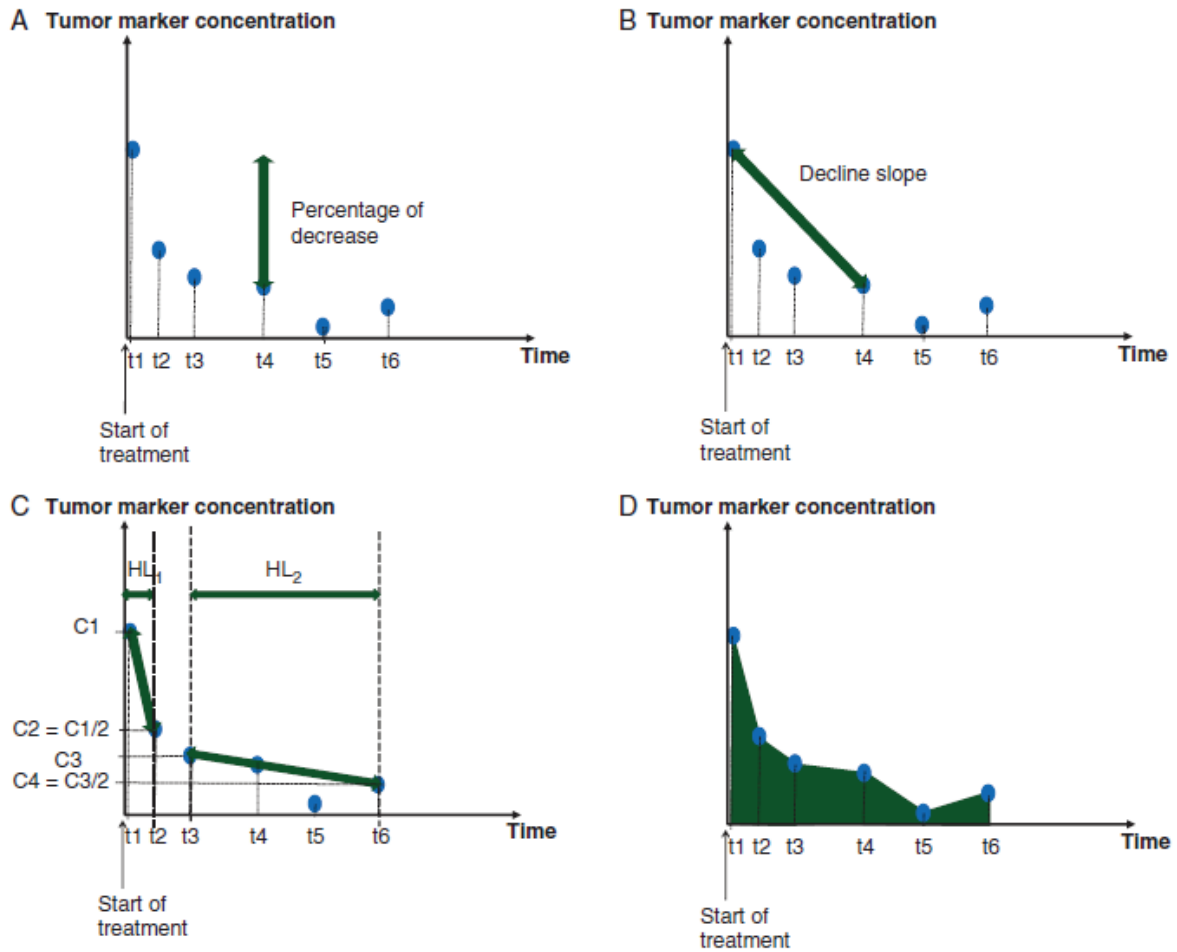


Figure 5 - Approches d'analyses des marqueurs tumoraux basées sur au moins deux valeurs (Almufti *et al*, 2013).

A : pourcentage de décroissance ; B : pente de décroissance; C : demi-vie ; D : aire sous la courbe.

Les approches basées sur uniquement deux valeurs de marqueurs sont imprécises. En effet, ces informations étant entachées d'une erreur (de mesure, de temps, de dosage...), il est impossible de séparer l'information du bruit à partir de si peu de points.

Les approches basées sur plus de deux points sont plus sensibles, puisqu'elles permettent une appréciation dynamique, en considérant tout le profil cinétique. Cependant, elles présentent quelques inconvénients. En effet, l'interprétation des cinétiques d'évolution est dépendante des points utilisés pour l'analyse. De plus, elles ne prennent en compte que très peu d'observations (deux ou trois points le plus souvent), ce qui n'est pas suffisant pour avoir une estimation correcte de plusieurs paramètres cinétiques. Enfin, ces approches ne considèrent pas la variabilité inter-individuelle, ni

l'impact de covariables individuelles sur les paramètres cinétiques pouvant expliquer une partie de la variabilité individuelle.

c) Utilisation des marqueurs tumoraux sériques en pratique clinique

Il existe de nombreuses méthodes pour analyser la cinétique des marqueurs tumoraux sériques. Mais l'hétérogénéité des résultats obtenus suggèrent leur faible reproductibilité, puisque peu d'entre elles sont utilisées en pratique clinique (Almufti *et al*, 2013).

Les concentrations basales, avant-traitement, de plusieurs marqueurs sont utilisées en routine clinique pour l'ajustement des traitements : PSA dans le cancer de la prostate, hormone gonadotrophine chorionique (hCG) dans les tumeurs trophoblastiques et hCG et AFP dans les tumeurs du testicule (FIGO Oncology Committee, 2002; Fitzpatrick *et al*, 2009; International Germ Cell Cancer Collaborative Group, 1997).

Le pourcentage de décroissance est également un paramètre cinétique fréquemment utilisé pour évaluer l'efficacité d'un traitement, via la définition de critères de réponse et de progression. Il est adopté en pratique pour le PSA, avec les définitions du Groupe de travail sur le PSA dans le cancer de la prostate, et le CA-125, avec le critère de Rustin dans le cancer de l'ovaire (Rustin *et al*, 2011; Scher *et al*, 2008).

Cependant, nous avons vu que ces méthodes présentaient de nombreux inconvénients, les principales étant l'absence de prise en compte des variabilités inter- et intra-individuelles, ou encore la non-considération de l'impact de covariables sur les paramètres cinétiques. C'est pourquoi nous proposons, dans les travaux de cette thèse, d'utiliser la modélisation mathématique et les méthodes de pharmacométrie pour décrire les cinétiques de plusieurs marqueurs tumoraux sériques.

III- LA PHARMACOMETRIE ET L'APPROCHE DE POPULATION

1-DEFINITIONS

Box, 1987: « All models are wrong, but some are useful »

La modélisation consiste à représenter un phénomène à l'aide d'un système d'équations mathématiques ; par définition un modèle est une simplification de la réalité. La construction d'un modèle peut avoir trois objectifs : i) décrire les données ; ii) prédire, faire des inférences, et iii) expliquer, comprendre.

La pharmacométrie est définie comme la science permettant de décrire et d'interpréter la pharmacologie de façon quantitative. C'est une discipline récente en pleine expansion, qui a pour objectif de modéliser des données obtenues lors d'essais cliniques ou d'expériences non-cliniques sur des médicaments. La pharmacométrie consiste à développer et appliquer des méthodes mathématiques et statistiques afin de : i) caractériser, comprendre et prédire le comportement ainsi que l'effet d'un médicament ; ii) quantifier l'incertitude liée à ces éléments, et iii) permettre des décisions rationnelles.

La modélisation mathématique et statistique est utilisée en pharmacométrie notamment pour étudier les relations dose – concentration – effet des médicaments (Mould & Upton, 2012). La pharmacocinétique, ou PK (*PharmacoKinetics*), étudie le devenir du médicament dans l'organisme, afin de caractériser le système ADME (Absorption Distribution Métabolisme Excrétion) (Mould & Upton, 2013). La pharmacodynamie, ou PD (*PharmacoDynamics*), étudie les effets du médicament sur l'organisme (organe ou cellule), en termes d'efficacité ou de toxicité (Upton & Mould, 2014). Enfin, la

modélisation pharmacocinétique-pharmacodynamie, ou PK-PD, relie la concentration sanguine du médicament aux effets de celui-ci (Wright *et al*, 2011). Ces principes sont illustrés sur la figure ci-dessous (Figure 6):

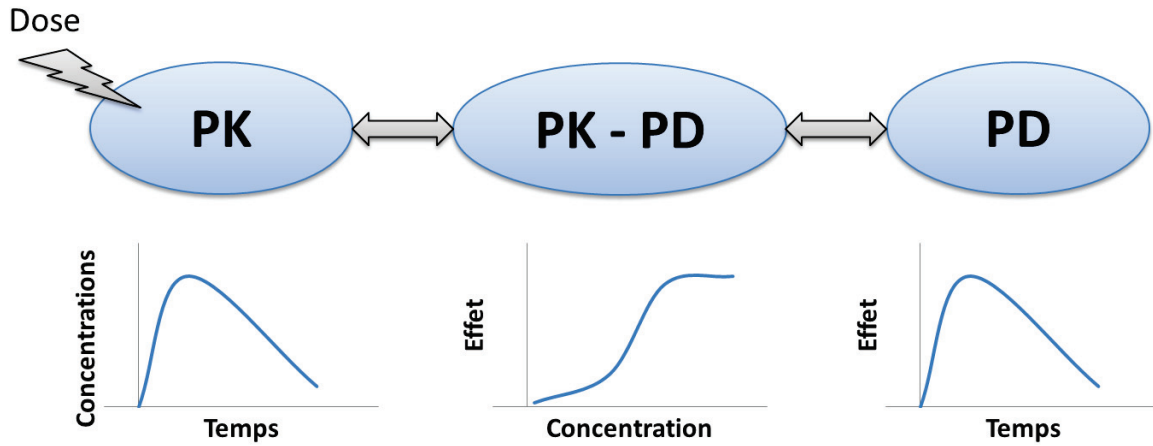


Figure 6 - Principe de la modélisation PK-PD.

Il existe trois grands types de modélisation :

- ✓ Modélisation empirique ou phénoménologique : elle permet la description par des équations simples des phénomènes observés.
- ✓ Modélisation mécanistique : elle permet la description des mécanismes au plus proche de la réalité pharmaco-biologique.
- ✓ Modélisation semi-mécanistique : elle représente un compromis entre ces deux approches. Ce type de modélisation a été utilisé dans les travaux de cette thèse.

Pour analyser des données PK et/ou PD, une approche dite compartimentale est couramment utilisée. Chaque compartiment est un espace sans réalité physiologique dans lequel la molécule se distribue de façon instantanée et homogène et présente, en tout point, un comportement identique.

2-MODELISATION DE DONNEES PK

Le principe de l'analyse PK compartimentale repose sur la répartition du médicament dans l'organisme dans un système à un ou plusieurs compartiments. L'approche compartimentale permet une écriture aisée des modèles par un système d'équations différentielles représentant la cinétique du médicament. Pour cela, on considère que l'organisme est composé de compartiments dans lesquels le médicament se distribue et diffuse de façon homogène de l'un à l'autre. Le transfert de substance entre deux compartiments peut suivre plusieurs types de cinétique :

- ✓ Cinétique d'ordre 0 : la vitesse de transfert, k (*rate constant*, unité de temps) est constante et indépendante de la concentration en médicament, C :

$$rate = k \times C^0 = k$$

- ✓ Cinétique d'ordre 1 : la vitesse de transfert (*rate*, quantité entrant ou sortant d'un compartiment par unité de temps) est proportionnelle à chaque instant à la quantité présente dans le compartiment en amont :

$$rate = k \times C^1$$

En fonction de l'évolution du médicament, le modèle peut comporter un ou plusieurs compartiments, de façon à pouvoir décrire au mieux les phénomènes observés.

Les modèles les plus classiques sont les suivants (Figure 7) :

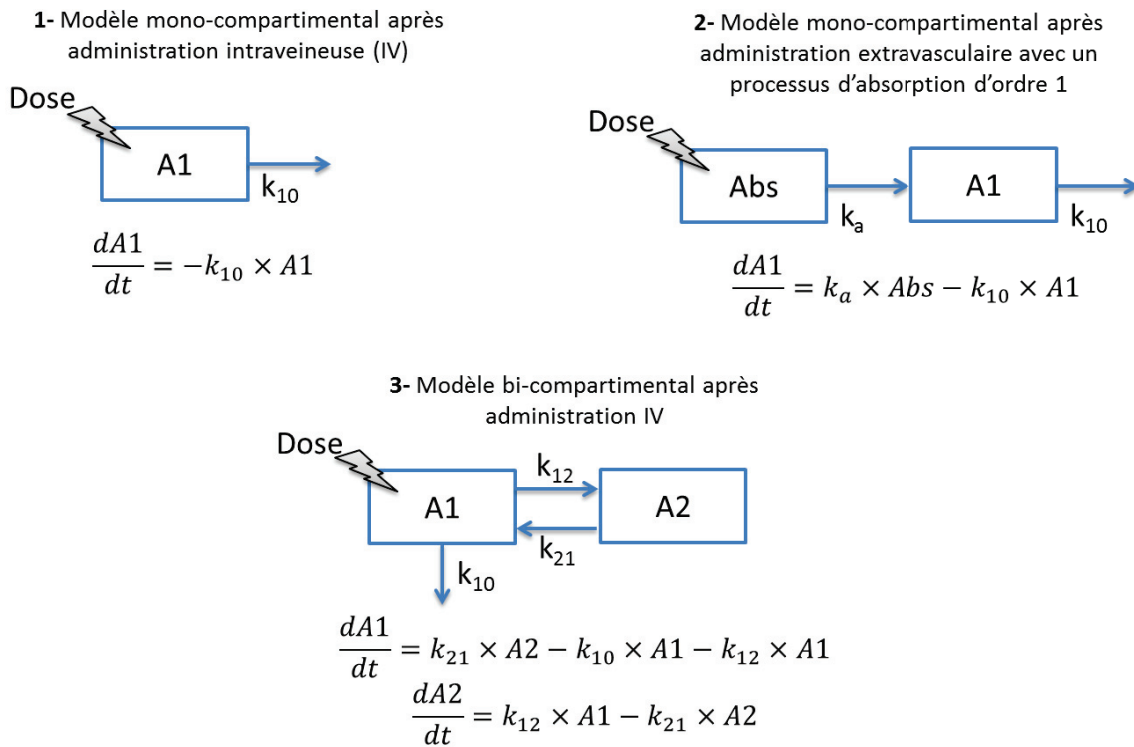


Figure 7 - Les principaux modèles PK.

1- A1 correspond à la quantité de médicament dans le compartiment central. k_{10} est la constante d'élimination. **2-** Abs correspond au compartiment de dépôt de la quantité de médicament qui va être absorbée. k_a est la constante d'absorption. **3-** A2 correspond à la quantité de médicament dans le compartiment périphérique. k_{12} et k_{21} sont les constantes de vitesse de distribution entre chaque compartiment.

3- MODELISATION DE DONNEES PK-PD

La pharmacodynamie, ou PD, s'intéresse aux processus dynamiques des effets pharmacologiques du médicament : effets thérapeutiques (efficacité) et effets indésirables (toxicité). On distingue deux types de modèle PK-PD, selon leur type de relation : les modèles directs ou indirects.

a) Modèles directs

Les modèles PK-PD directs impliquent une action directe et immédiate du médicament sur sa cible. Si on représente les cinétiques de concentrations de médicament (PK) et de réponse (PD) sur un même graphique, les valeurs maximales sont simultanées (Figure 8) (Upton & Mould, 2014) :

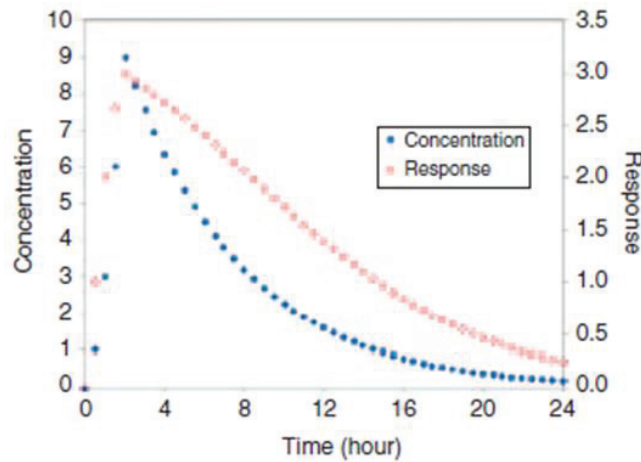


Figure 8 - Modèle direct : profils cinétiques de concentration et de réponse (Upton & Mould, 2014).

Etant basés sur les propriétés des interactions entre ligand et récepteur, les modèles PD directs sont en général saturables. Le modèle le plus couramment utilisé est le modèle dit du E_{max} , dont l'équation et la représentation graphique sont les suivantes (Figure 9) :

$$E(t) = E_0 + \left(1 - \frac{E_{max} \times C(t)}{EC_{50} + C(t)}\right)$$

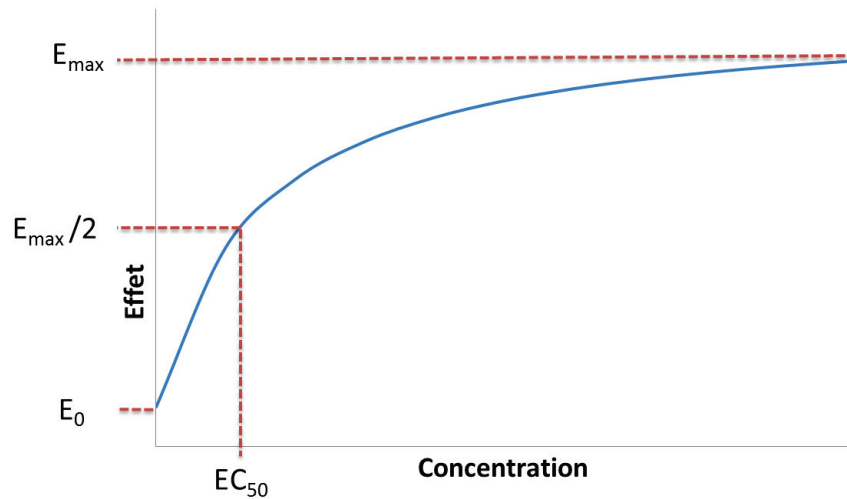


Figure 9 - Modèle du E_{max}.

$E(t)$ correspond à l'effet au temps t . E_0 est l'effet basal sans médicament, E_{\max} l'effet maximal, et EC_{50} la concentration de médicament entraînant 50% de l'effet maximal.

Le paramètre E_{\max} est associé à l'efficacité du médicament, alors que le paramètre EC_{50} est un indicateur de sa puissance.

Les modèles directs sont très peu utilisés pour des relations PK-PD faisant intervenir des anticancéreux ; en effet, on observe le plus souvent un délai entre l'administration du médicament et son effet.

b) Modèles indirects

Les modèles PK-PD indirects sont utilisés lorsque les valeurs maximales de concentrations de médicament et de réponse ne sont pas simultanées, comme illustré sur le graphique suivant (Figure 10) (Upton & Mould, 2014) :

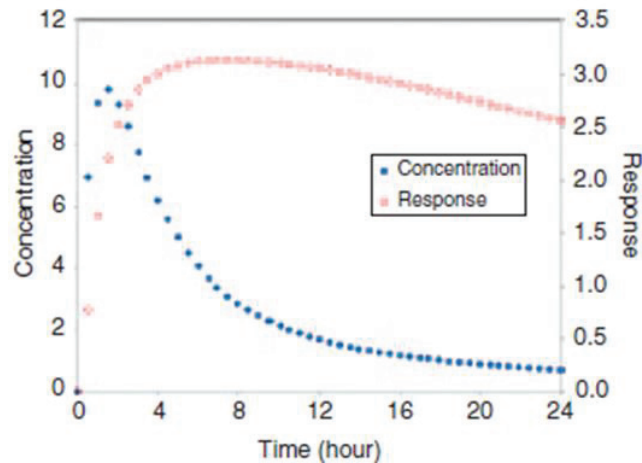


Figure 10 - Modèle indirect : profils cinétiques de concentration et de réponse (Upton & Mould, 2014).

On peut également représenter les effets en fonction des concentrations ; le phénomène de décalage chronologique observé, avec la réponse retardée par rapport à la concentration, est appelé hystérésis (Figure 11) (Upton & Mould, 2014) :

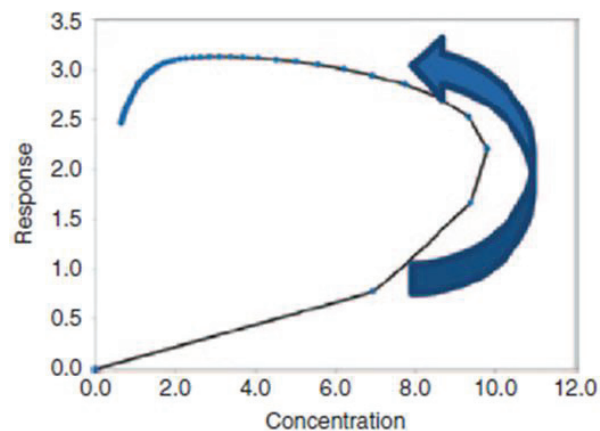


Figure 11 - Phénomène d'hystérésis (Upton & Mould, 2014).

Dans ce type de modèle, le médicament agit sur la cinétique de l'effet et non directement sur l'effet. On suppose que la réponse (R) est produite suivant une vitesse constante d'ordre 0 (K_{in}), et dégradée suivant une cinétique d'ordre 1 (K_{out}) (Dayneka *et al*, 1993). Elle peut être définie par l'équation différentielle suivante (Figure 12) :

$$\frac{dR}{dt} = K_{in} - K_{out} \times R$$

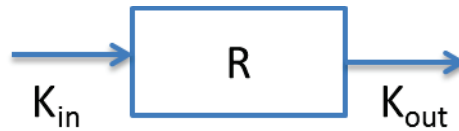
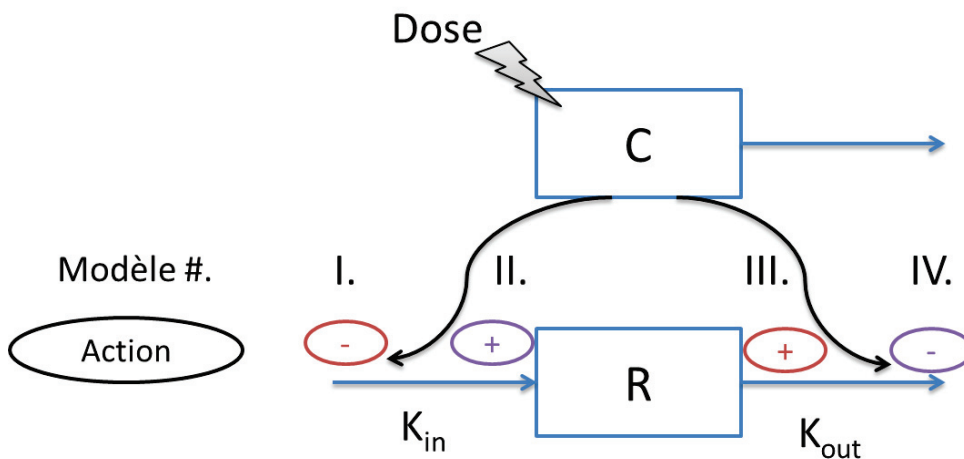


Figure 12 - Représentation compartimentale d'un modèle indirect.

Généralement, on fait l'hypothèse que le système à l'état d'équilibre (*steady-state*), sans médicament, est le suivant : $R(0) = \frac{K_{in}}{K_{out}}$. Le médicament va ensuite agir sur la synthèse ou la dégradation de l'effet. On peut ainsi distinguer quatre modèles d'action indirecte du médicament (Figure 13) (Sharma & Jusko, 1998) :



Modèle I. Inhibition de la synthèse : $\frac{dR}{dt} = K_{in} \times \left(1 - \frac{I_{max} \times C}{IC_{50} + C}\right) - K_{out} \times R$

Modèle II. Stimulation de la synthèse : $\frac{dR}{dt} = K_{in} \times \left(1 + \frac{S_{max} \times C}{SC_{50} + C}\right) - K_{out} \times R$

Modèle III. Stimulation de la dégradation : $\frac{dR}{dt} = K_{in} - K_{out} \times \left(1 + \frac{S_{max} \times C}{SC_{50} + C}\right) \times R$

Modèle IV. Inhibition de la dégradation : $\frac{dR}{dt} = K_{in} - K_{out} \times \left(1 - \frac{I_{max} \times C}{IC_{50} + C}\right) \times R$

Figure 13 - Les différents modèles d'action indirecte.

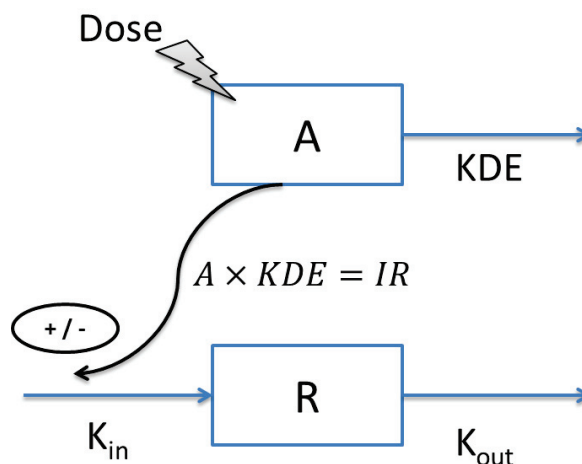
I_{max} correspond à l'inhibition maximale, IC_{50} à la concentration de médicament entraînant 50% de l'inhibition maximale. S_{max} correspond à la stimulation maximale, SC_{50} à la concentration de médicament entraînant 50% de la stimulation maximale.

Les modèles d'inhibition de la synthèse (Modèle I.) et de stimulation de la dégradation (Modèle III.) entraînent une diminution de l'effet, ou réponse (R) ; alors que les modèles de stimulation de la synthèse (Modèle II.) et d'inhibition de la dégradation (Modèle IV.) provoquent une augmentation de l'effet.

c) Cas particulier : modélisation K-PD

Lors de la construction d'un modèle PK-PD, les données de cinétique des concentrations de médicaments ne sont pas toujours disponibles. Jacqmin et al. ont proposé un modèle, appelé K-PD (*Kinetic-Pharmacodynamic*), pour lequel l'absence de données PK peut être compensée par la simple description des doses successives (Jacqmin *et al*, 2007). En pratique, il suffit de disposer des temps d'administration ainsi que de la cinétique d'un effet. La PK est décrite comme étant un modèle virtuel à un compartiment, représentant la biophase, avec la dose directement administrée dans celui-ci (*bolus*). Le modèle repose uniquement sur les données PD pour l'estimation des paramètres.

Le schéma suivant représente un exemple de modèle K-PD pour un traitement qui agit sur la synthèse de la réponse (Figure 14) :



$$\frac{dA}{dt} = -KDE \times A$$

$$IR = A \times KDE$$

$$\frac{dR}{dt} = K_{in} \times \left(1 - \frac{IR}{EDK_{50} + IR}\right) - K_{out} \times R$$

Figure 14 - Modèle K-PD.

La constante de synthèse de la réponse K_{in} est inhibée par un taux virtuel de perfusion (IR pour *virtual Infusion Rate*), exprimé par la quantité de médicament (A) par unité de temps, via un modèle E_{max} . Deux paramètres « PK » sont estimés :

- ✓ KDE : pseudo-constante d’élimination du compartiment virtuel ;
- ✓ EDK50 : valeur de l’IR entraînant 50% d’inhibition de K_{in} .

Dans les travaux de cette thèse, nous avons utilisé l’approche de population pour la construction de modèles K-PD, afin de prendre en compte la variabilité inter-individuelle.

4- APPROCHE DE POPULATION

a) Définitions

L’approche de population (*Population approach*) repose sur la description d’un modèle PK-PD pour un individu typique, ainsi que la description de la variabilité dans la population. Il existe différents types d’analyse de population :

- ✓ Regroupement naïf des données (*Naive pooling of data*) : elle correspond au premier type d’analyse de population, combinant toutes les données individuelles ensemble comme s’il s’agissait d’un seul individu. Cette approche est simple, mais ne fait pas la distinction entre les variabilités inter- et intra-individuelles.

- ✓ Approche en deux étapes (*Two-Stage approach*) : elle est divisée en deux étapes : estimation des paramètres individuels par régression non linéaire, puis calcul des statistiques descriptives sur la distribution des paramètres. Cependant, cette approche n'appréhende pas l'erreur sur l'estimation des paramètres individuels, et reste uniquement descriptive et non explicative de la variabilité inter-individuelle.
- ✓ Approche non-linéaire à effets mixtes (*Non-linear mixed-effects approach, ou NLME*) : introduite par Sheiner et Beal en 1972, elle permet l'estimation, de façon simultanée, des paramètres typiques ainsi que des paramètres de variance en utilisant les données de tous les patients (Sheiner *et al*, 1972).

Cette dernière approche est devenue la plus utilisée. On parle de modèle à effets mixtes car la variable dépendante observée dépend de deux types d'effets :

- Effets fixes : effets qui ne se produisent pas de façon aléatoire. Ils sont décrits dans le modèle par les paramètres d'effets fixes, donnant la prédiction du modèle pour un individu typique.
- Effets aléatoires : ils sont décrits dans le modèle par des fonctions de distribution, généralement de type paramétrique (distribution normale caractérisée par sa variance). Les paramètres d'effets aléatoires sont généralement une estimation de la variabilité. On distingue plusieurs niveaux de variabilité :
 - La variabilité inter-individuelle : elle correspond à la variabilité entre les individus. Elle quantifie l'écart entre la valeur typique estimée dans la population et la valeur prédite par le modèle chez un patient donné. En effet, les paramètres PK-PD de chaque individu lui sont spécifiques et différents de ceux des autres sujets de la population. Cette variabilité est due à des facteurs démographiques, génétiques, physiologiques et environnementaux, introduits dans le modèle et appelés covariables.
 - La variabilité inter-occasion : elle correspond à la variabilité chez un même individu sur plusieurs occasions. Elle informe sur la variabilité des paramètres au cours du temps.
 - La variabilité résiduelle : elle correspond à la variabilité restante, non expliquée par le modèle. Elle quantifie l'écart entre la valeur observée et la

valeur prédite par le modèle. Cet écart peut être dû aux erreurs analytiques ou encore à la variabilité intra-individuelle.

Ces variabilités sont décrites sur la figure suivante (Figure 15) :

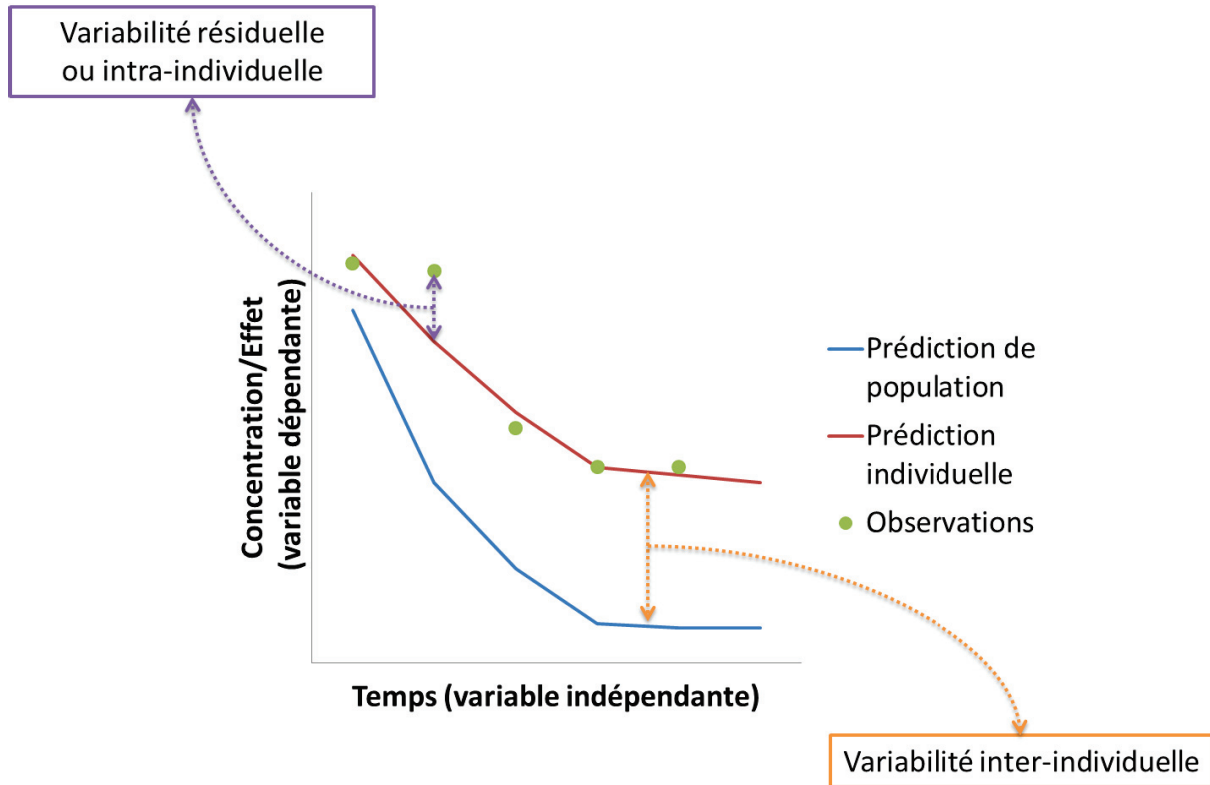


Figure 15 - Les différents niveaux de variabilité.

Enfin, le modèle à effets mixtes est dit non-linéaire car la moyenne des observations dépend non-linéairement des effets fixes et des effets aléatoires.

b) Formalisation du modèle non-linéaire à effets mixtes

Le modèle non-linéaire à effets mixtes peut être formalisé de la manière suivante :

$$Y_{i,j} = f(X_{i,j}, \theta_i) + \varepsilon_{i,j}$$

$$\theta_i = g(\theta, \eta_i)$$

- $Y_{i,j}$: variable dépendante : observation mesurée chez le $i^{\text{ème}}$ individu au $j^{\text{ème}}$ temps.
- $f(\)$: fonction non-linéaire correspondant au modèle structurel, qui décrit l'évolution d'une concentration et/ou d'un effet au cours du temps chez un individu.
- $X_{i,j}$: variables indépendantes : vecteur des variables descriptives du processus pour le sujet i (temps, doses pour la PK, concentrations pour la PD...).
- $\varepsilon_{i,j}$: erreur résiduelle, paramètre d'effets aléatoires. $\varepsilon_{i,j}$ est supposé indépendant et identiquement distribué selon une loi normale de variance σ^2 (Figure 15) :

$$\varepsilon_{i,j} \sim N(0, \sigma^2)$$

On peut distinguer trois principaux modèles d'erreurs résiduelles :

- Modèle additif (homoscédastique) : la variance de l'erreur est constante et indépendante du niveau de concentration/effet : $Y_{i,j} = F_{i,j} + \varepsilon_{i,j}$, $F_{i,j}$ correspondant à la prédiction individuelle chez le $i^{\text{ème}}$ individu au $j^{\text{ème}}$ temps. La figure ci-dessous illustre un modèle d'erreur additif pour des données de concentrations, les courbes en pointillées correspondant à l'intervalle de prédiction à 95% (Figure 16) :

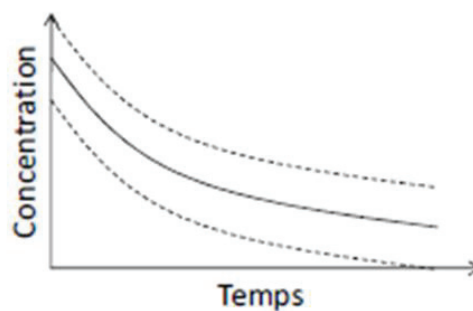


Figure 16 - Modèle d'erreur résiduelle additif.

- Modèle proportionnel (hétéroscédastique) : La variance de l'erreur est dépendante du niveau de concentration/effet : $Y_{i,j} = F_{i,j} + F_{i,j} \times \varepsilon_{i,j}$. La figure ci-dessous illustre un modèle d'erreur proportionnel pour des données de concentrations (Figure 17) :

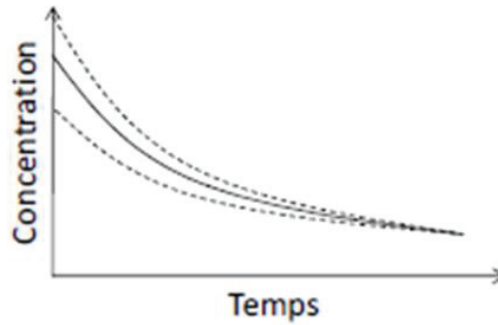


Figure 17 - Modèle d'erreur résiduelle proportionnel.

○ Modèle mixte : le modèle d'erreur est additif pour les faibles valeurs, et proportionnel pour les valeurs élevés : $Y_{i,j} = F_{i,j} \times (1 + \varepsilon_{i,j,1}) + \varepsilon_{i,j,2}$.

- θ_i : vecteur de paramètres pour l'individu i .
- θ : vecteur de paramètres d'effets fixes ou paramètres typiques.
- η_i : vecteur d'effets aléatoires individuels. On fait l'hypothèse que η_i est une variable aléatoire qui suit une distribution normale de moyenne nulle et de matrice variance-covariance Ω^2 (les variances étant les valeurs de la diagonale de cette matrice : ω^2) (Figure 15) :

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

Chaque paramètre est une variable aléatoire et sa valeur pour un individu donné est une réalisation de cette variable aléatoire. Comme pour la variabilité d'erreur résiduelle, il existe de nombreuses façons de modéliser la variabilité inter-individuelle, les principales étant :

- Modèle additif : $\theta_i = \theta + \eta_{\theta_i}$, illustré sur la figure ci-dessous en prenant l'exemple du paramètre de clairance, les droites en pointillés correspondant aux 5^{ème} et 95^{ème} percentiles (Figure 18) :

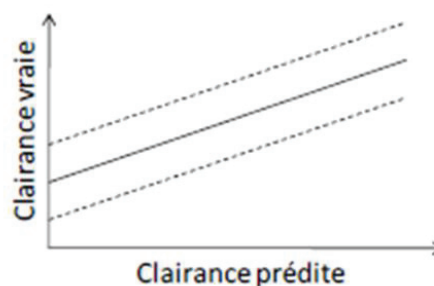
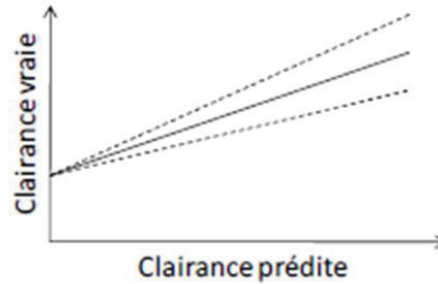


Figure 18 - Modèle additif de variabilité inter-individuelle.

- Modèle exponentiel ou multiplicatif : $\theta_i = \theta \times \exp(\eta_{\theta_i})$, illustré sur la figure ci-dessous en prenant l'exemple du paramètre de clairance (Figure 19) :

**Figure 19** - Modèle exponentiel de variabilité inter-individuelle.

Ainsi, trois types de paramètres sont à estimer :

- ✓ un vecteur d'effets fixes (paramètres typiques) : θ ;
- ✓ une matrice de variance-covariance des effets aléatoires quantifiant la variabilité inter-individuelle : Ω^2 ;
- ✓ un paramètre d'effets aléatoires quantifiant la variabilité résiduelle : σ^2 .

La figure ci-dessous reprend la formalisation des différentes variabilités (Figure 20) :

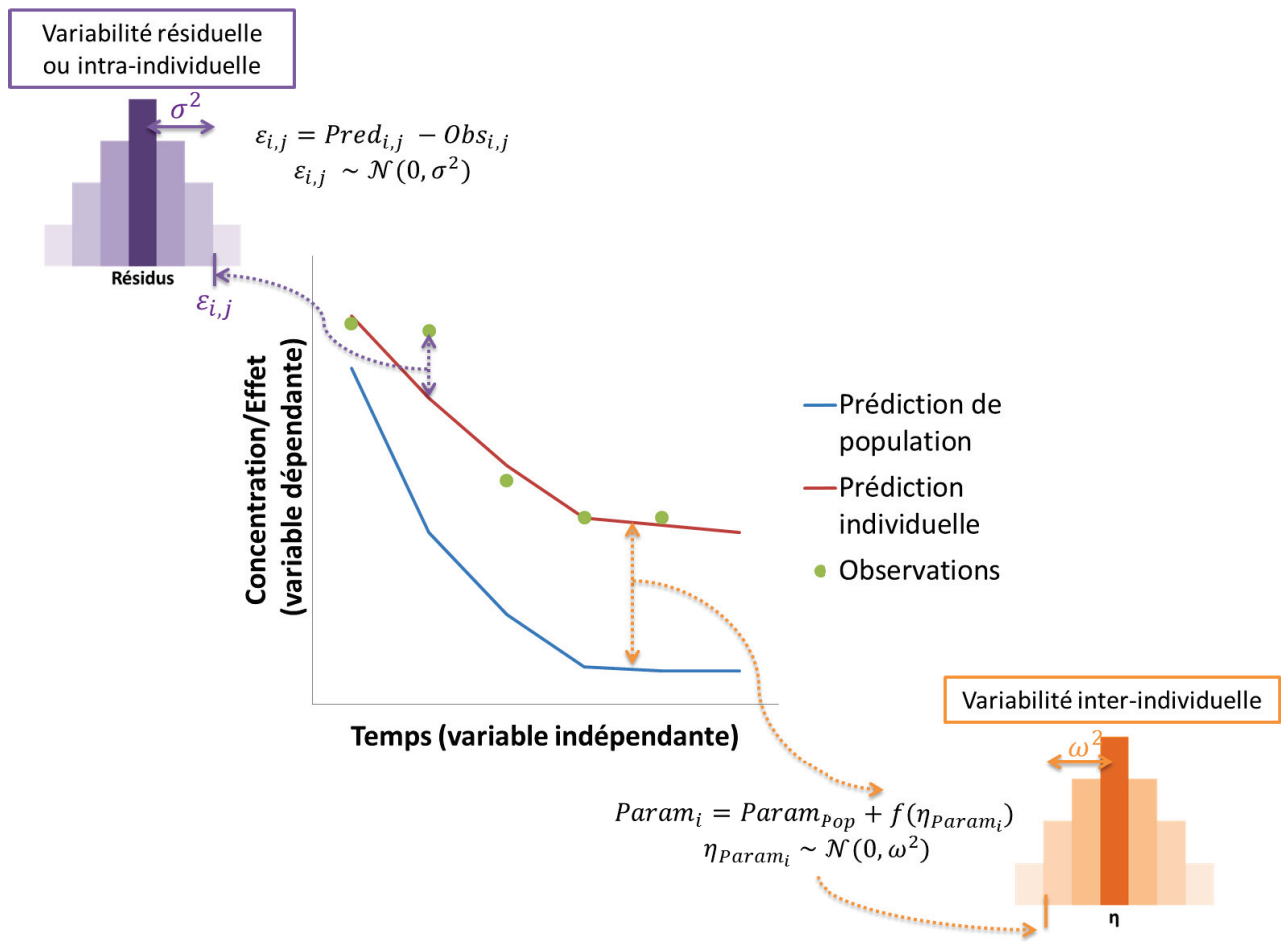


Figure 20 - Formalisation des différentes variabilités.

c) Estimation des paramètres

L’estimation des paramètres est basée sur l’estimation de la vraisemblance, qui quantifie la probabilité que les observations proviennent d’un échantillon du modèle. L’objectif est donc de maximiser la vraisemblance des données observées. L’estimation va consister à trouver les valeurs des paramètres θ, Ω^2 et σ^2 telles que les prédictions du modèle soient les plus proches possibles des observations et donc les plus vraisemblables. C’est ce qu’on appelle l’optimisation, qui a pour but de ne retenir que les valeurs les plus appropriés. Différentes méthodes d’optimisation ont été décrites, la principale étant la méthode des moindres carrés étendus, ou ELS (*Extended Least Squares*). Elle consiste à estimer les valeurs des paramètres minimisant la valeur de la fonction objective, ou OFV (*Objective Function Value*) : $OFV = -2 \times Vraisemblance$.

Il existe plusieurs méthodes d'estimation de la vraisemblance, certaines basées sur une approximation par linéarisation, d'autres sur une estimation de la vraisemblance exacte.

i. Méthodes reposant sur une vraisemblance linéarisée :

En 1972, Sheiner et al. développent la première méthode, l'approximation d'ordre 1, ou FO (*First Order*), qui approche le modèle NLME par un modèle linéaire mixte. Le modèle est linéarisé grâce à un développement limité (développement de Taylor) à l'ordre 1 du modèle structurel, et à l'ordre 0 du modèle d'erreur, où tous les effets aléatoires inter-individuels sont mis à 0 (Sheiner *et al*, 1972). Dans un second temps, la matrice de variance-covariance des erreurs inter-individuelles pourra être utilisée pour estimer, par inférence bayésienne, les paramètres individuels (*posthoc* ou EBEs pour *Empirical Bayes Estimates*). Cette méthode montre rapidement des limites, pouvant conduire à des estimations biaisées des paramètres de population si la variabilité inter-individuelle est forte (Ette & Williams, 2004).

Une première amélioration a ensuite été proposée par Lindstrom et al. : la méthode d'estimation conditionnelle d'ordre 1, ou FOCE (*First Order Conditional Estimation*) (Lindstrom & Bates, 1990). Celle-ci propose une linéarisation de la vraisemblance au voisinage de l'estimation bayésiennes de l'itération en cours des effets aléatoires de la variabilité inter-individuelle. Ainsi, elle permet d'obtenir simultanément les paramètres individuels et de population.

La méthode de Laplace a ensuite été développée proposant un développement de Taylor d'ordre 2 (Wolfinger, 1993).

Cependant, toutes ces méthodes maximisent une vraisemblance approchée, et non la vraisemblance exacte.

ii. Méthodes reposant sur une vraisemblance exacte :

De nouvelles méthodes se sont développées ces dernières années, reposant sur le calcul intensif. L'algorithme EM, pour *Expectation Maximization*, permet de trouver le maximum de vraisemblance des paramètres de modèles probabilistes lorsque le modèle

dépend de données non observables (données latentes) représentées par les paramètres individuels (Dempster *et al*, 1977). La première étape E (*Expectation*) consiste à calculer la valeur attendue du logarithme de la vraisemblance étant donné les estimations en cours des paramètres de population. La seconde étape M (*Maximization*) calcule les nouvelles valeurs de paramètres de population maximisant le logarithme de la vraisemblance. L’algorithme le plus abouti aujourd’hui est l’algorithme d’approximation stochastique EM, ou SAEM (*Stochastic Approximation Expectation Maximization*), développé par Kuhn et Lavielle (Kuhn & Lavielle, 2004). Il décompose la première étape en deux : i) étape S, correspondant à la simulation des paramètres individuels par la méthode de Monte-Carlo par chaînes de Markov, ou MCMC (*Markov Chain Monte Carlo*) ; ii) étape SA, approxime de façon stochastique la vraisemblance attendue. Dans le cas d’un modèle non-linéaire à effets mixtes, le calcul de l’espérance des données requiert la résolution d’une intégrale multiple qui n’a pas de solution analytique. L’algorithme SAEM propose une approximation stochastique de l’étape E faisant appel à un ré-échantillonnage aléatoire par chaînes de Markov.

Le logiciel de modélisation non-linéaire à effets mixtes, NONMEM (*NON-linear Mixed Effects Model*), est le standard de l’industrie pharmaceutique et une référence dans le domaine. Il a été développé par Sheiner et Beal en 1980 (Beal *et al*, 2009). Les premières versions utilisaient les méthodes FO et FOCE, mais depuis 2009, NONMEM (version VII) propose également des méthodes de types EM, notamment SAEM. Dans le logiciel NONMEM, l’algorithme utilisé pour estimer les paramètres de population est l’algorithme de Newton-Raphson.

Dans les travaux de cette thèse, nous avons utilisé le logiciel NONMEM (versions 7.2 et 7.3) et la méthode d’estimation SAEM.

d) Evaluation des modèles

L’évaluation d’un modèle permet de déterminer si celui-ci est adapté à l’usage que nous souhaitons en faire. Cette étape est d’autant plus importante dans le champ de la pharmacométrie, puisque le modèle sera utilisé en pratique clinique pour le suivi

thérapeutique ou l'ajustement posologique. Afin de s'assurer que le modèle choisi est adéquat, de nombreuses procédures d'évaluation du modèle ont été proposées et sont vivement recommandées par les autorités de santé, telles que la FDA, ou l'Agence européenne des médicaments (EMA pour *European Medicines Agency*) (European Medicines Agency, 2007; Food and Drug Administration, 1999). Dans le cadre de cette thèse, l'évaluation des modèles a reposé sur de multiples procédures complémentaires (Brendel *et al*, 2007).

Premièrement, de nombreux graphiques ont été décrits pour vérifier l'ajustement d'un modèle aux données, ils sont appelés *Goodness-Of-Fit plots*, ou GOFs :

- Prédiction (de population ou individuelles) en fonction des observations : permet d'évaluer la qualité du modèle structurel.
- Etude des résidus : permet d'évaluer le modèle d'erreur résiduelle et le modèle structurel. Différents types de résidus peuvent être analysés : i) les résidus individuels pondérés par l'écart-type, ou IWRES (*Individual Weighted RESiduals*), ii) les résidus pondérés obtenus à partir de FOCE, ou CWRES (*Conditional Weighted RESiduals*), ou iii) les erreurs normalisées sur la distribution prédictive, ou NPDE (*Normalized Prediction Distribution Errors*) (Brendel *et al*, 2006). D'après les hypothèses établies lors de la formalisation de l'approche de population, ces résidus modifiés doivent être distribués selon une loi normale centrée réduite. De plus, ils doivent être indépendant du temps et des prédictions.
- Distribution des paramètres individuels (EBEs) : permet d'évaluer la forme de la distribution des paramètres et de la comparer aux hypothèses effectuées. Pour chaque paramètre, une valeur de *Shrinkage* est calculée : $Shrinkage = 1 - \frac{Var(\eta)}{\Omega}$. Il permet d'évaluer si les données sont informatives ou non pour l'estimation de chaque paramètre individuel (Savic & Karlsson, 2009).

Un autre type de graphique est de plus en plus utilisé : le graphique de vérification visuelle de la qualité prédictive d'un modèle, ou VPC (*Visual Predictive Check*) (Yano *et al*, 2001). Ce type de graphique est obtenu en simulant un grand nombre de jeux de données sous le modèle testé. Les quantiles 5%, 50% et 95% des données observées sont calculés à chaque temps. Les quantiles 5%, 50% et 95% ainsi que leurs intervalles

de confiance des données simulées sont également calculés à chaque temps. Le graphique permet de comparer les intervalles de confiance des quantiles simulés aux quantiles observés.

Enfin, pour évaluer un modèle et la qualité du processus d’estimation, il est aussi nécessaire de considérer l’incertitude sur l’estimation des paramètres. Pour cela, le logiciel NONMEM calcule, pour chaque paramètre estimé, l’erreur standard, ou SE (*Standard Error*), souvent exprimée en erreur standard relative, ou RSE (*Relative Standard Error*, en %). Les SE peuvent être estimés par la matrice d’information de Fisher ou par des méthodes de calcul intensif (*bootstrap, log-likelihood profiling*) (Efron, 1978; Sheiner, 1986).

Dans les travaux de cette thèse, les GOFs et les VPCs ont été obtenus à l’aide du programme PsN (*Perl-speaks-NONMEM*) et du package Xpose de R (Keizer *et al*, 2013; Lindbom *et al*, 2005; R Development Core Team, 2010).

Plusieurs types d’évaluation de modèle peuvent être distingués selon le type de données utilisées (Brendel *et al*, 2007) :

- ✓ Evaluation interne : le modèle est évalué sur les mêmes données qui ont permis la construction du modèle.
- ✓ Evaluation interne avancée : le modèle est évalué sur une base de donnée différente de celle utilisée pour la construction du modèle, mais provenant d’un même essai (découpage des données ou *data-splitting*).
- ✓ Evaluation externe : le modèle est évalué sur une base de données indépendante de celle qui a permis de construire le modèle.

5- MODELISATION DE LA CINETIQUE DES MARQUEURS TUMORAUX

a) Modélisation des cinétiques de PSA et de CA-125

La cinétique du PSA a, dans un premier temps, été modélisée par une somme d'exponentielles chez des patients atteints d'un cancer de la prostate après radiothérapie (Hanlon *et al*, 1998; Vollmer & Montana, 1999). Le premier modèle de ce type développé à l'aide d'une approche de population a été publié par Hanlon et al. (Hanlon *et al*, 1998).

En 2003, Vollmer et al. ont ensuite construit le premier modèle mécanistique compartimental reliant le PSA au volume tumoral. Ils ont décrit la cinétique du PSA par deux compartiments, et ont supposé une relation linéaire entre la concentration de PSA et la somme des volumes des tissus tumoraux et sains (Vollmer & Humphrey, 2003).

Lutz et al., en 2008, ont ensuite proposé de modéliser les cinétiques de PSA et de CA-125 par un unique compartiment. Ils ont fait l'hypothèse que les deux marqueurs pouvaient être produits par les cellules tumorales et les cellules saines. Ce modèle a permis de prédire le volume limite de détection des tumeurs par le PSA et le CA-125 (Lutz *et al*, 2008).

Enfin, You et al. ont proposé un modèle à deux compartiments, en utilisant l'approche de population, pour décrire la décroissance du PSA chez des patients après prostatectomie (You *et al*, 2008). La clairance apparente du PSA a ensuite été reliée à la survie sans rechute par un modèle de Cox (You *et al*, 2009).

Concernant la cinétique du CA-125, il n'existe, à notre connaissance, aucune publication de modèle développé via une approche de population.

b) Modélisation de la cinétique des CTCs

Meng et al., en 2004, ont proposé un modèle à deux compartiments pour décrire la décroissance des CTCs chez des patientes atteintes d’un cancer du sein en dormance après mastectomie (Meng *et al*, 2004).

Coumans et al., en 2013, ont développé un modèle de la cascade métastatique dans le cancer du sein (Coumans *et al*, 2013). Le modèle a été décomposé en cinq étapes, représentées dans la figure ci-dessous (Figure 21) (Coumans *et al*, 2013).

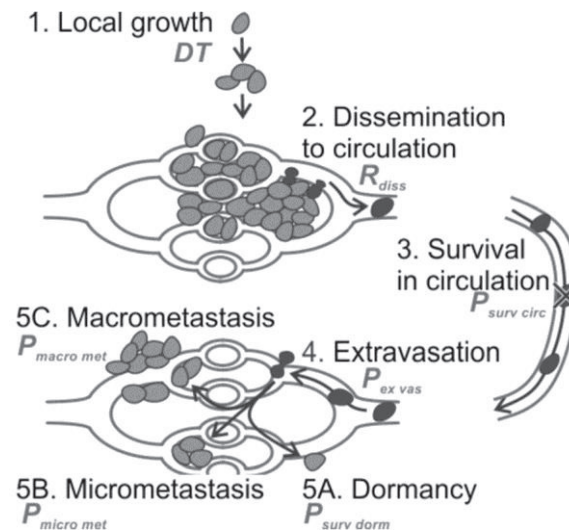


Figure 21 - Modèle de cascade métastatique selon Coumans et al. (Coumans *et al*, 2013).

Dans ce modèle, la croissance de la tumeur primitive a été décrite par une fonction logistique. La relation entre le diamètre de la tumeur et le nombre de cellules tumorales disséminées dans la circulation a été supposée linéaire. Enfin, la relation entre le nombre de cellules injectées dans la circulation et le nombre de métastases macroscopiques a également été supposée linéaire.

A notre connaissance, aucun modèle décrivant la cinétique des CTCs via une approche de population n’a été publié.

IV- DEVELOPPEMENT DU MEDICAMENT EN ONCOLOGIE

1- LES ETAPES DU DEVELOPPEMENT DU MEDICAMENT EN ONCOLOGIE

La recherche et le développement d'un médicament est un processus long, coûteux et exigeant. Plus de dix ans sont souvent nécessaires avant qu'un nouveau médicament soit commercialisé. On distingue plusieurs phases entre la découverte d'une nouvelle molécule et sa commercialisation. Les étapes du développement d'un médicament (*drug development*) se décomposent en phases pré-cliniques suivies de phases cliniques.

Les étapes pré-cliniques correspondent à la découverte de la molécule et la définition de sa formulation, ainsi qu'à l'évaluation de son activité *in vitro* et *in vivo* chez l'animal. Les objectifs sont de déterminer l'efficacité, les caractéristiques pharmacologiques ainsi que la dose maximale tolérée (DMT) et la dose minimale efficace (DME).

Les étapes cliniques débutent par les essais de Phase I au cours desquels le médicament expérimental est administré pour la première fois à l'Homme, en dose unique. Les essais se font généralement chez des individus sains, sauf pour les anticancéreux, où le médicament est administré à des patients en situation d'impasse thérapeutique. Les essais de Phase I permettent de déterminer la pharmacocinétique, la DMT et de rechercher des toxicités limitantes, afin de proposer une dose pour les essais de Phase II.

Les études de Phase II, elles-mêmes divisées en IIa et IIb, correspondent aux essais d'une ou de plusieurs doses, en administration unique ou répétée du médicament expérimental. L'objectif des essais de Phase IIa est de déterminer si une réponse significative peut être obtenue sur le type de tumeur prédéfini ; celui des études de Phase IIb est de trouver le schéma optimal d'administration.

Pour confirmer l'efficacité thérapeutique du médicament, les essais de Phase III vont comparer le nouveau traitement à celui de référence, et en évaluer le rapport bénéfice / risque. Les essais de Phase III sont au cœur du dossier de demande d'autorisation de mise sur le marché, ou AMM, attribuée par les commissions compétentes : par le FDA aux Etats-Unis, l'EMA en Europe, ou l'Agence Nationale de Sécurité du Médicament (ANSM) en France.

Les études ne s'achèvent pas avec l'AMM, mais se poursuivent tout au long de sa commercialisation. Ainsi, les essais dits de Phase IV sont réalisés dans des conditions proches de la prise en charge habituelle. Ils ont pour objectifs de repérer d'éventuels effets indésirables non détectés avant (pharmacovigilance) et de préciser les conditions d'utilisation pour certains groupes de patients à risque.

Lors de chacune de ces phases, différents types de critères (*endpoints*) sont utilisés afin d'évaluer si le nouveau traitement induit un bénéfice clinique ou non. Nous allons nous intéresser plus particulièrement aux critères des Phases II et III dans les cancers dits solides.

2- EVALUATION DE L'EFFICACITE AU COURS DU DEVELOPPEMENT DU MEDICAMENT EN ONCOLOGIE

En oncologie, les essais cliniques de Phase III s'intéressent à un critère principal pour évaluer l'efficacité clinique, et à un ou plusieurs critères secondaires pour définir l'activité biologique ou le bénéfice pour le patient. Ainsi, trois types de critères peuvent être distingués (Narang & Desai, 2009; Pazdur, 2008) : la réponse tumorale objective (*Objective Response Rate* ou ORR), les critères de temps passé jusqu'à un certain événement (*time-to-event*) et les critères d'évaluation rapportés par le patient (*Patient-Reported Outcomes* ou PROs).

a) Réponse tumorale objective

La réponse tumorale est évaluée à partir des données de lésions tumorales. Celles-ci sont quantifiées de manière unidimensionnelle (diamètre tumoral) ou bidimensionnelle (volume tumoral) par des méthodes d'imagerie (rayons X, tomodensitométrie (ou CT scan pour *Computed Tomography*), IRM...). En général, la somme des plus grands diamètres des lésions cibles est calculée (*sum of the longest dimension or diameter*, ou SLD), puis le type de réponse est catégorisé selon le critère d'évaluation de la réponse tumorale RECIST (*Response Evaluation criteria In Solid Tumors*) (Eisenhauer *et al*, 2009; Therasse *et al*, 2000) :

- réponse complète (*Complete Response*, CR) : disparition de toutes les lésions cibles ;
- réponse partielle (*Partial Response*, PR) : diminution de la taille des lésions cibles d'au moins 30% ;
- maladie stable (*Stable Disease*, SD) : ni réponse, ni progression. Faible changement qui ne satisfait pas les autres critères ;
- progression (*Progressive Disease*, PD) : augmentation de la taille des lésions cibles d'au moins 20%.

Dans certains cancers, l'analyse des marqueurs tumoraux sériques est associée au critère RECIST pour l'évaluation de l'efficacité. Dans les cancers de l'ovaire et de la prostate, le critère de Rustin et les définitions du Groupe de travail sur le PSA sont utilisés en combinaison avec le critère RECIST (Rustin *et al*, 2011; Scher *et al*, 2008).

Lors des essais de Phase II, la réponse tumorale objective, ou ORR, est un critère très utilisé pour évaluer le bénéfice clinique d'un traitement. L'ORR correspond à la proportion de patients chez lesquels une réponse totale ou partielle est observée à un temps donné (Pazdur, 2008). Cette proportion de répondeurs doit être supérieure ou égale à une valeur seuil prédéfinie pour poursuivre ensuite avec les essais de Phase III.

b) Critères de temps jusqu'à un certain évènement

Il existe différents types de critères, dits *time-to-event*, car correspondant à un temps passé jusqu'à un certain évènement :

- Survie globale (*Overall Survival*, ou OS) : elle est définie comme le temps entre la randomisation et le décès, toutes causes confondues. L'OS est le critère de jugement de référence optimal pour évaluer l'efficacité d'un traitement dans les essais de Phase III ; il est, en effet, le plus précis et rend compte du réel bénéfice pour le patient.
- Survie sans maladie (*Disease-Free Survival*, ou DFS) : elle est définie comme le temps entre la randomisation et la rechute ou le décès liés à la progression de la maladie. Ce critère est souvent utilisé dans les essais de Phase III.
- Temps à progression (*Time-To-Progression*, ou TTP) : il est défini comme le temps écoulé entre la randomisation et la progression de la maladie.
- Temps à l'échec du traitement (*Time-to-Treatment Failure*, ou TTF) : il est défini comme le temps entre la randomisation et l'arrêt du traitement, quelle que soit la raison (progression de la maladie, décès, toxicité ou décision du patient). Ce critère est très peu utilisé dans les essais cliniques car pas assez représentatif de l'efficacité d'un traitement.
- Survie sans progression (*Progression-Free Survival*, ou PFS) : elle est définie comme le temps entre la randomisation et la progression tumorale objective ou le décès. C'est un critère couramment utilisé car il est lié à l'OS dans certains cas et nécessite une plus courte période d'observation (Pazdur, 2008).

c) Critères d'évaluation rapportés par le patient

Les critères d'évaluation rapportés par le patient, ou PROs, correspondent à tout signalement sur la qualité de vie du patient, provenant directement de lui-même, sans aucune interprétation par un tiers (Food and Drug Administration, 2009). Ce sont des critères subjectifs, souvent évalués, en complément de la survie, afin de déterminer si l'amélioration de la survie l'emporte sur les inconvénients ou les toxicités.

3- PROBLEMATIQUES DANS LE DEVELOPPEMENT DU MEDICAMENT EN ONCOLOGIE

Le développement des médicaments en oncologie est considéré comme particulièrement inefficace comparé aux autres aires thérapeutiques. En effet, malgré une recherche clinique très active en cancérologie, très peu d'AMM sont délivrées : seulement 5% des molécules de Phase I obtiendront l'autorisation (Kola & Landis, 2004). Les principales raisons de ces échecs reposent sur une méthodologie inadaptée pour le développement du médicament : erreurs dans la prédiction de l'efficacité, temps nécessaire pour évaluer l'efficacité d'un médicament, manque d'utilisation de données disponibles pour la planification des essais suivants...

Dans les essais cliniques, le critère de jugement de référence le plus précis est la survie globale. Elle permet de répondre aux principaux objectifs d'une prise en charge thérapeutique : guérir et/ou prolonger la vie des patients. Cependant, certains inconvénients limitent son utilisation comme critère de jugement principal. En effet, un nombre important de patients devra être inclus et suivi parfois pendant de nombreuses années pour observer les décès et atteindre une puissance statistique suffisante. Par conséquent, le développement de critères mesurables plus précocement est en pleine expansion, dans le but d'accélérer le développement des médicaments et diminuer le coût des études cliniques.

La PFS est un des critères les plus utilisés ; cependant celle-ci reste un critère composite, et n'a pas été validée comme marqueur de substitution de la survie dans tous les cancers, notamment celui de la prostate (Scher *et al*, 2007).

Les mesures de réponses tumorales objectives sont également critiquables. L'ORR n'est pas une mesure directe du bénéfice, il est calculé sur une petite proportion de patients sélectionnés et manque donc de précision.

Par ailleurs, le critère RECIST est obtenu à un certain temps et ne considère pas la cinétique de la taille tumorale. De plus, ce critère détermine la réponse au traitement sur la base de l'évaluation de tumeurs mesurables, applicable seulement aux patients présentant des lésions mesurables ; ce qui exclut son utilisation pour la plupart des

patients atteints de cancers avancés de l’ovaire ou de la prostate. Enfin, le critère RECIST ne considère pas le nombre de métastases.

Les catégorisations de taille tumorale par le critère RECIST, des taux de CA-125 par le critère de Rustin ou des taux de PSA ne permettent pas une évaluation précise de la réponse tumorale. En effet, la catégorisation entraîne une perte de l’information et un manque de précision pour prédire une survie ou une PFS ; il a ainsi été suggéré qu’un critère continu aurait une meilleure valeur prédictive (Karrison *et al*, 2007). Enfin, les variabilités inter- et intra-individuelles des valeurs de tailles tumorales et des concentrations des marqueurs ne sont que rarement prises en compte.

Suite à ces constats, ainsi qu’aux forts taux d’échecs et aux coûts de plus en plus élevés dans le développement du médicament, la FDA a publié un rapport (*Critical path*) encourageant le recours à des travaux de modélisation mathématique et de simulation pour augmenter la productivité, accélérer le développement du médicament ainsi que les prises de décisions (US Food and Drug Administration, 2004).

4- PLACE DE LA MODELISATION DANS LE DEVELOPPEMENT DU MEDICAMENT EN ONCOLOGIE

FDA, 2004: « The concept of model-based drug development, in which pharmaco-statistical models of drug efficacy and safety are developed ... offers an important approach to improving drug development knowledge management and development decision making »

a) *Learn and Confirm Paradigm*

En 1997, Sheiner suggérait que le développement du médicament pouvait être représenté par une succession de phases d’apprentissage et de confirmation ; c’est ce qu’il appelle le paradigme d’apprentissage et de confirmation ou *Learn & Confirm paradigm* (Sheiner, 1997). Les étapes d’apprentissage (*Learn*) ont pour objectif de comprendre, d’émettre des hypothèses sur le nouveau médicament. Les étapes de

confirmation (*Confirm*) ont pour but de tester ces hypothèses. Ainsi, les phases d'apprentissage se concentrent sur l'utilisation du médicament dans une population particulière maximisant le rapport bénéfice / risque ; alors que les phases de confirmation vont avoir pour objectif de démontrer un rapport bénéfice / risque acceptable dans une population plus large.

Les outils permettant ce *Learn & Confirm paradigm* nécessitent le développement de modèles mathématiques PK-PD et l'utilisation de la simulation, ou M&S (*Modeling & Simulation*), qui peuvent être appliquées à chaque étape du développement du médicament. Leurs utilisations auront des objectifs et des intérêts différents à chaque étape du processus, comme résumés sur la figure ci-dessous (Figure 22) (Lalonde *et al*, 2007) :

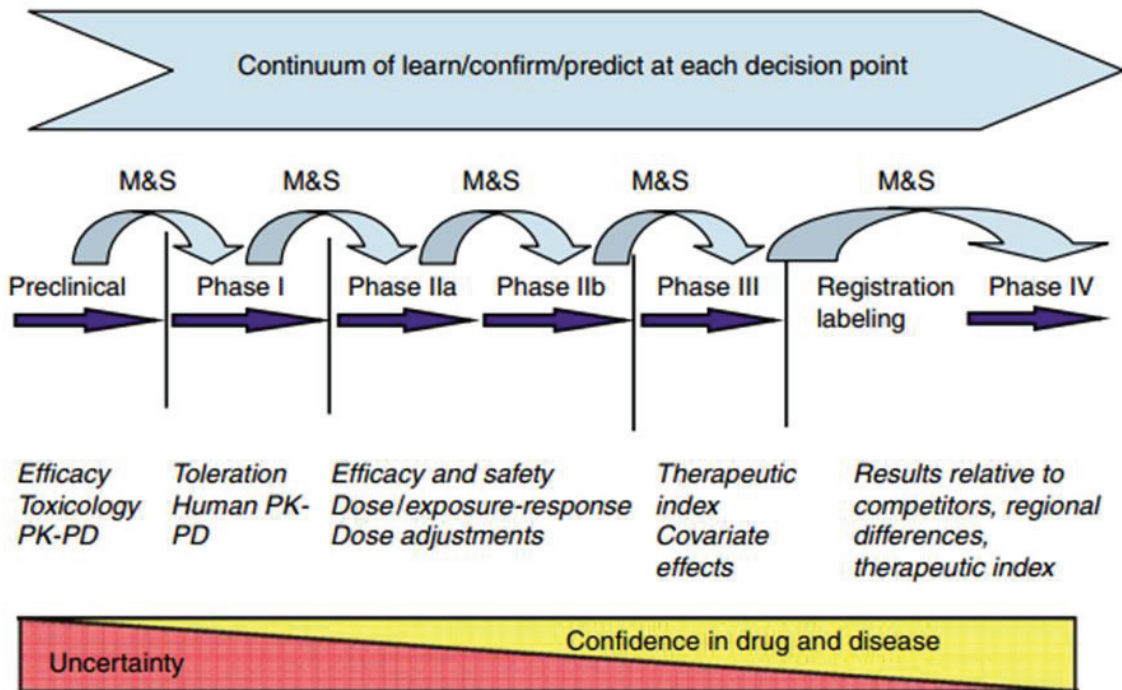


Figure 22 - *Learn & Confirm paradigm* dans le développement du médicament (Lalonde *et al*, 2007).

La construction de modèles consiste à structurer l'information disponible, alors que la simulation consiste à projeter cette information, permettant ainsi d'accélérer le processus de développement du médicament en anticipant les étapes à venir, ou en détectant de façon précoce les meilleurs candidats.

b) Exemple d'application de M&S pour la prédiction de résultats de Phase III à partir de données de Phase II

Depuis quelques années, la mise en pratique des techniques de modélisation et simulation est de plus en plus étudiée, notamment pour prédire la survie attendue dans un essai de Phase III à partir de données d'études précoces.

L'équipe de Claret et al. a développé un modèle PK-PD décrivant l'inhibition de la croissance tumorale (*TGI model*) par la capécitabine, une prodrogue du 5-FU (5-fluorouracile), chez des patients atteints d'un cancer colorectal à partir des données de taille tumorale provenant d'une étude de Phase II (Claret *et al*, 2009). Comme l'avait déjà montré Karrison et al., l'utilisation des données longitudinales de taille tumorale est plus informative que la catégorisation par le critère RECIST afin de prédire le bénéfice clinique (Karrison *et al*, 2007). A partir du modèle construit, ils ont calculé, pour chaque patient, la variation relative de taille tumorale à la 7^{ème} semaine, un biomarqueur censé capturer et quantifier l'effet anti-tumoral de la capécitabine. Enfin, ils l'ont intégré comme principal prédicteur dans un modèle de survie paramétrique. Pour ce faire, ils disposaient des données de survie d'une étude de Phase III réalisée antérieurement et comparant la capécitabine à l'association 5-FU-leucororine.

Ce type de modèle a également permis de démontrer que la variation précoce de taille tumorale était prédictive de la survie dans plusieurs types de cancers, tels que les cancers du sein et du poumon non à petites cellules (Claret *et al*, 2006 ; Wang *et al*, 2009). Ainsi, ces modèles pourraient être utilisés pour prédire le bénéfice de survie attendu pour un traitement en cours de développement. Ils pourraient également simuler les effets d'un bras de traitement afin de mimer un essai clinique, explorer les doses et schémas optimaux, et déterminer ainsi le type d'étude à réaliser en Phase III.

Par ailleurs, de nouvelles métriques ont été récemment explorées. D'après les travaux de Claret et al., le temps à progression, ou TTG (*Time To Growth*), serait le meilleur prédicteur de la survie (Bruno *et al*, 2014). Cependant, en pratique, son utilisation exige de disposer d'informations sur les recroissances tumorales des patientes, alors que le ratio de taille tumorale, par exemple, serait un critère plus robuste et plus précoce.

La pharmacométrie pourrait donc représenter un outil efficace dans le développement du médicament, que ce soit pour aider aux prises de décision en fin de Phase II, ou à la planification et l'exécution d'essais de Phase III (Bender *et al*, 2013).

OBJECTIFS DE LA THESE

Les travaux de cette thèse portent sur la modélisation de la cinétique de marqueurs tumoraux sériques et leurs potentielles applications. Les outils utilisés à cet effet sont les techniques de pharmacométrie par le développement de modèles semi-mécanistiques via l'approche de population.

Les objectifs principaux sont les suivants :

- Caractériser la relation entre concentration de biomarqueur et charge tumorale.
- Quantifier l'impact d'une variation précoce de biomarqueur sur la survie sans progression.
- Evaluer l'intérêt de nouveaux biomarqueurs.

Pour atteindre ces objectifs, cette thèse va s'articuler autour de deux axes principaux :

- 1) Modélisation conjointe des cinétiques de taille tumorale et de CA-125 chez des patientes sous chimiothérapie et en rechute d'un cancer de l'ovaire :
 - Application clinique : Prédiction et prévision de l'évolution de la réponse tumorale à partir de la cinétique du CA-125.
 - Application dans le développement des médicaments : Prédiction de la survie sans progression à attendre à partir de la variation précoce de CA-125 modélisée.
- 2) Modélisation des cinétiques conjointes de CTCs et de PSA en cours de traitement chez des patients atteints d'un cancer de la prostate métastatique : développement d'un modèle original regroupant plusieurs innovations de pharmacométrie.

CHAPITRE II –
MODELISATION DE LA
CINETIQUE DU CA-125
DANS LE CANCER DE
L'OVAIRE

I- RESUME

Dans les cancers de l'ovaire avancés, un gain en termes de survie est le critère principal d'efficacité pour évaluer le bénéfice d'un nouveau traitement ; mais celui-ci nécessite des études cliniques longues avec de larges effectifs, incompatibles avec les essais précoces. Le suivi des profils de décroissance du CA-125 par le critère de Rustin, en complément de l'évaluation de la réponse tumorale par le critère RECIST, est recommandé pour caractériser l'efficacité des traitements (Rustin *et al*, 2011). Cependant, la pertinence de ces critères, basés sur des catégorisations, a été remise en question (Karrison *et al*, 2007; Lee *et al*, 2011). De plus, les métastases sont principalement situées dans la cavité péritonéale, où elles ne sont pas mesurables par imagerie ; la réponse au traitement n'est donc pas évaluable par un critère morphologique tel que le RECIST (Eisenhauer *et al*, 2009).

Il est donc nécessaire de développer des stratégies cliniques fiables pour la prédiction précoce de l'efficacité des traitements dans le cancer de l'ovaire, que ce soit au niveau individuel, en pratique clinique, ou au niveau d'une population, dans un contexte d'essai clinique pour le développement des médicaments.

Dans cette partie, nous proposons d'utiliser une approche de population pour développer un modèle semi-mécanistique permettant d'établir une corrélation entre les cinétiques de taille tumorale et de CA-125 chez des patientes en rechute d'un cancer de l'ovaire. Nous avons ensuite abordé les applications de ce modèle sous deux angles de vue différents : i) application clinique au niveau individuel ; ii) application dans le développement du médicament à l'échelle d'une population. La structure du modèle a ensuite été évaluée sur trois bases de données externes.

Le modèle semi-mécanistique, les étapes de sa construction, l'évaluation ainsi que la première application clinique ont été décrits dans le premier article de cette thèse publié dans *British Journal of Cancer* (Publication I – Page 120) (Wilboux *et al*, 2014b). L'association avec le modèle de survie et son application dans le développement du médicament ont fait l'objet d'une deuxième publication dans *Gynecologic Oncology*

(Publication II – Page 138) (Wilbaux *et al*, 2014a). Enfin, l’évaluation de la structure du modèle de survie sur trois jeux de données indépendants fera l’objet d’un manuscrit en cours de préparation.

1- PATIENTES ET DONNEES

Nous disposons des données de l’essai CALYPSO, une étude randomisée, de non-infériorité, de Phase III (Pujade-Lauraine *et al*, 2010). Cette étude avait pour objectif de comparer le traitement standard carboplatine-paclitaxel (CP) à la combinaison carboplatine-doxorubicine liposomale pégylée (CD) chez des patientes en rechute d’un cancer de l’ovaire, sensibles aux dérivés du platine.

De nombreuses patientes ont été exclues de la base de données initiale, dont 297 d’entre elles en raison de l’absence d’observations de tailles tumorales sur lésions non-mesurables. Les concentrations de CA-125 et les tailles tumorales étaient observées à différents temps pour 535 patientes. La médiane du nombre d’observations disponibles par patiente était de 10 pour le CA-125 et de 4 pour la taille tumorale durant les 500 premiers jours après initiation du traitement. Les patientes recevaient en moyenne 4 à 6 cycles de chimiothérapie environ tous les 28 jours. Afin de rendre symétrique la distribution de ces deux variables, une transformation logarithmique a été appliquée aux données de tailles tumorales, et une transformation de Box-Cox aux données de CA-125 (Box & Cox, 1964). Nous ne disposons pas des données PK, mais uniquement des dates des cycles de chimiothérapie. Enfin, la base de données contenait les temps de survie sans progression (PFS) pour chacune des patientes.

La base de données de 535 patientes a été randomisée en deux (*data-splitting*) :

- jeu de données d’apprentissage (*Learning data set*) : contenant 2/3 des patientes (N=357), utilisée pour la construction du modèle et l’estimation des paramètres ;
- jeu de données de validation (*Validation data set*) : contenant le 1/3 restant des patientes (N=178), utilisée pour une évaluation avancée du modèle.

L'analyse de population a été réalisée avec le logiciel NONMEM 7.2, et l'évaluation du modèle avec les techniques de validation décrites en introduction de cette thèse.

2- MODELE TS-CA

a) Description du modèle

Un modèle K-PD semi-mécanistique a été construit à partir du jeu de données d'apprentissage. Ce modèle permet de relier la dynamique de la tumeur à la cinétique du CA-125, en prenant en compte la cinétique et l'effet du traitement. Pour la suite de la thèse, nous appellerons ce modèle «modèle TS-CA». Le modèle TS-CA a été représenté par la figure suivante (Figure 23) :

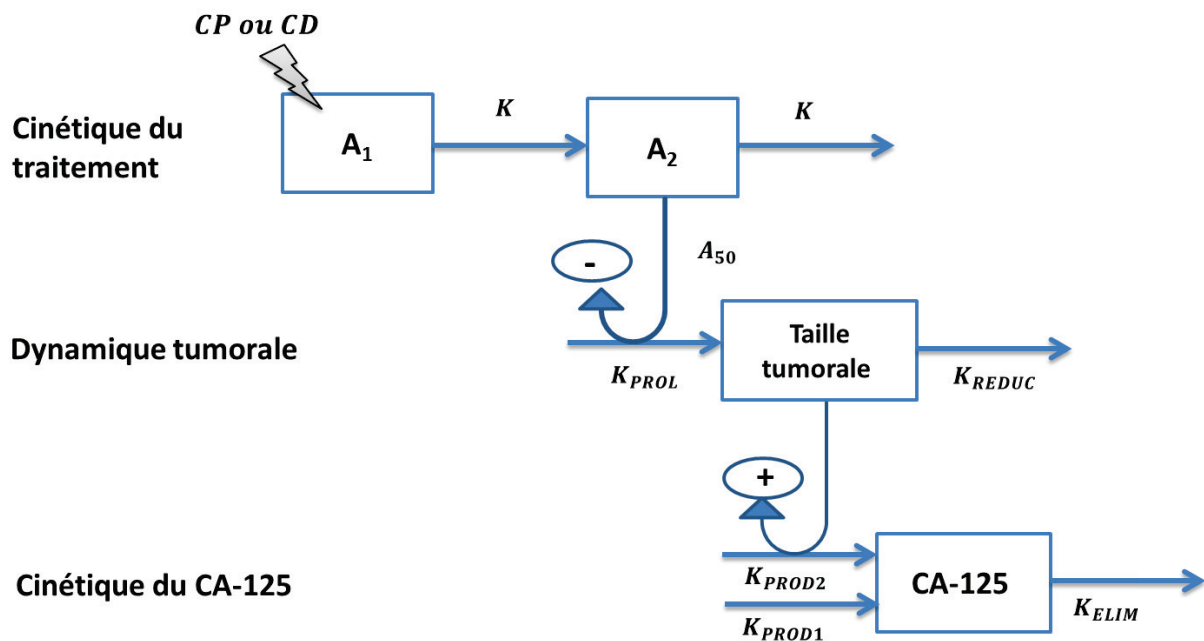


Figure 23 - Modèle TS-CA.

La cinétique du traitement a été décrite par deux compartiments : un compartiment central (A_1) recevant la dose de chimiothérapie, et un compartiment de transit (A_2),

permettant un délai avant l’action du médicament, profil typique des anti-cancéreux. Nous avons supposé un modèle K-PD indirect avec inhibition de la croissance tumorale.

La tumeur, en l’absence de traitement, croît selon une constante d’ordre 0 (K_{PROL}), et décroît selon une constante d’ordre 1 (K_{REDUC}). Pour permettre la croissance tumorale, nous avons émis l’hypothèse que le modèle n’est pas à l’équilibre au temps 0, c’est à dire que $TS_0 < K_{PROL}/K_{REDUC}$.

La cinétique du CA-125 a été décrite par un modèle indirect avec des taux de production et d’élimination. Le CA-125 étant sécrété par les cellules saines et les cellules cancéreuses, deux taux de production ont été pris en compte : K_{PROD1} le taux de production basale par les cellules saines et K_{PROD2} le taux de production d’une tumeur stationnaire.

Les équations du modèle et les conditions initiales sont les suivantes :

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{dA_1}{dt} = -K \times A_1 \\ \frac{dA_2}{dt} = K \times A_1 - K \times A_2 \\ \frac{dTumorSize}{dt} = K_{PROL} \times \left(1 - \frac{A_2}{A_{50} + A_2}\right) - K_{REDUC} \times TumorSize \\ \frac{dCA125}{dt} = K_{PROD1} + K_{PROD2} \times \exp(K2 \times VAR_{TS}) - K_{ELIM} \times CA125 \end{array} \right.$$

$$\left\{ \begin{array}{l} A_1(0) = 0 \\ A_2(0) = 0 \\ TumorSize(0) = TS_0 \text{ avec } TS_0 < \frac{K_{PROL}}{K_{REDUC}} \\ CA125(0) = CA_0 \end{array} \right.$$

A_1 et A_2 représentent les quantités de médicament dans les compartiments central et de transit respectivement (Unité Arbitraire, UA). K caractérise la cinétique d’élimination du traitement (jour^{-1}). A_{50} est la quantité de médicament produisant 50% de l’effet inhibiteur maximal (UA). K_{PROL} (mm.jour^{-1}) et K_{REDUC} (jour^{-1}) correspondent aux taux de croissance et décroissance de la tumeur. K_{PROD1} est le taux de production basal de CA-125 ($\text{U.mL}^{-1}.\text{jour}^{-1}$) et K_{PROD2} le taux de production de CA-125 par une tumeur stationnaire ($\text{U.mL}^{-1}.\text{jour}^{-1}$). $K2$ est un facteur de proportionnalité (jour.mm^{-1}) permettant de relier K_{PROD2} au taux de variation de la taille tumorale, VAR_{TS} (mm.jour^{-1}).

K_{ELIM} est la constante de vitesse d'élimination du CA-125 (jour^{-1}). TS_0 et CA_0 sont les valeurs initiales de la taille tumorale (mm) et du CA-125 (U.mL^{-1}).

Le script NONMEM correspondant à l'implémentation du modèle TS-CA est présenté en Annexe I.

b) Evaluation du modèle

Ce modèle a été validé au niveau interne en combinant les analyses des GOFs, des VPCs et des valeurs des RSEs et des *Shrinkages*.

Il a ensuite été utilisé pour calculer les paramètres individuels à partir du jeu de données de validation. Les graphiques de validation basés sur les simulations (NPDEs et VPCs) ont permis de faire une validation interne avancée des capacités prédictives du modèle TS-CA.

c) Discussion du modèle TS-CA

Les détails concernant les étapes de construction du modèle, les graphiques de validation interne et interne avancée, ainsi que les paramètres estimés ont été décrits dans la première publication (Publication I) (Wilbaux *et al*, 2014b).

Pour ce travail, nous avons arrêté le temps de suivi à 513 jours, correspondant au temps auquel 50% des patientes étaient sorties de l'étude (*dropouts*). En effet, des suivis plus long étaient observés, allant jusqu'à 1200 jours pour certaines patientes. Cependant, du fait de la sélection des patientes suivies le plus longtemps, la prise en compte de tous les temps entraînait un biais dans les VPCs pour les temps tardifs.

Nous avons donc essayé de modéliser ces sorties d'étude dans le modèle (Hu & Sale, 2003). Dans un premier temps, la probabilité de sortie a été modélisée dans NONMEM par un modèle de Weibull. Un modèle aléatoire ainsi que des modèles dépendant des observations de taille tumorale et/ou de CA-125 ont été testés. Enfin, nous avons intégré le meilleur modèle de survie au modèle TS-CA. Une légère amélioration dans les VPCs était observée, mais le biais persistait pour les données de taille tumorale. Ceci peut être

due au fait que les observations de tailles tumorales ne correspondent pas à la charge tumorale totale, mais à la somme des plus grands diamètres, ne prenant pas en compte toutes les métastases. Afin de réduire de potentiels biais, nous avons donc décidé de limiter notre analyse à 513 jours.

3- APPLICATIONS CLINIQUES

Le modèle TS-CA a été utilisé pour la prédiction, au niveau individuel, de l’évolution tumorale sous traitement à partir de la cinétique du CA-125. Pour cela, nous avons utilisé les données du jeu de validation jusqu’à 200 jours, correspondant à 9 cycles de chimiothérapie. Nous avons estimé les paramètres individuels du modèle TS-CA par la méthode bayésienne.

Deux situations cliniques ont été distinguées : i) suivi (*monitoring*) de la réponse tumorale au traitement ; ii) prévision (*forecast*) de la réponse tumorale au traitement.

a) Suivi de la réponse tumorale au traitement

Dans ce cas, nous avons retenu, pour chaque individu, uniquement la première observation de taille tumorale, et toutes les observations de CA-125. Le modèle a ensuite été appliqué pour estimer les paramètres individuels et prédire les profils individuels de réponse tumorale jusqu’à 200 jours, comme illustré sur la figure ci-dessous (Figure 24) :



Figure 24 - Suivi de la réponse tumorale au traitement.

Le modèle est ainsi capable de suivre la réponse de la taille tumorale au traitement à partir des données cinétiques du CA-125. Cette application a été décrite dans la Publication I (Wilbaux *et al*, 2014b).

b) Prédiction de la réponse tumorale au traitement

Nous avons retenu, pour chaque patiente, toutes les observations de tailles tumorales et de CA-125 jusqu'au 3^{ème} cycle de chimiothérapie pour estimer les paramètres individuels du modèle. Le modèle a ensuite été appliqué pour prévoir les profils individuels de réponse tumorale après le 3^{ème} cycle, jusqu'à 200 jours, comme schématisé sur la figure ci-dessous (Figure 25) :

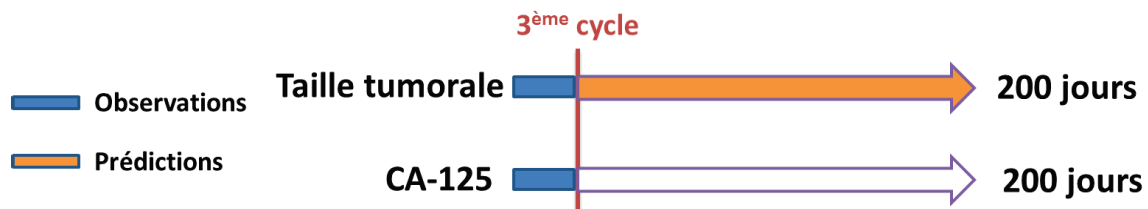


Figure 25 - Prédiction de la réponse tumorale au traitement.

Le modèle TS-CA a donc pu être utilisé pour prévoir de façon précoce la réponse au traitement jusqu'à 200 jours à partir des observations de CA-125 et de taille tumorale lors des trois premiers cycles de chimiothérapie.

Pour ces deux applications, les prédictions ont été comparées graphiquement aux observations, et les performances des prédictions ont été évaluées avec le critère d'erreur moyenne ou MPE (*Mean Prediction Error*), caractérisant le biais, et le critère d'erreur absolue moyenne ou MAE (*Mean Absolute prediction Error*), estimant la précision. Ceux-ci sont résumés dans le tableau ci-dessous (Tableau VII) :

Situation clinique	Biais : MPE	Précision : MAE
1- Suivi	0.3 %	10.6 %
2- Prévision	1.3 %	11.6 %

Tableau VII : Performance des prédictions de réponses tumorales.

c) Prédiction de la réponse tumorale latente

Le modèle TS-CA a également été appliqué aux 297 patientes présentant des tumeurs non-mesurables. Il a permis de prédire la réponse tumorale dite latente, car non-observée, sous traitement, à partir de la cinétique du CA-125 (Publication I). Cependant ces prédictions n’ont pas pu être confrontées à des observations.

Le modèle TS-CA semble pouvoir prédire de façon satisfaisante (biais limité et précision correcte) la réponse tumorale à la chimiothérapie à partir de la cinétique du CA-125. Nous avons distingué deux potentielles applications cliniques : i) la prédiction de la réponse tumorale pendant traitement à partir des mesures de CA-125 et de la première valeur de taille tumorale ; ii) la prévision précoce de l’évolution tumorale pendant traitement à partir des observations de CA-125 et de taille tumorale durant les trois premiers cycles.

Ces résultats pourraient avoir un impact clinique considérable pour le suivi des patientes atteintes d’un cancer de l’ovaire, notamment pour guider les prises de décisions chirurgicales en fonction de la réponse tumorale à la chimiothérapie. En effet, l’application de ce modèle pourrait être importante dans les situations où l’imagerie est limitée : pour les tumeurs non-mesurables (métastases dans la cavité péritonéale ou osseuses), ou dans les pays avec peu de ressources, un dosage de CA-125 étant moins cher qu’un scanner. Cet outil simple prend toute sa valeur à l’heure où l’approche individualisée est de plus en plus appliquée.

4-APPLICATIONS DANS LE DEVELOPPEMENT DU MEDICAMENT

a) Méthode

Basée sur la méthodologie de Claret et al., évoquée en introduction, nous avons associé le modèle TS-CA à un modèle de survie paramétrique, afin de quantifier le lien entre la variation précoce de CA-125 modélisée et la survie sans progression, ou PFS (Claret *et al*, 2009). Ce travail a fait l'objet d'une deuxième publication (Publication II) (Wilbaux *et al*, 2014a).

Dans un premier temps, le modèle TS-CA a été utilisé pour calculer les valeurs de CA-125 à des temps donnés pour toutes les patientes, en particulier pour prédire les variations relatives de CA-125 du temps 0 à la semaine 6 (ΔCA_{125}) après initiation du traitement, selon la formule suivante :

$$\Delta CA_{125} = \frac{CA_0 - CA_{Week6}}{CA_0}$$

CA_0 correspond à la concentration de CA-125 prédite au temps 0, c'est-à-dire à l'initiation du traitement, et CA_{Week6} à la concentration de CA-125 prédite à la semaine 6.

Nous avons utilisé le modèle TS-CA car nous ne disposons pas d'observation de CA-125 à la 6^{ème} semaine pour toutes les patientes.

Un modèle de survie paramétrique a ensuite été construit, pour relier les ΔCA_{125} à la PFS. Ce modèle est dit paramétrique car les temps de PFS sont supposés suivre une distribution connue. La distribution la plus appropriée s'est révélée être la distribution log-logistique. Les paramètres du modèle de survie ont été estimés dans le logiciel R, qui prédit le logarithme des temps de PFS ($\log(T)$), selon la formule suivante :

$$\log(T) = \mu + \sigma \times \log\left(\frac{1 - S(t)}{S(t)}\right) + \alpha_X \times X$$

μ correspond au logarithme de la médiane de survie sans progression lorsque la covariable X vaut zéro (*intercept*). σ est lié à la variation de la pente de la courbe de PFS, et peut être assimilable à un paramètre de sigmoïdité. α_X est le taux de variation du temps de PFS (en fait de $\log T$) par unité de covariable X. Enfin, $S(t)$ est la fonction de survie de la distribution à déterminer.

Différentes covariables, dont le $\Delta CA125$, ont, dans un premier temps, été testées en analyse univariée dans des modèles de Kaplan-Meier et de Cox. Les covariables significatives ont ensuite été testées dans le modèle paramétrique selon une approche d’inclusion (*forward*) – exclusion (*backward*).

b) Résultats

D’après les observations, les données de PFS suivent une distribution log-logistique, dont la fonction de survie est la suivante :

$$S(t) = \frac{1}{1 + (\lambda \times t)^\alpha}$$

λ correspond au paramètre d’échelle (*scale*) ; α est le paramètre de « forme » (*shape*).

Les liens avec la formule précédente sont les suivants :

$$\log(T) = -\log(\lambda) + \frac{1}{\alpha} \times \log\left(\frac{1 - S(t)}{S(t)}\right) + \alpha_{\Delta CA125} \times \Delta CA125$$

$$\mu = -\log(\lambda)$$

$$\sigma = \frac{1}{\alpha}$$

Parmi toutes les covariables testées, seul $\Delta CA125$ est resté significatif dans le modèle de survie paramétrique. D’après les paramètres estimés du modèle, une augmentation de 0,1 unité de $\Delta CA125$ (CA-125 transformé en Box-Cox) est associée à une augmentation du temps de survie sans progression de 9,2%. Des évaluations interne et interne avancée (sur le jeu de validation) ont permis de valider la capacité prédictive du modèle (Publication II) (Holford, 2013).

Nous avons également construit un modèle incluant uniquement la variation relative de taille tumorale modélisée à la semaine 6 (ΔTS). Nous avons ainsi pu montrer que $\Delta CA125$ était un meilleur prédicteur de la PFS que ΔTS .

Enfin, nous avons réalisé des courbes caractéristiques de performance, ou ROC (*Receiver Operating Characteristics*), dont l'objectif est d'évaluer et de comparer les performances prédictives de plusieurs modèles. Pour cela, l'idée est de se placer à un temps précis et d'analyser la proportion de patientes en rechute selon différentes valeurs de seuil du $\Delta CA125$. La courbe ROC correspond ensuite au tracé des valeurs de sensibilité en fonction des valeurs 1-spécificité pour chaque valeur seuil de $\Delta CA125$. L'aire sous la courbe ROC (ou AUC pour *Area Under the Curve*) est ensuite utilisée comme index pour résumer cette courbe. L'AUC correspond plus précisément à la probabilité qu'une patiente n'ayant pas rechutée au temps t ait une valeur de $\Delta CA125$ plus élevée qu'une patiente ayant rechutée avant t . La valeur de l'AUC est comprise entre 0,5 et 1, une AUC de 0,5 correspondant à un test classant au hasard les individus, et une AUC de 1 à un test parfaitement discriminant. L'AUC correspond donc à un index quantitatif de la capacité discriminante du modèle

Dans notre cas, les données de PFS sont sous forme de variables binaires dépendantes du temps. Ainsi, les données de sensibilité et spécificité sont, elles aussi, dépendantes du temps. Dans ce cas, la solution est de calculer l'AUC des courbes ROC à chaque temps, puis de les représenter sur un graphique (Heagerty & Zheng, 2005). Nous avons réalisé ce graphique afin de comparer les performances prédictive de ΔTS et $\Delta CA125$ (Figure 26) :

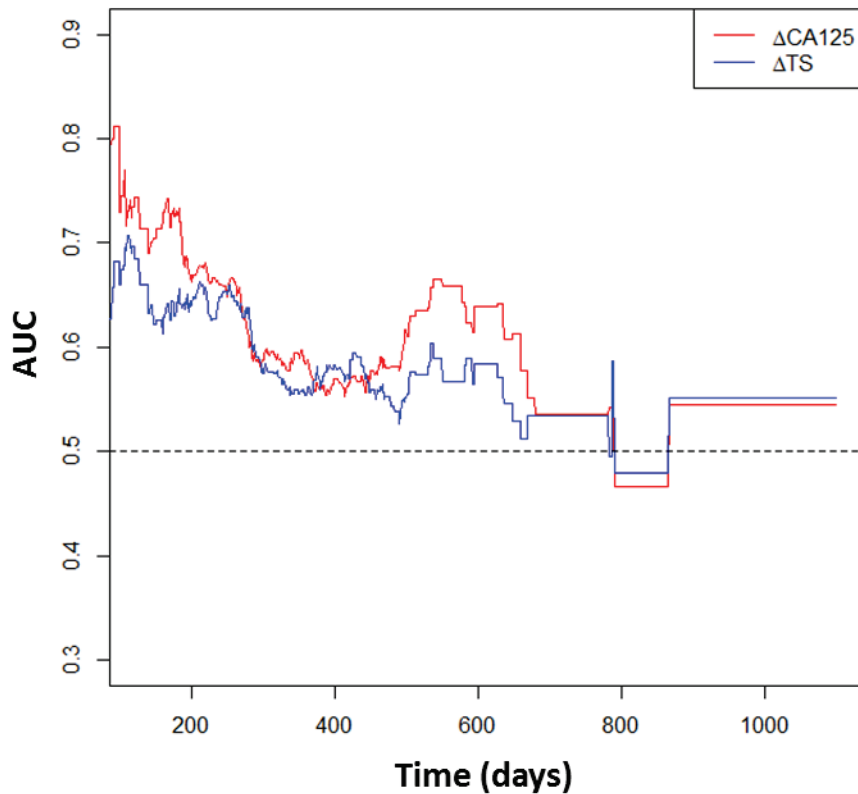


Figure 26 - AUC des courbes ROC en fonction du temps.

D’après la Figure 26, la courbe d’AUC du modèle contenant ΔCA125 est au-dessus de la courbe contenant ΔTS pour la plupart des temps. Ainsi, cette observation permet d’appuyer l’hypothèse que ΔCA125 serait un meilleur prédicteur de la PFS que ΔTS .

Cependant, les valeurs d’AUC, index quantitatif de la capacité discriminante du modèle, sont comprises entre 0,55 et 0,8, indiquant une performance assez moyenne. Ainsi, l’utilisation du modèle de PFS pour prédire un risque de rechute à l’échelle individuelle reste assez limitée. Ce modèle peut difficilement être appliqué pour prédire la PFS d’une patiente à partir de sa valeur individuelle de ΔCA125 , mais reste satisfaisant pour évaluer la PFS au niveau d’une population.

c) Applications

Comme expliqué dans la deuxième publication, la principale utilité de ce modèle est la prédiction de la médiane de PFS attendue dans une population de patientes en rechute

d'un cancer de l'ovaire, à partir de leurs variations précoces de CA-125 (Publication II) (Wilboux *et al*, 2014a). Ainsi, dans un contexte de développement du médicament, il serait possible de prédire la PFS, et donc d'évaluer l'utilité clinique potentielle et de sélectionner les meilleurs candidats de façon précoce, dès la Phase II ou en début de Phase III.

Inversement, le modèle peut être utilisé pour la prédiction de la variation de Δ CA125 nécessaire pour observer un bénéfice de PFS prédéfini. Ce type d'application pourrait être particulièrement utile pour la comparaison de stratégies thérapeutiques. En effet, il pourrait être possible de prévoir la médiane de Δ CA125 à atteindre dans une population recevant un nouveau traitement pour observer par exemple une amélioration de 50% de la PFS par rapport à un traitement de référence (Publication II).

En conclusion, le Δ CA125 paraît être un outil de prédiction précoce de l'efficacité thérapeutique dans une population de patientes en rechute d'un cancer de l'ovaire comme une aide à la décision dans le développement du médicament et les essais cliniques.

5- VERIFICATION DU CARACTERE GENERIQUE DU MODELE DE PFS

La structure du modèle de PFS a été évaluée, de façon externe, sur des bases de données indépendantes de l'essai CALYPSO.

a) Données

Nous disposons des bases de données du groupe AGO-OVAR (*Arbeitsgemeinschaft Gynaekologische Onkologie - OVARIAN cancer study group*), pour trois essais de Phase III chez 4 332 patientes en 1^{ère} ligne d'un cancer de l'ovaire avancé :

- AGO-OVAR 5 : intérêt de l’addition de l’épirubicine à la combinaison carboplatine-paclitaxel (CP) (du Bois *et al*, 2006) ;
- AGO-OVAR 7 : intérêt de l’addition du topotecan suite à la combinaison CP (administration à la fin des 6 cycles) (Pfisterer *et al*, 2006b) ;
- AGO-OVAR 9 : intérêt de l’addition de la gemcitabine administrée aux jours 1 et 8 à la combinaison CP (du Bois *et al*, 2010).

Dans ces trois études, l’addition d’un autre anticancéreux à la combinaison standard CP en 1^{ère} ligne n’offrait pas de bénéfice en termes de survie globale (du Bois *et al*, 2010; du Bois *et al*, 2006; Pfisterer *et al*, 2006a). De plus, dans l’étude AGO-OVAR 9, le groupe traité par CP et gemcitabine avait une PFS inférieure au groupe contrôle (17,8 mois versus 19,3 mois, p=0,0044).

Les patientes avec des données manquantes de taille tumorale, de CA-125 ou d’informations sur les cycles de chimiothérapie ont été exclues. Au total, les données de 804 patientes étaient disponibles pour notre analyse : 169 patientes dans l’essai AGO-OVAR 5, 200 patientes dans l’essai AGO-OVAR 7 et 435 patientes dans l’essai AGO-OVAR 9.

Les caractéristiques des patientes des essais AGO-OVAR étaient différentes de celles de l’essai CALYPSO. En effet, les patientes de l’essai CALYPSO étaient traitées pour une rechute de cancer de l’ovaire par une 2^{ème} ligne ou plus de chimiothérapie. Les patientes des essais AGO-OVAR étaient traitées par une 1^{ère} ligne de chimiothérapie pour un cancer de l’ovaire avancé. Le tableau ci-dessous résume les principales différences entre les deux populations de patientes (Tableau VIII) :

Caractéristiques / Etude	CALYPSO	AGO-OVAR
Type de cancer	Cancer de l’ovaire récurrent platine-sensible	Cancer de l’ovaire avancé
Ligne chimio	2 ^{ème} ligne et plus	1 ^{ère} ligne
PFS (jours)	310 [59 - 975]	364 [43 - 3055]
ΔCA125	0,15 [-0,13 - 0,60]	0,17 [-0,55 - 0,72]

Tableau VIII : Différences entre les populations des essais CALYPSO et AGO-OVAR.

b) Méthodes et Résultats

Les observations de CA-125 n'étant pas disponibles à la semaine 6 pour toutes les patientes, le modèle TS-CA avec les distributions des paramètres fixées aux valeurs estimées sur les données de l'essai CALYPSO, a été appliqué aux données AGO-OVAR. Les données étaient correctement prédites jusqu'à 150 jours, comme le montrent les graphiques des prédictions individuelles en fonction des observations ainsi que les VPCs suivants (Figure 27) :

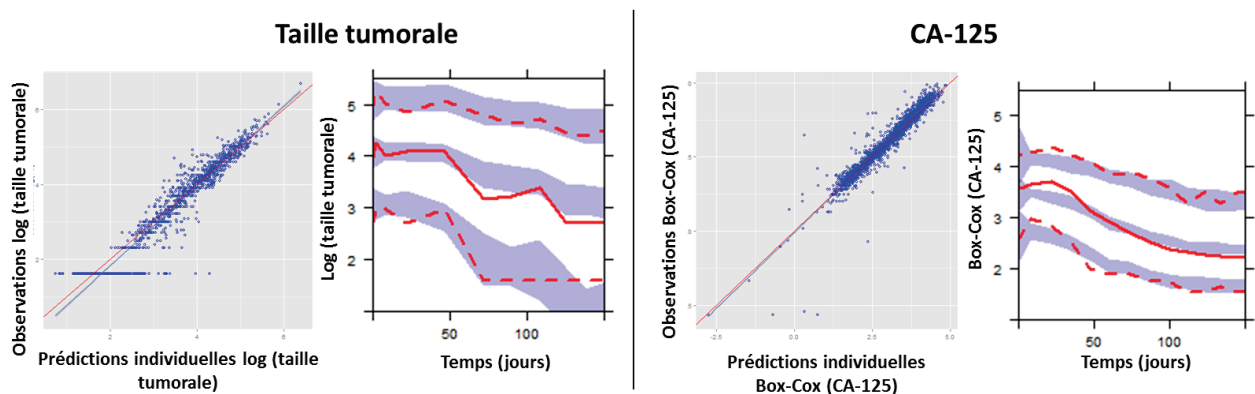


Figure 27 - Graphiques de validation du modèle TS-CA sur les données AGO-OVAR.

Un biais était observé pour les temps plus tardif, sûrement dû aux différences entre les caractéristiques des deux populations. Cependant, l'objectif étant d'évaluer la validité externe du modèle de PFS, le modèle TS-CA n'a été utilisé que pour prédire les Δ CA125 (du temps 0 à la semaine 6). Une bonne adéquation du modèle aux données jusqu'à 150 jours étant donc suffisante.

Le modèle paramétrique reliant Δ CA125 à la PFS a ensuite été appliqué aux données AGO-OVAR. L'évaluation externe du modèle de survie, avec les paramètres estimés dans CALYPSO, n'a pas été concluante. Ceci peut être dû aux fortes différences entre les populations. Nous avons donc ré-estimé les paramètres du modèle de PFS à partir des bases de données AGO-OVAR 5 et 7, et validé de façon externe sur la base de données AGO-OVAR 9.

Les paramètres estimés sont résumés dans le Tableau IX :

Paramètre	Estimation	RSE (%)	Time Ratio	p-value (test de Wald)
μ	5.321	2	/	/
$\alpha_{\Delta CA125}$	3.063	15	21.4	< 0,001
σ	0.501	5	/	/

Tableau IX : Paramètres estimés sur AGO-OVAR 5 et 7.

Le modèle prédit qu’une augmentation de 0,1 unité de $\Delta CA125$ augmente la PFS médiane de 36 %.

Le nouveau modèle de PFS, ajusté aux données AGO-OVAR, a ensuite été validé de façon interne et externe, comme le montre les VPCs suivants (Figure 28) :

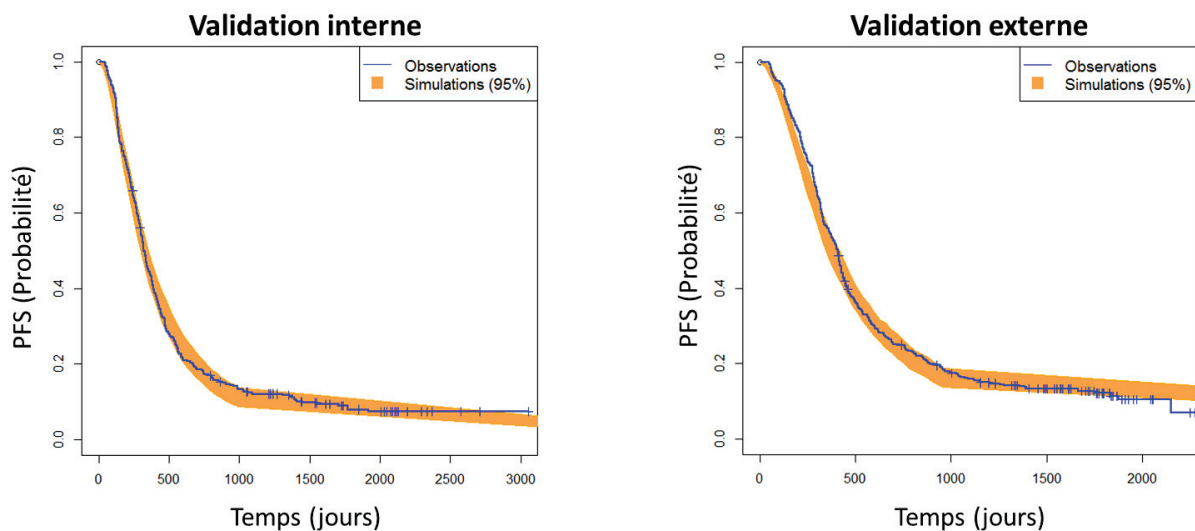


Figure 28 - Validations interne et externe du modèle de PFS ajusté aux données AGO-OVAR.

Enfin, à partir des $\Delta CA125$, le modèle a conduit à la prédiction d’une plus faible PFS médiane dans le groupe expérimental d’AGO-OVAR 9, traité par la combinaison CP-gemcitabine, comme cela avait été observé (du Bois *et al*, 2010). En effet, nous avons pu prédire une PFS relative (médiane PFS groupe expérimental/médiane PFS groupe contrôle) de 0,970 ; en accord avec la PFS relative observée dans nos données (égale à 0,966).

c) Discussion et conclusion

La structure du modèle reliant Δ CA125 et PFS permet de s'adapter à des populations de patientes atteintes d'un cancer de l'ovaire avancé ou en rechute, traitées par des combinaisons de chimiothérapies différentes. Cependant, étant données les fortes différences dans les caractéristiques des patientes et les distributions de PFS entre CALYPSO et AGO-OVAR, les paramètres du modèle ont dû être ré-estimés. La performance prédictive du modèle ajusté a été validée de façon interne et externe. Enfin, nous avons vu que le modèle aurait pu être utilisé pour prévoir de façon précoce l'échec de l'ajout de gemcitabine à la combinaison CP dans l'essai AGO-OVAR 9.

En pratique, il suffirait de disposer des données individuelles de CA-125 durant les 6 premières semaines de traitement pour pouvoir appliquer le modèle et prédire une médiane de PFS, ou un rapport des médianes entre deux groupes testés. Ainsi, ces résultats nous confortent dans l'idée que le Δ CA125 paraît être un outil de prédiction précoce pour l'aide à la prise de décision dans le développement du médicament.

Cependant ce travail présente quelques inconvénients. Les populations de patientes des trois études AGO-OVAR ont des caractéristiques différentes et sont assez hétérogènes entre elles, avec de fortes disparités dans les distributions des PFS, des Δ CA125, des statuts de performance ECOG (*Eastern Cooperative Oncology Group*)... (Annexe II). Les patientes des essais AGO-OVAR 5 et 7 paraissent similaires, alors que celles d'AGO-OVAR 9 paraissent très différentes de celles des deux autres études. Nous avons également exploré d'autres combinaisons pour estimer et valider le modèle, certaines donnant des résultats très mauvais, notamment l'estimation sur AGO-OVAR 5 et 9 suivie de la validation externe sur AGO-OVAR 7. Enfin, nous avons également essayé de prédire les effets de l'addition de l'épirubicine ou du topotecan au standard CP dans AGO-OVAR 5 et 7. Le modèle ne prédisait aucune différence en termes de PFS dans chaque essai, comme reportée dans les résultats des deux études. Cependant, la prédiction dans AGO-OVAR 5 n'était pas précise (PFS relative : observée=1,27 ; Prédite=1,01). Concernant AGO-OVAR 7, le topotecan était administré après les 6 cycles de CP, soit après les 6 semaines utilisées pour le calcul du Δ CA125 ; dans ce cas, le Δ CA125 est incapable de capter une différence entre les deux bras.

6- DISCUSSION ET CONCLUSION

Dans le cancer de l’ovaire, le choix de la stratégie thérapeutique la plus adaptée nécessite une évaluation appropriée de l’évolution de la maladie sous traitement.

En utilisant un modèle K-PD semi-mécanistique, il a été possible d’établir les relations entre cinétiques du CA-125 et variations de taille tumorale induites par la chimiothérapie chez des patientes atteintes d’un cancer de l’ovaire récurrent. Ce modèle présente cependant quelques limites ; c’est un modèle semi-mécanistique très simplifié, avec une description de l’évolution tumorale réduite, ne prenant pas en compte l’aspect spatial. De plus, l’essai CALYPSO est une étude multicentrique, les mesures de CA-125 et de tailles tumorales ont donc été réalisées par des tests différents, ce qui augmente les variabilités inter- et intra-individuelles.

Malgré ceci, la preuve d’une relation directe entre la cinétique du CA-125 et les variations de charge tumorale peut avoir des conséquences importantes en clinique en termes de décision thérapeutique chez des patientes atteintes d’un cancer récurrent de l’ovaire. Nous avons vu que le modèle était capable de prédire la réponse tumorale induite par la chimiothérapie, à partir de la cinétique du CA-125. Ainsi, il est possible de suivre, pour un patient donné, l’évolution de la taille tumorale, en utilisant les mesures longitudinales de CA-125 et une évaluation de la taille tumorale à l’initiation de la chimiothérapie. Il est également possible d’établir une prévision de la réponse tumorale jusqu’à 200 jours à partir des observations de CA-125 et d’imagerie jusqu’au 3^{ème} cycle de chimiothérapie.

De tels résultats permettraient de compenser certaines limitations de l’imagerie, en cas de tumeur non évaluable (métastases péritonéales) ou encore dans le cas où les techniques d’imagerie ne sont pas disponibles. De façon pratique, la prédiction des variations de taille tumorale peut être un outil utile à l’évaluation de la résecabilité des lésions résiduelles par chirurgie après 3 ou 6 cycles de chimiothérapie.

Pour aller plus loin, nous avons évalué le lien entre variation de CA-125 modélisé et PFS chez des patientes en rechute d'un cancer de l'ovaire. Cette stratégie visait des applications dans le développement du médicament comme outil d'aide à la décision, afin de faciliter le développement d'un médicament pour la sélection des meilleurs candidats.

Nous avons montré qu'il était possible de prédire une distribution de PFS sur la base des données individuelles de variations de CA-125 de l'initiation du traitement jusqu'à 6 semaines (Δ CA125), dans une population de patientes en rechute d'un cancer de l'ovaire. Dans notre étude, nous avons également montré que le Δ CA125 était un meilleur prédicteur de PFS que la variation relative de taille tumorale, ce qui ouvre des perspectives intéressantes car les prélèvements sanguins sont moins coûteux et plus faciles à exécuter que l'imagerie. La performance du modèle basé sur le CA-125 a été évaluée de façon interne et interne avancée (*data-splitting*). Le Δ CA125 paraît ainsi être un outil de prédiction précoce utile dans le développement du médicament afin de réduire les temps de suivi de chaque patiente, et par conséquent les coûts, pour arriver à des conclusions plus rapidement comparée à une étude conventionnelle basée sur la PFS.

L'utilisation du CA-125 par le critère de Rustin, a récemment été remis en question par Lee et al., qui ont démontré que celui-ci n'était pas un critère de substitution de la PFS (Lee *et al*, 2011). Nous confirmons le manque de précision de l'approche de Lee et al. : ils ont inclus le CA-125 dans un modèle semi-paramétrique de Cox en tant que critère binaire, alors que nous l'avons considéré comme une variable continue dans un modèle paramétrique, permettant ainsi une plus grande puissance. Par ailleurs, dans un modèle de Cox, aucune survie de base n'est estimée, rendant ce type de modèle inapproprié pour des simulations ; alors qu'un modèle paramétrique, estimant une survie basale, peut être utilisé pour des simulations de nouveaux essais cliniques.

Cependant, notre modèle présente également quelques limites, comme l'absence de prise en compte de l'incertitude sur les valeurs de CA-125. Il serait ainsi intéressant d'analyser à partir de quelles variations de CA-125 le modèle n'est plus applicable.

Pour ces deux applications, les données de l'essai CALYPSO utilisées correspondent à une étude rétrospective non planifiée. Nos résultats sont donc liés à la population de

patientes considérée : des patientes en rechute d’un cancer de l’ovaire recevant leur deuxième (ou plus) ligne de chimiothérapie (CP ou CD).

Dans un dernier temps, nous avons donc évalué les modèles TS-CA et de PFS sur une population de patientes externe à l’essai CALYPSO. Nous avons utilisé les données des essais AGO-OVAR 5, 7 et 9, évaluant l’addition d’un troisième médicament au traitement de référence carboplatine-paclitaxel, chez des patientes atteintes d’un cancer de l’ovaire avancé et recevant une 1^{ère} ligne de chimiothérapie. Le modèle TS-CA a été validé jusqu’à 150 jours sur cette population de patientes. Etant données les différences entre ces deux populations, le modèle de PFS a dû être ajusté, en ré-estimant les paramètres. Sa performance prédictive a été validée de façon interne et externe. Enfin, nous avons vu que le modèle aurait pu être utilisé pour prévoir de façon précoce l’échec du groupe expérimental dans AGO-OVAR 9.

En conclusion, la modélisation des profils cinétiques du CA-125, via l’approche de population, pour évaluer l’efficacité thérapeutique présente des applications importantes au niveau clinique, à l’échelle d’une patiente, mais également au niveau du développement du médicament, à l’échelle d’une population. Malgré la complexité de ces modèles mathématiques, il est possible de les implémenter dans un logiciel et de créer un site internet ou une application, permettant leur utilisation par des cliniciens ou des personnes ne connaissant pas la modélisation. Ainsi, la réponse tumorale d’une patiente ou la PFS d’une population pourraient être prédites de façon précoce en entrant dans le logiciel les concentrations de CA-125.

II- PUBLICATION I : PREDICTION DE L'EVOLUTION DE LA REPOSE TUMORALE A PARTIR DU CA-125

**Prediction of tumour response induced by chemotherapy using
modelling of CA-125 kinetics in recurrent ovarian cancer patients**

Mélanie Wilbaux, Emilie Hénin, Amit Oza, Olivier Colombar, Eric Pujade-Lauraine, Gilles Freyer, Michel Tod and Benoit You

British Journal of Cancer, 2014; 110: 1517-24.

Keywords: CA-125 kinetics; ovarian epithelial cancer; mathematical modelling; K–PD modelling; tumour size prediction

Prediction of tumour response induced by chemotherapy using modelling of CA-125 kinetics in recurrent ovarian cancer patients

M Wilbaux^{*1}, E Hénin¹, A Oza², O Colombari¹, E Pujade-Lauraine³, G Freyer^{1,4}, M Tod¹ and B You^{1,4}

¹EMR 3738, Ciblage Thérapeutique en Oncologie, Faculté de Médecine et de Maïeutique Lyon-Sud Charles Mérieux, Université Claude Bernard Lyon 1, 69600 Oullins, France; ²Department of Medical Oncology and Hematology, Princess Margaret Hospital, University Health Network, Toronto, Ontario M5T2M9, Canada; ³Hôpital Hôtel Dieu, Place du Parvis Notre-Dame, 75004 Paris, France and ⁴Service d’Oncologie Médicale, Investigational Center for Treatments in Oncology and Hematology of Lyon, Centre Hospitalier Lyon-Sud, Hospices Civils de Lyon, F-69310 Pierre-Bénite, France

Background: The main objective of the present study was to establish the relationships between CA-125 kinetics and tumour size changes during treatment.

Methods: The data from the CALYPSO-randomised phase III trial, comparing two platinum-based regimens in recurrent ovarian cancer (ROC) patients, was randomly split into a ‘learning data set’ to estimate model parameters and a ‘validation data set’ to validate model performances. A kinetic–pharmacodynamic semi-mechanistic model was built to describe tumour size and CA-125 kinetics during chemotherapy. The ability of the model to predict tumour response induced by chemotherapy, based on CA-125 values, was assessed.

Results: Data from 535 ROC patients were used to model CA-125 kinetics and tumour size changes during the first 513 days after treatment initiation. Using the validated model, we could predict with accuracy the tumour size changes induced by chemotherapy based on the baseline imaging assessment and longitudinal CA-125 values (mean prediction error: 0.3%, mean absolute prediction error: 10.6%).

Conclusions: Using a semi-mechanistic model, the dynamic relationships between tumour size changes and CA-125 kinetics induced by chemotherapy were established in ROC patients. A modelling approach allowed CA-125 to be assessed as a biomarker for tumour size dynamics, to predict treatment efficacy for research and clinical purposes.

Worldwide, ovarian cancer is the leading cause of death among all invasive cancers of the female gynaecological system (Jemal *et al*, 2011). The asymptomatic features of early-stage disease lead to frequent diagnosis at later stages in most patients, thereby contributing to the poor prognosis of this cancer. Metastases, mainly located in the peritoneal cavity, are found in 61% of patients

at diagnosis, and the 5-year survival is less than 30% (Lengyel, 2010; Howlader *et al*, 2012). CA-125 is the serum marker established for the post-treatment follow-up of ovarian cancer patients. It is secreted by tumour cells and healthy normal cells into the plasma.

Strategies combining platinum-based chemotherapies, meant to reduce tumour burden, and interval debulking surgeries in cases of

*Correspondence: M Wilbaux; E-mail: melanie.wilbaux@gmail.com

Presentations during congress: This study was presented during a poster session at the 20th annual Population Approach Group in Europe (PAGE) meeting: Wilbaux M, You B, Tod M *et al*: Population K–PD modelling of CA-125 and tumour size kinetics in relapsed ovarian cancer patients: PAGE2011 Abstr 2200 (www.page-meeting.org/?abstract=2200). It was also presented as an oral communication at the 21st annual Population Approach Group in Europe (PAGE) meeting: Wilbaux M, You B, Tod M *et al*: Population K–PD joint modeling of tumour size and CA-125 kinetics after chemotherapy in relapsed ovarian cancer (ROC) patients: PAGE 2012 Abstr 2587 (www.page-meeting.org/?abstract=2587).

Received 13 November 2013; revised 15 January 2014; accepted 16 January 2014; published online 20 February 2014

© 2014 Cancer Research UK. All rights reserved 0007–0920/14

peritoneal carcinomatosis, have been developed to cure patients, or at least to slow down disease progression (Vergote *et al.*, 2010). Such approaches require proper evaluation of the disease extent before and during treatment to estimate the potential benefit of surgery. However, due to the microinfiltrative feature of peritoneal carcinomatosis, the disease is not measurable by imaging in many patients with advanced ovarian cancers. Therefore, tumour response cannot be frequently assessed using Response Evaluation Criteria in Solid Tumors, and strategies are still being developed to help characterise tumour size changes easily during treatment (Rustin *et al.*, 2004). Moreover, imaging tests, such as CT scanner and MRI, are not available in all parts of the world. Assessment of tumour response to chemotherapy based on CA-125 kinetics would be cheap and helpful in low-resource countries.

Monitoring of the declining profile of CA-125 during chemotherapy has been extensively investigated as a way of predicting treatment efficacy. However, numerous studies reported inconsistent outcomes for the prognostic values of different kinetic parameters and, despite the official definition of CA-125 response by the Gynecologic Cancer InterGroup, the optimal methodology to assess CA-125 kinetics remains undetermined (Lee *et al.*, 2011).

An intuitive direct link between tumour size changes and tumour marker kinetics has been the basic hypothesis sustaining all studies on the prognosis of tumour marker kinetics. If this assumption was confirmed, it might be of high relevance as a rational strategy for predicting tumour burden changes induced by chemotherapy and for evaluating the potential benefit of surgical intervention or surgical resection of the tumour in the treatment of ovarian cancer patients. In the present study, we developed a kinetic-pharmacodynamic (K-PD) semi-mechanistic model to characterise the relationships between CA-125 kinetics and tumour size changes induced by chemotherapy.

MATERIALS AND METHODS

Data and objectives. The CALYPSO trial was a randomised, multicentre, phase III non-inferiority trial to test the efficacy and safety of the combination of carboplatin and pegylated liposomal doxorubicin (CD) compared with the standard combination of carboplatin and paclitaxel (CP) in patients with platinum-sensitive recurrent ovarian cancer (ROC). A total of 976 patients were randomised, 467 to CD and 509 to CP. Patients were excluded from the study if they had received prior radiotherapy, and simultaneous administration of other anticancer therapy was not allowed (Pujade-Lauraine *et al.*, 2010). Pujade-Lauraine *et al.* (2010) reported the superiority of CD regarding PFS and safety. The details of this study are provided elsewhere (Pujade-Lauraine *et al.*, 2010).

The present study aimed at the following: (1) building a population K-PD semi-mechanistic model, which may enable accurate investigation of the relationships between drug kinetics, tumour dynamics, and tumour marker production and elimination; (2) evaluating model performance in an advanced internal validation; and (3) assessing the possibility of predicting tumour response based on CA-125 concentration kinetics in patients with and without measurable disease.

Data management. A semi-mechanistic model was built using the available CA-125 concentrations and tumour size values along with the chemotherapy treatments and dates. For our analysis, only patients with at least four measurements of CA-125 and two tumour size values were retained. In a first intent, patients with non-measurable lesions were excluded. Then, the patient data set was randomly split into two: a learning data set including two-third of patients to build the model and estimate parameters, and a validation data set with the remaining one-third of patients for an

advanced evaluation of the model. Owing to the magnitude of observed values for the dependent variables, CA-125 concentrations were Box-Cox transformed, as described in the Supplementary Material 1, and tumour size values were log transformed (Box and Cox, 1964).

Tumour size corresponded to the sum of the longest dimensions of all target lesions. The limit of quantification (LOQ) for tumour size data was 10 mm (Eisenhauer *et al.*, 2009). Tumour sizes below the LOQ were set to LOQ/2 (5 mm) and the s.d., associated with the imprecision of this measure, was fixed at LOQ/4, as previously described (M5 method; Beal, 2001).

Model development and qualification. A semi-mechanistic model, defined as a compartmental model with minimal physiological components, was built to describe CA-125 concentrations and tumour size kinetics during chemotherapy treatment (Figure 1). A K-PD approach was used to describe the kinetics of the drug action in the absence of PK data (Jacqmin *et al.*, 2007). The model contained three outputs: the drug kinetics, the tumour dynamics, and the CA-125 kinetics.

The drug kinetics were described by a two-compartment K-PD model: a central compartment (A1) receiving the treatment and a transit compartment (A2) allowing a lag time before the drug effect, typical of anticancer drugs (Savic *et al.*, 2007). As no doses or concentrations were available, an arbitrary value (equal to 1) was set for the dose of each chemotherapy cycle. A K-PD model, with two different kinetics for each chemotherapy combinations (CP and CD), was tested. As parameters were not significantly different, a model with the same drug kinetics for both treatments was retained.

Tumour dynamics were dependent on the treatment effect, acting as an inhibitor of tumour growth in a saturable manner. Different models of tumour growth inhibition were tested as described in the Supplementary Material 2; Supplementary Table S1). A constant tumour growth rate with a linear decrease rate fitted the best. In order to enable the tumour growth, the baseline tumour size was constrained to be less than the steady-state condition using the logit function as described in the Supplementary Material 3).

CA-125 kinetics were described with an indirect model including production and elimination rates. To account for CA-125 production by both normal tissues and cancer tissues, two additive production rates were considered: KPROD1, the CA-125 basal production rate by normal tissue, and KPROD2, the CA-125 production rate by a stationary tumour. The key models tested to link CA-125 with tumour size or variations in tumour size are described in the Supplementary Material 2; Supplementary Table S2).

The final model was described with the following equations:

$$\begin{cases} \frac{dA_1}{dt} = -K \times A_1 \\ \frac{dA_2}{dt} = K \times A_1 - K \times A_2 \\ \frac{dTumoursize}{dt} = K_{PROL} \times \left(1 - \frac{A_2}{A_{50} + A_2}\right) - K_{REDUC} \times Tumoursize \\ \frac{dCA125}{dt} = K_{PROD1} + K_{PROD2} \times \exp(K_2 \times VAR_{TS}) - K_{ELIM} \times CA125 \end{cases}$$

The initial conditions at time 0 were:

$$\begin{cases} A_1(0) = 0 \\ A_2(0) = 0 \\ Tumoursize(0) = TS_0 \\ CA125(0) = CA_0 \end{cases}$$

A₁ and A₂ represent drug amounts in the central compartment and the transit compartment, respectively. K is the treatment kinetic rate constant. K_{PROL} is the tumour growth rate. A₅₀ is the amount producing 50% of the maximum effect. K_{REDUC} is the tumour size decrease rate constant. K_{PROD1} is the CA-125 basal production rate. K_{PROD2} represents the CA-125 production rate by

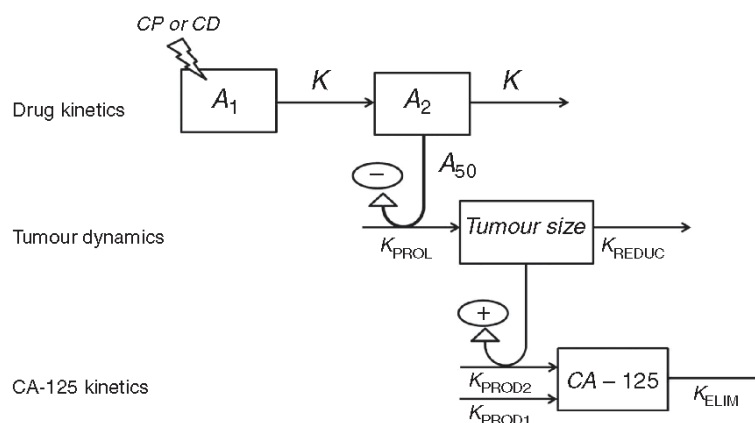


Figure 1. K-PD semi-mechanistic model describing tumour size and CA-125 kinetics in ROC patients during chemotherapy. A_1 and A_2 represent drug amounts in the central compartment and transit compartment (arbitrary unit; a.u.), respectively. K is the treatment kinetic rate constant (day^{-1}). K_{PROL} is the tumour growth rate (mm per day). A_{50} is the amount producing 50% of the maximum inhibitory effect of A_2 on K_{PROL} (a.u.). K_{REDUC} is the tumour size decrease rate constant (day^{-1}). K_{PROD1} is the CA-125 basal production rate (U ml^{-1} per day). K_{PROD2} represents the CA-125 production rate by a stationary tumour (U ml^{-1} per day). K_2 is a proportional factor (day mm^{-1}). K_{ELIM} is the CA-125 elimination rate constant (day^{-1}). TS_0 is the initial tumour size value (mm) and CA_0 is the initial CA-125 concentration (U ml^{-1}).

a stationary tumour. K_2 is a proportional factor linking K_{PROD2} to VAR_{TS} ; VAR_{TS} is the tumour size variation ($\frac{d\text{Tumour size}}{dt}$). K_{ELIM} is the CA-125 elimination rate constant. TS_0 is the initial tumour size value and CA_0 is the initial CA-125 concentration.

To estimate the model parameters, population analysis was performed using the non-linear mixed effects modelling approach as commonly done, where data from all patients are analysed simultaneously (described in the Supplementary Material 4; Sheiner, 1984). Log-normal parameter distributions within the population were assumed, and an additive error model was used to reflect residual variability (including measurement errors) in tumour size and CA-125. As 50% of patients had discontinued the study in the first 513 days after randomisation (or the first treatment day), we limited modelling analysis to this time frame to reduce potential biases.

We searched for covariates able to reduce the unexplained variability of model parameters using a stepwise forward selection-backward deletion (Jonsson and Karlsson, 1998).

The best model was selected using criteria based on the maximisation of the likelihood (or minimisation of the objective function value), Akaike criteria, classical goodness-of-fit plots (GOF), and the normalised prediction distribution errors (NPDE) (FDA, 1999). In addition, the model's predictive capacity was tested using the visual predictive check (VPC) (FDA, 1999; Yano *et al.*, 2001). One hundred simulations of CA-125 and tumour size profiles from the learning data set were performed using the final individual parameters estimated from the model. The observed CA-125 values and tumour sizes were compared with the median and 90% confidence intervals of the CA-125 concentrations and tumour sizes, respectively, from the simulated replicates (Yano *et al.*, 2001).

Advanced internal evaluation. The ability of the final model to predict tumour size and CA-125 values was evaluated using the validation data set. The metric used was the NPDE, computed after 100 simulations of the validation data set (Brendel *et al.*, 2006). The model and population parameters were considered correct if the NPDE followed a standard normal distribution.

Tumour size prediction to estimate the test's clinical performance. The ability of the model to predict tumour size changes based on CA-125 was tested. From the validation data set, all CA-125 observations up to 200 days (nine cycles of chemotherapy) and

the initial tumour size value for each patient were used. The final model structure and population parameter distributions, obtained from the learning data set, were used for predicting tumour size changes for the following 200 days, in validation data set patients. The maximum a posteriori bayesian method was used (Supplementary Material 4). Predictions were compared with observations graphically and the performance of predictions was evaluated numerically. The mean prediction error (MPE) was used to assess prediction bias, whereas the mean absolute prediction error (MAE) was computed to estimate prediction accuracy as described in the Supplementary Material 5.

In the same way, the model was used to predict latent tumour response induced by chemotherapy based on CA-125 kinetics in patients with non-measurable disease, excluded from the model building and the advanced internal validation.

Computing process. The NONMEM 7.2 software (ICON Development Solutions, Ellicott City, MD, USA) and PsN suite were used to fit CA-125 and tumour size kinetics to the semi-mechanistic model (Lindbom *et al.*, 2004; Beal *et al.*, 2009). Estimations were made by maximising the likelihood of the data, using the Stochastic Approximation Expectation Maximization algorithm followed by an important sampling to obtain the objective function value for hypothesis testing by the likelihood ratio test (Beal *et al.*, 2009). The covariate model was built using the PsN's scm programme (Jonsson and Karlsson, 1998; Lindbom *et al.*, 2004). Data handling and graphical representations were performed in R, using the Xpose package (Jonsson and Karlsson, 1999; R Development Core Team, 2010). The Box-Cox power parameter λ was calculated in R, using the powertransform function of the car package (R Development Core Team, 2010).

RESULTS

Data. Two hundred and ninety-seven patients with tumour size missing data owing to non-measurable disease were excluded. As a consequence, the data from 535 patients were available for modelling analysis (Figure 2), with a median of 10 CA-125 values and four tumour size observations per subject. Distributions of continuous and discrete covariates are described in Table 1. After random data splitting, the learning data set contained 357 patients

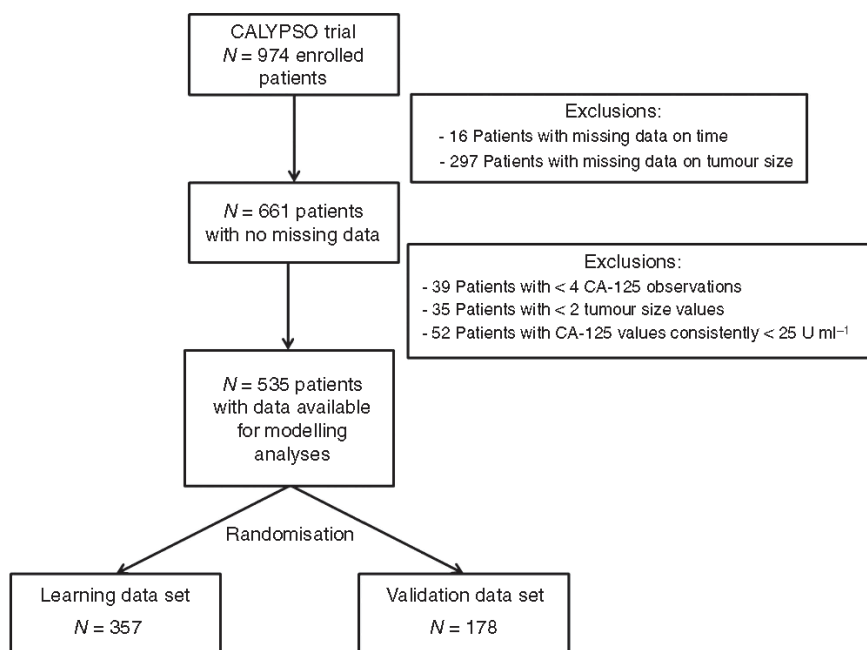


Figure 2. Selection of patients included in the present study (CONSORT diagram).

and the validation data set contained 178 patients. Patients' characteristics were similar in both data sets. The value of the power parameter λ for the CA-125 Box-Cox transformation was estimated at -0.16 .

K-PD model. Typical parameter and inter-individual variability (IIV) estimates of the joint model for tumour size and CA-125 kinetics are presented in Table 2. The CA-125 half-life was estimated at 52.5 days. Relative s.e. (RSE) of typical mean parameters and IIV, representative of estimation precision, were all less than 25%. Because of the heterogeneity of the data, IIV were large, but they were supported by satisfactory RSE and shrinkage values. None of the tested covariates, summarised in Table 1, were found to significantly reduce the unexplained IIV of model parameter estimates.

Model evaluation. The GOFs demonstrate that both individual CA-125 kinetics and tumour change profiles were properly fitted by the model (Supplementary Material 6; Supplementary Figure S1A–D). The NPDE, which followed a standard normal distribution as expected, suggested no bias or trends in the residual error models (Supplementary Material 6; Supplementary Figure S1E and F). The VPCs, which were used to assess the internal validity of the model, demonstrated that most of the observed CA-125 values and tumour size predictions were included within the 90% confidence interval boundaries of simulated CA-125 and tumour size predictions, suggesting good predictive performance of the model (Figure 3).

For advanced internal evaluation purposes, the kinetic parameters derived from the learning data set were used to predict CA-125 kinetics and tumour size changes in the validation data set patients. The NPDE did not deviate from a standard normal distribution, indicating that the model and population parameter distributions were correct (Supplementary Material 7; Supplementary Figure S2).

Tumour size prediction based on CA-125 kinetics in the validation data set. After integrating the initial radiological tumour size at treatment initiation, our model was used to predict

the subsequent variations of tumour sizes (above the 10-mm LOQ) induced by chemotherapy on the basis of longitudinal values of CA-125 only over a period of 200 days. There was good graphical agreement between the observed and predicted tumour sizes, without bias (MPE = 0.3%) and with an acceptable precision (MAE = 10.6%). The kinetics profiles of the observed CA-125 and predicted tumour sizes for two patients are shown in the Figure 4A.

Finally, latent tumour response was predicted, based on longitudinal CA-125 assessments, in the 297 patients with non-measurable disease. Two individual profiles for the kinetics of CA-125 kinetics and latent tumour response are shown in the Figure 4B.

More individual kinetics profiles are available in the Supplementary Material 8.

DISCUSSION

The proof of a direct relationship between CA-125 kinetics and tumour burden changes may have important clinical consequences in ovarian cancer patients treated with chemotherapy. Such results would mean it may be used as a complement tool to overcome the limitations of imaging in advanced ovarian cancer patients, or facilitate assessment of tumour response to treatment in countries where modern imaging tests are not available. Our mathematical model is the first, to our knowledge, to link tumour size changes and CA-125 kinetics to cytotoxic effects in ROC patients receiving chemotherapy. The results of the present modelling suggest that there are quantifiable relationships between CA-125 kinetics and tumour size changes. The assumption, that the tumour size variation will drive the rate of change for CA-125, results from the non-heterogeneity of the tumours in term of vascularisation. Internal and advanced internal validation demonstrated the strong prediction ability of the model. Some results such as CA-125 half-life (52.5 days) were in agreement with literature data (Riedinger *et al*, 2008). We used a K-PD approach because of the absence of PK data. The integration of already published population PK

Table 1. Patient characteristics			
	Total (n = 535)	Learning data set (n = 357)	Validation data set (n = 178)
Characteristics			
CA-125 values number per patient	9 (4–15)	9 (4–15)	9 (4–15)
CA-125 values (Uml ⁻¹)	43 (1–13 235)	41 (1–10 079)	45 (3–13 235)
Tumour size values number per patient	4 (2–6)	4 (2–6)	4 (2–6)
Tumour size values (mm)	34 (5–400)	33 (5–400)	34 (5–395)
Dropout times (day)	424 (59–513)	424 (59–513)	425 (93–512)
Continuous covariates			
Age (year)	61 (27–82)	62 (30–80)	61 (27–82)
Weight (kg)	69 (41–150)	69 (45–121)	70 (41–150)
Height (cm)	162 (139–183)	162 (139–183)	162 (143–178)
Body surface area (m ²)	1.73 (1.32–2.59)	1.72 (1.34–2.3)	1.73 (1.32–2.59)
Creatinine (μmol l ⁻¹)	71 (6.2–154)	71 (6.2–154)	71 (6.2–143)
PFS 1st chemo (month)	20 (2.8–144)	20.5 (2.9–144)	21.6 (2.8–83)
Patient therapy free interval (month)	12 (6–12)	12 (6–12)	12 (6–12)
Categorical covariates			
Treatment			
CP	284	190	94
CD	251	167	84
Any surgery within 28 days			
Yes	43	23	20
No	492	334	158
FIGO stage			
I	24	16	8
II	38	24	14
III	395	269	126
IV	66	39	27
NAs	12	9	3
Primary tumour site			
Fallopian	19	13	6
Ovary	475	316	159
Peritoneal	41	28	13
Elevated white blood cells			
Yes	342	226	116
No	193	131	62
Ascite involvement			
Yes	531	355	176
No	4	2	2
Measurable lesion			
Yes	494	332	162
No	41	25	16
Lesion sites number			
– 1	163	115	48
> 1	372	242	130
Target lesion size			
< 5	390	251	139
> 5	145	106	39
Number of cycles			
(1–3)	33	26	7
(4–6)	376	247	129
(7–9)	107	72	35
(10–14)	19	12	7
Abbreviations: CD = carboplatin-pegylated liposomal doxorubicin; CP = carboplatin-paclitaxel; PFS = progression-free survival. Data are presented as median (min–max) or number of patients (%).			

Parameter (unit)	Estimate	RSE estimate (%)	IIV (%CV)	RSE IIV (%)	Shrinkage (%)
K (day ⁻¹)	0.019	17.4	72.1	7.1	22.1
K_{PROL} (mm per day)	0.869	10.2	153.6	4.7	25.7
A_{50} (a.u.)	0.162	23.7	167.0	12.8	23.9
K_{REDUC} (day ⁻¹)	0.013	6.5	140.4	2.7	15.2
K_{PROD1} (Uml ⁻¹ per day)	0.452	10.9	87.0	16.6	31.7
K_{PROD2} (Uml ⁻¹ per day)	0.615	7.1	225.8	10.7	8.7
K_2 (day mm ⁻¹)	21.4	3.8	108.6	8.1	15.8
K_{ELIM} (day ⁻¹)	0.037	7.2	63.6	15.8	21.7
TS_0 (mm)	57.8	2.8	75.6	14.5	4.3
CA_0 (Uml ⁻¹)	167	16.9	112.7	4.3	4.7
Residual error for tumour size above LOQ (mm)	0.273	6.6	—	—	—
Residual error for tumour size below LOQ (mm)	0.576 FIX	—	—	—	—
CA-125 residual error (U ml ⁻¹)	0.165	11.3	—	—	—

Abbreviations: CA_0 = baseline CA-125 value; CV = coefficient of variation; FIX = fixed parameter; IIV = inter-individual variability; LOQ = limit of quantification; RSE = relative s.e.; TS_0 = baseline tumour size.

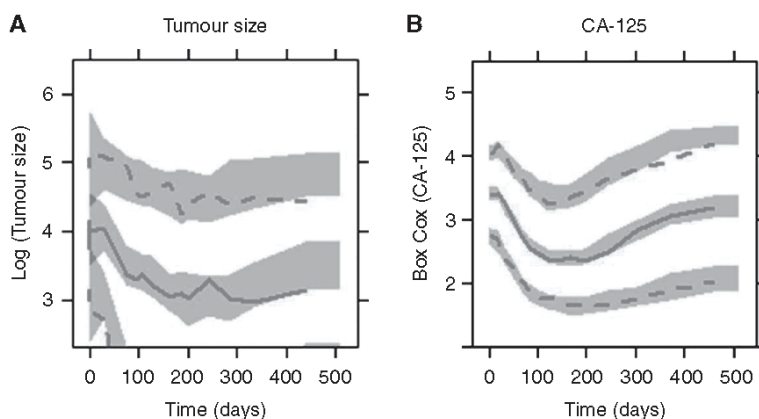


Figure 3. Visual predictive check of (A) tumour size and (B) CA-125. Transformed tumour size and CA-125 values are plotted vs time. Blue areas represent the 95% confidence intervals of the 10th, 50th, and 90th percentiles of simulated data. Red lines represent the median (solid line), and the 10th and 90th percentiles (dashed lines) of the observations. Values below the LOQ are not drawn. The full colour version of this figure is available at *British Journal of Cancer* online.

model would be useful only if the model had a covariate model explaining the major part of the IIV. Development of resistance was also evaluate in the model, but as a few tumour regrowth under treatment were observed, data did not contain enough information to support the estimation of a treatment resistance.

The second main finding of the present study is our potential ability to predict, with limited bias and correct precision, individual tumour size changes induced by chemotherapy based on CA-125 kinetics. We could monitor individual tumour size kinetic profiles on the basis of longitudinal CA-125 values and the initial tumour size. Practically, these outcomes mean that prediction of tumour size changes based on CA-125 kinetics may be a useful complementary tool for surgeons when assessing the resectability of residual lesions after three or six cycles of chemotherapy.

Some limitations may reduce the impact of the outcomes presented here. First, this work is an unplanned retrospective study of the CALYPSO phase III trial and results will have to be validated in another cohort of patients. Second, CA-125 concentrations were assessed in patients from different countries using different tests.

Variability related to the use of different immunoassays might have contributed to increase inter- and IIV and to scatter kinetic parameter results.

Moreover, there are limitations while extrapolating the present outcomes to clinical situations, as our results are bound to the patient population enrolled in the CALYPSO trial and its primary objective, that is, to compare two platinum-based chemotherapy regimens on progression-free survival in ROC patients. As a result, our outcomes may not necessarily be applicable to patients who are potential candidates for primary or interval debulking surgery. Moreover, we had no data for investigating the predictive value of forecasted tumour size on tumour resectability. Thus, we have planned to investigate the value of our predictions in a study specifically designed to assess the role of surgery.

Despite these limitations, the present model-based study suggests a quantifiable link between CA-125 kinetics and tumour size changes and the potential prediction of tumour burden based on CA-125 variations. If these results are confirmed, relevant information may be derived for management of ovarian cancer

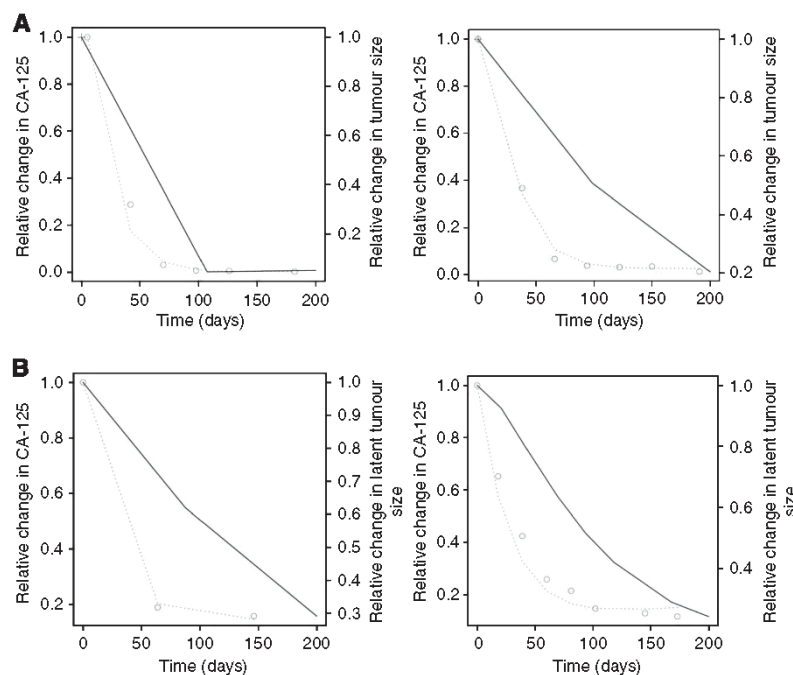


Figure 4. Prediction of tumour response and latent tumour response for the first 200 days of the study in patients with measurable (A) and non-measurable disease (B). Dotted red lines are the predicted kinetics of the relative change in CA-125, red circles are the observed relative change in CA-125, blue lines represent the dynamics of the relative change in predicted tumour size and latent tumour size, and blue crosses are the observed relative change in tumour size. The full colour version of this figure is available at *British Journal of Cancer* online.

patients, particularly by guiding surgical decision making in a setting where imaging has limited utility. Although model building is a complex process, models could be easily implemented on routine settings. An online programme integrating the models could automatically calculate individually modelled kinetic parameters of interest, and thus predict tumour response, based on a few CA-125 time points measured during treatment. Furthermore, this model-based approach may have other applications such as analysis of other tumour markers for different groups of cancer patients, or as a predictor of drug efficacy for drug development.

Quantification of the links between survival and early changes in tumour size and/or CA-125 (predicted with the present model), analogous to the work of Claret *et al* (2009), has been planned.

ACKNOWLEDGEMENTS

EH was funded by Fondation Synergie Lyon Cancer and La Ligue Nationale contre le Cancer.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare no conflict of interest.

REFERENCES

- Beal SL (2001) Ways to fit a PK model with some data below the quantification limit. *J Pharmacokinet Pharmacodyn* **28**: 481–504.
- Beal SL, Sheiner LB, Boeckmann A, Bauer RJ (2009) *NONMEM User's Guides (1989-2009)*. Icon Development Solutions: Ellicott City, MD, USA.
- Box GEP, Cox DR (1964) an analysis of transformations. *J R Stat Soc Series B* **26**: 211–252.
- 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.
- Claret L, Girard P, Hoff PM, Van Cutsem E, Zuideveld KP, Jorga K, Fagerberg J, Bruno R (2009) Model-based prediction of phase III overall survival in colorectal cancer on the basis of phase II tumor dynamics. *J Clin Oncol* **27**: 4103–4108.
- Eisenhauer EA, Therasse P, Bogaerts J, Schwartz LH, Sargent D, Ford R, Dancy J, Arbuck S, Gwyther S, Mooney M, Rubinstein L, Shankar L, Dodd L, Kaplan R, Lacombe D, Verweij J (2009) New response evaluation criteria in solid tumours: Revised RECIST guideline (version 1.1). *Eur J Cancer* **45**: 228–247.
- FDA (1999) Guidance for industry on population pharmacokinetics; availability. Notice. *Fed Regist* **64**: 6663–6664.
- Howlader N, Noone AM, Krapcho M, Garshell J, Neyman N, Altekruse SF, Kosary CL, Yu M, Ruhl J, Tatalovich Z, Cho H, Mariotto A, Lewis DR, Chen HS, Feuer EJ, Cronin KA (eds) (2012) *SEER Cancer Statistics Review*. National Cancer Institute: Bethesda, MD. http://seer.cancer.gov/csr/1975_2010/ (based on November 2012 SEER data submission, posted to the SEER web site, April 2013).
- Jacqmin P, Snoeck E, van Schaick EA, Gieschke R, Pillai P, Steimer JL, Girard P (2007) Modelling response time profiles in the absence of drug concentrations: definition and performance evaluation of the K-PD model. *J Pharmacokinet Pharmacodyn* **34**: 57–85.
- Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D (2011) Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* **61**: 69–90.
- Jonsson EN, Karlsson MO (1998) Automated covariate model building within NONMEM. *Pharm Res* **15**: 1463–1468.
- Jonsson EN, Karlsson MO (1999) Xpose—an S-PLUS based population pharmacokinetic/pharmacodynamic model building aid for NONMEM. *Comput Methods Programs Biomed* **58**: 51–64.
- Lee CK, Friedlander M, Brown C, Gebiski VJ, Georgouloupoulos A, Vergote I, Pignata S, Donadello N, Schmalfeldt B, Delva R, Mirza MR, Sauthier P, Pujade-Lauraine E, Lord SJ, Simes RJ (2011) Early decline in cancer antigen 125 as a surrogate for progression-free survival in recurrent ovarian cancer. *J Natl Cancer Inst* **103**: 1338–1342.

- Lengyel E (2010) Ovarian cancer development and metastasis. *Am J Pathol* **177**: 1053–1064.
- Lindbom L, Ribbing J, Jonsson EN (2004) Perl-speaks-NONMEM (PsN)—a Perl module for NONMEM related programming. *Comput Methods Programs Biomed* **75**: 85–94.
- Pujade-Lauraine E, Wagner U, Aavall-Lundqvist E, GebSKI V, Heywood M, Vasey PA, Volgger B, Vergote I, Pignata S, Ferrero A, Schouli J, Lortholary A, Kristensen G, Jackisch C, Joly F, Brown C, Le Fur N, du Bois A (2010) Pegylated liposomal Doxorubicin and Carboplatin compared with Paclitaxel and Carboplatin for patients with platinum-sensitive ovarian cancer in late relapse. *J Clin Oncol* **28**: 3323–3329.
- R Development Core Team (2010) *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing: Vienna, Austria.
- Riedinger JM, Eche N, Basuyau JP, Dalifard I, Hacene K, Pichon MF (2008) Prognostic value of serum CA 125 bi-exponential decrease during first line paclitaxel/platinum chemotherapy: a French multicentric study. *Gynecol Oncol* **109**: 194–198.
- Rustin GJ, Quinn M, Thigpen T, du Bois A, Pujade-Lauraine E, Jakobsen A, Eisenhauer E, Sague S, Greven K, Vergote I, Cervantes A, Vermorken J (2004) Re: New guidelines to evaluate the response to treatment in solid tumors (ovarian cancer). *J Natl Cancer Inst* **96**: 487–488.
- Savic RM, Jonker DM, Kerbusch T, Karlsson MO (2007) Implementation of a transit compartment model for describing drug absorption in pharmacokinetic studies. *J Pharmacokinet Pharmacodyn* **34**: 711–726.
- Sheiner LB (1984) The population approach to pharmacokinetic data analysis: rationale and standard data analysis methods. *Drug Metab Rev* **15**: 153–171.
- Vergote I, Trope CG, Amant F, Kristensen GB, Ehlen T, Johnson N, Verheijen RH, van der Burg ME, Lacave AJ, Panici PB, Kenter GG, Casado A, Mendiola C, Coens C, Verleye L, Stuart GC, Pecorelli S, Reed NS (2010) Neoadjuvant chemotherapy or primary surgery in stage IIIC or IV ovarian cancer. *N Engl J Med* **363**: 943–953.
- Yano Y, Beal SL, Sheiner LB (2001) Evaluating pharmacokinetic/pharmacodynamic models using the posterior predictive check. *J Pharmacokinet Pharmacodyn* **28**: 171–192.

This work is published under the standard license to publish agreement. After 12 months the work will become freely available and the license terms will switch to a Creative Commons Attribution-NonCommercial-Share Alike 3.0 Unported License.

Supplementary Information accompanies this paper on British Journal of Cancer website (<http://www.nature.com/bjc>)

SUPPLEMENTARY MATERIAL – PUBLICATION I

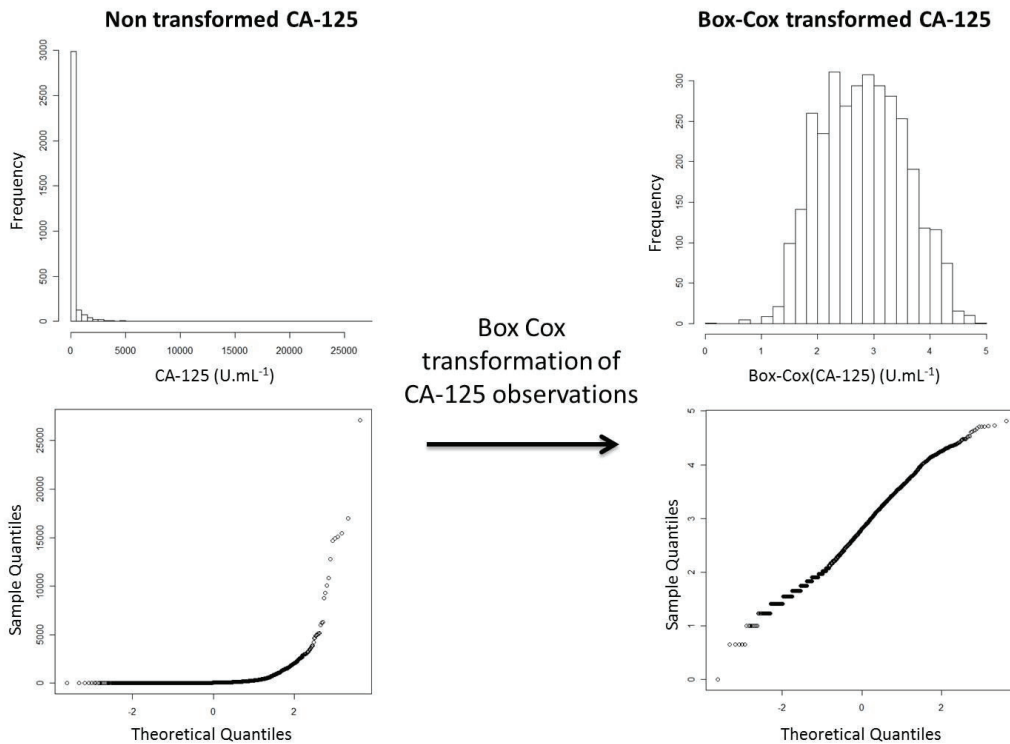
Supplement 1: Box-Cox transformation:

Many important statistical analysis results follow the assumption that the population being sampled or investigated is normally distributed. The Box-Cox transformation can be used to make the residual error more similar to a normal distribution. The Box-Cox transformation of CA-125 with power parameter λ is defined as:

$$CA\ 125'_\lambda = \frac{CA\ 125^\lambda - 1}{\lambda}$$

λ was calculated in R, using the *powertransform* function of the *car* package. In our dataset, a λ value of -0.16 was estimated to approximate a normal distribution of the Box-Cox transformed CA-125 concentrations.

The following graphics show the distributions of observed CA-125, before and after Box-Cox transformation:



Supplement 2: Key models tested:

Table S1: Tested models for tumor dynamics

Model	Equation	Number of parameter	OFV ¹	AIC ²
Malthus	$\frac{dT_S}{dt} = K_{PROL} \times T_S \times Effect - K_{REDUC} \times T_S$	5	594	604
Exponential	$\frac{dT_S}{dt} = K_{PROL} \times T_S \times Effect$	4	1836	1844
Gompertz	$\frac{dT_S}{dt} = a \times T_S \times Effect - B \times T_S \times \log(T_S)$	5	446	456
Logistic	$\frac{dT_S}{dt} = a \times T_S \times Effect - B \times T_S^2$	5	547	557
Constant	$\frac{dT_S}{dt} = K_{PROL} \times Effect - K_{REDUC} \times T_S$	5	392	402
Constant + Condition	$\frac{dT_S}{dt} = K_{PROL} \times Effect - K_{REDUC} \times T_S$ $T_S(0) > \frac{K_{PROL}}{K_{REDUC}}$	5	385	395
Wang	$T_S(t) = T_S(0) \times \exp(-a \times t) + b \times t$	5	470	480
Claret	$\frac{dT_S}{dt} = KL \times T_S - KD \times Effect \times \exp(-\lambda \times t) \times T_S$	6	652	664

¹ Objective Function Value; ² Akaike Information Criterion

Table S2: Tested models for CA-125 kinetics:

Model	Equation	Nber of param	OFV ¹	AIC ²
CA-125 linked with Tumor Size (TS)				
1 production rate	$\frac{dCA125}{dt} = K_{PROD} \times T_S - K_{ELIM} \times CA125$	8	-1967	-1951
2 additive production rates	$\frac{dCA125}{dt} = K_{PROD1} + K_{PROD2} \times T_S - K_{ELIM} \times CA125$	9	-1779	-1761
CA-125 linked with Variation in Tumor Size (VARTS)				
1 production rate	$\frac{dCA125}{dt} = K_{PROD} \times \exp(K2 \times VARTS) - K_{ELIM} \times CA125$	9	-2942	-2924
2 additive production rates	$\frac{dCA125}{dt} = K_{PROD1} + K_{PROD2} \times \exp(K2 \times VARTS) - K_{ELIM} \times CA125$	10	-3521	-3501

2 additive production rates	$\frac{dCA125}{dt} = K_{PROD1} + K_{PROD2} \times \exp(VARTS) - K_{ELIM} \times CA125$	9	-1394	-1376
1 production rate, sigmoid	$\frac{dCA125}{dt} = K_{PROD} \times \frac{\exp(VARTS - \alpha)^\sigma}{1 + \exp(VARTS - \alpha)^\sigma} - K_{ELIM} \times CA125$	10	-2692	-2672
2 production rates, sigmoid	$\frac{dCA125}{dt} = K_{PROD1} + K_{PROD2} \times \frac{\exp(VARTS - \alpha)^\sigma}{1 + \exp(VARTS - \alpha)^\sigma} - K_{ELIM} \times CA125$	11	-2767	-2745

CA-125 linked with Tumor Size (TS) and Variation in Tumor Size (VARTS)

3 production rates	$\frac{dCA125}{dt} = K_{PROD1} + K_{PROD2} \times TS + K_{PROD3} \times \exp(K2 \times VARTS) - K_{ELIM} \times CA125$	11	-2349	-2327
--------------------	--	----	-------	-------

¹ Objective Function Value; ² Akaike Information Criterion

Since the variation in tumor size (VARTS) can be a negative value, the exponential of VARTS was used, in order to have a positive production rate.

Supplement 3: Baseline tumor size condition:

Tumor size kinetics was described with a constant tumor growth rate (K_{PROL}) and a linear decrease rate (K_{REDUC}):

$$\frac{dTumorSize}{dt} = K_{PROL} \times \left(1 - \frac{A_2}{A_{50} + A_2}\right) - K_{REDUC} \times TumorSize$$

In order to enable the tumor to grow, the baseline tumor size ($TS0$) was constrained to be less than the steady-state condition:

$$TS0 < \frac{K_{PROL}}{K_{REDUC}}$$

For that, we used the logit function and defined the baseline tumor size as the following equation:

$$TS0 = \frac{K_{PROL}}{K_{REDUC}} \times \frac{\exp(THETA + ETA)}{1 + \exp(THETA + ETA)}$$

With THETA that could be a positive or negative value.

In our model, since we have more information on the parameter $TS0$, we applied the logit function on K_{PROL} :

$$K_{PROL} = \frac{TS0 \times K_{REDUC}}{\frac{\exp(THETA + ETA)}{1 + \exp(THETA + ETA)}}$$

Supplement 4: Population analysis:*Population analysis description:*

The population analysis was performed using the non-linear mixed effects modeling approach: a one stage analysis that simultaneously estimates fixed effect parameters, inter-individual variability, and random residual error. The j th observation in the i th individual, $y_{i,j}$, can be described by:

$$y_{i,j} = f(\theta_i, x_{i,j}, z_i) + g(\theta_i, x_{i,j}, z_i) \times \varepsilon_{i,j}$$

f is the function of the structural model. g is the function for the error model. θ_i is the vector of model parameters for the i th individual. $x_{i,j}$ are the design variables for the j th observation in the i th individual. z_i corresponds to the covariates in subject i . $\varepsilon_{i,j}$ is the residual error for the j th observation in the i th individual and is assumed to be normally distributed with mean 0 and unit variance σ^2 :

$$\varepsilon_{i,j} \sim N(0, \sigma^2)$$

The second level of variability characterizes differences between individuals. Inter-individual variability (IIV) is usually modeled with the vector of individual parameters θ_i as a function of the vector of fixed effects, μ , of individual covariates, z_i , and the vector of individual random effects, η_i :

$$\theta_i = h(\mu, z_i, \eta_i)$$

η_i is assumed to be normally distributed with mean 0 and unit variance Ω :

$$\eta_i \sim N(0, \Omega)$$

Thereby, three parameters have to be estimated:

- the fixed effect vector: θ_i
- the random effect parameter quantifying the residual unknown variability: σ^2
- the random effect parameter quantifying the inter-individual variability: Ω .

Different statistical models were tested for the inter-individual variability and the residual error model. Both sides of data were transformed: log transformation for tumor size values and Box-Cox transformation for CA-125 values.

The search of covariates:

The search for covariates able to reduce the unexplained variability of model parameters used a stepwise forward selection – backward deletion. The parameter-covariate relations tested for continuous covariates were: not included, included as a linear function of the covariate, and included as a piece-wise linear function of the covariate with two slopes; while, the relations tested for categorical covariates were: not included and included as a linear relationship.

Selection criteria:

The criteria used for selection of the best model during model building and for inclusion of covariates were the Objective Function Value (OFV) for nested models and the Akaike Information Criterion (AIC) for non-nested models:

$$OFV = -2 \times \log(L)$$

L is the likelihood of the data to the model.

$$AIC = -2 \times \log(L) + 2 \times k$$

L is the likelihood and k is the number of parameters.

For both criteria, a lower value corresponds to a better fit. For the comparison of nested models, the difference in OFVs can be compared to a Chi-square distribution.

The MAP Bayesian method:

The MAP Bayesian method uses a point estimate of the mode of parameters' posterior density, corresponding to the product of the prior (model structure and population parameters' log-normal distributions) and the likelihood (residual error model).

Supplement 5: Qualification of predictions:

The Mean Prediction Error (MPE) and Mean Absolute prediction Error (MAE) were computed to evaluate bias and precision of the predictions:

- Mean Prediction Error (%):

$$MPE = \frac{1}{n} \sum \frac{(Pred - Obs)}{Obs} \times 100$$

- Mean Absolute prediction Error (%):

$$MAE = \frac{1}{n} \sum \frac{|Pred - Obs|}{Obs} \times 100$$

n is the number of observations.

Supplement 6: Internal evaluation:

Figure S1

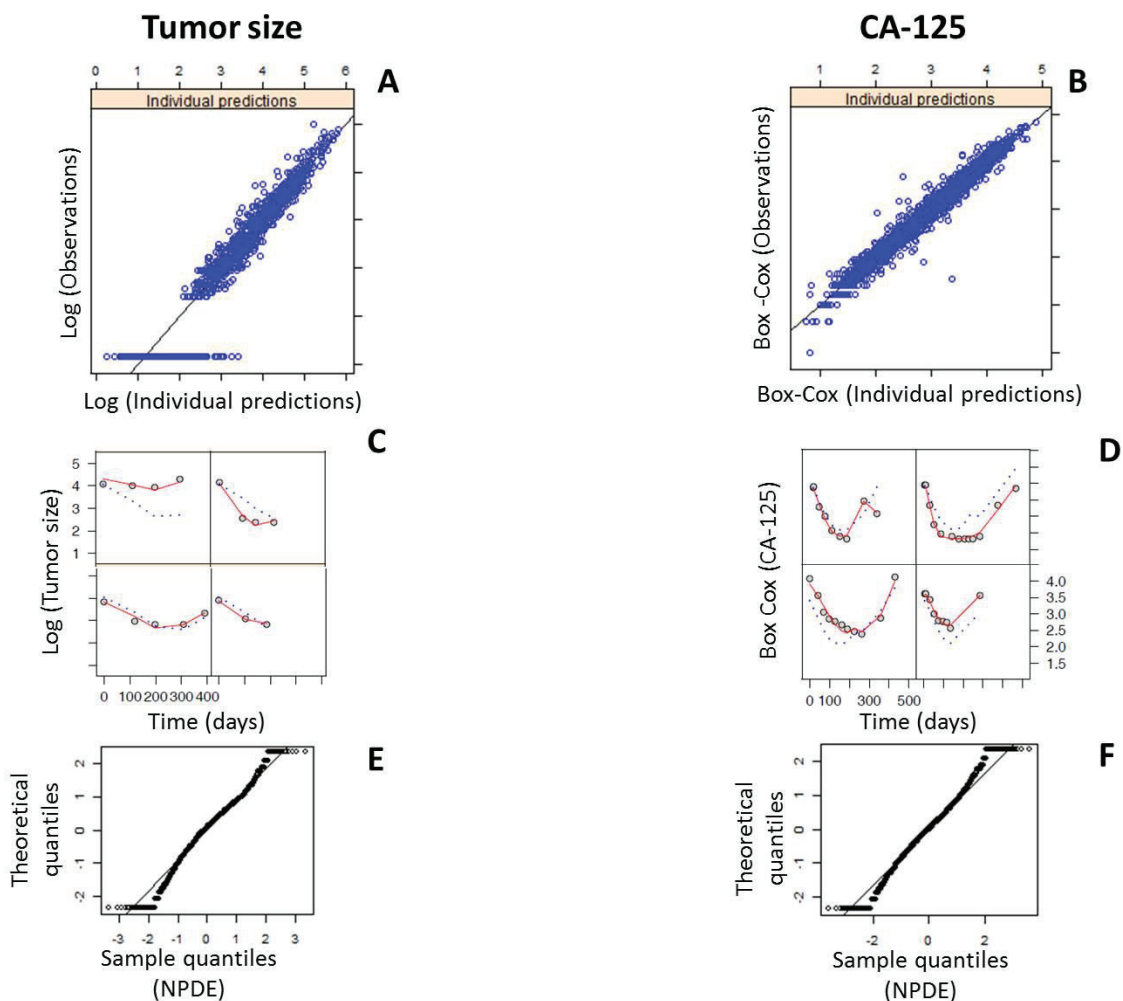


Figure S1. Internal validation: Goodness-of-fit plots. Observations versus individual predictions for tumor size (A) and CA-125 (B). The horizontal line for tumor size plot corresponded to the data below the limit of quantification.

Four examples of data for individual ROC patients for tumor size (C) and CA-125 (D) are shown; dots are the observed values, lines represent the individual predictions, and dot lines represent the population predictions.

Quantile–quantile plots for tumor size (E) and CA-125 (F) showing the quantiles of a theoretical standard normal distribution versus quantiles of the NPDE distribution.

Supplement 7: Advanced internal evaluation:

Figure S2

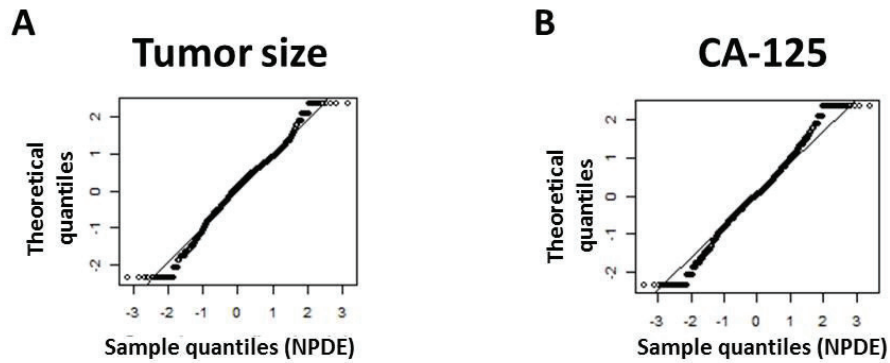


Figure S2. Advanced internal validation. Quantile–quantile plots for tumor size (A) and CA-125 (B) showing quantiles of a theoretical standard normal distribution versus quantiles of the NPDE distribution.

Supplement 8: Tumor size prediction based on CA-125 kinetics – Additional patients

Figure S3

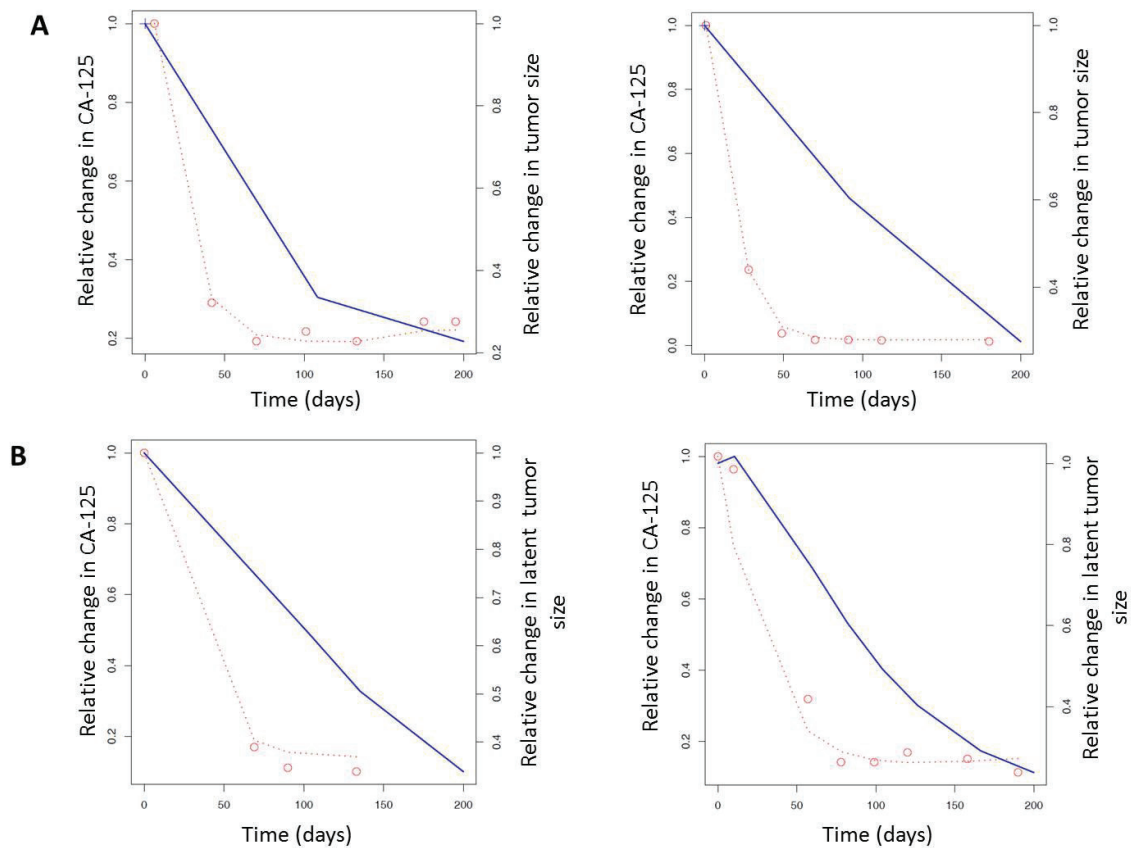


Figure S3. Prediction of tumor response and latent tumor response for the first 200 days of the study in patients with measurable (A) and non-measurable disease (B). Dotted red lines are the predicted

kinetics of the relative change in CA-125; red circles are the observed relative change in CA-125; blue lines represent the dynamics of the relative change in predicted tumor size and latent tumor size; blue crosses are the observed relative change in tumor size.

III- PUBLICATION II : PREDICTION DE LA SURVIE SANS PROGRESSION A PARTIR DE LA VARIATION PRECOCE DE CA-125

Dynamic modeling in ovarian cancer: An original approach linking early changes in modeled longitudinal CA-125 kinetics and survival to help decisions in early drug development

Mélanie Wilbaux, Emilie Hénin, Amit Oza, Olivier Colombari, Eric Pujade-Lauraine, Gilles Freyer, Michel Tod and Benoit You

Gynecologic Oncology, 2014; 133: 460-66.



Contents lists available at ScienceDirect

Gynecologic Oncology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/ygyno

Dynamic modeling in ovarian cancer: An original approach linking early changes in modeled longitudinal CA-125 kinetics and survival to help decisions in early drug development[☆]

Mélanie Wilbaux^{a,*}, Emilie Hénin^a, Amit Oza^b, Olivier Colombari^a, Eric Pujade-Lauraine^c, Gilles Freyer^{a,d}, Michel Tod^a, Benoit You^{a,d}

^a EMR 3738, Ciblage Thérapeutique en Oncologie, Faculté de Médecine et de Maïeutique Lyon-Sud Charles Mérieux, Université Claude Bernard Lyon 1, Oullins, France

^b Department of Medical Oncology and Hematology, Princess Margaret Hospital, University Health Network, Toronto, Ontario, Canada

^c Hôpital Hôtel Dieu, Place du Parvis Notre-Dame, 75004 Paris, France

^d Service d'Oncologie Médicale, Investigational Center for Treatments in Oncology and Hematology of Lyon, Centre Hospitalier Lyon-Sud, Hospices Civils de Lyon, F-69310 Pierre-Bénite, France

HIGHLIGHTS

- Early predictors of clinical benefit during drug development are needed.
- The links between early changes in CA125 and PFS in ovarian cancer were quantified.
- Early changes in CA125 may be an early predictive tool of the expected gain in PFS.

ARTICLE INFO

Article history:

Received 6 February 2014

Accepted 1 April 2014

Available online 12 April 2014

Keywords:

CA-125

Ovarian cancer

Progression-free survival

Drug development

ABSTRACT

Objective. Early prediction of the expected benefit of treatment in recurrent ovarian cancer (ROC) patients may help in drug development decisions. The actual value of 50% CA-125 decrease is being reconsidered. The main objective of the present study was to quantify the links between longitudinal assessments of CA-125 kinetics and progression-free survival (PFS) in treated recurrent ovarian cancer (ROC) patients.

Methods. The CALYPSO randomized phase III trial database comparing two platinum-based regimens in ROC patients was randomly split into a “learning dataset” and a “validation dataset”. A parametric survival model was developed to associate longitudinal modeled CA-125 changes (Δ CA125), predictive factors, and PFS. The predictive performance of the model was evaluated with simulations.

Results. The PFS of 534 ROC patients were properly characterized by a parametric mathematical model. The modeled Δ CA125 from baseline to week 6 was a better predictor of PFS than the modeled fractional change in tumor size. Simulations confirmed the model’s predictive performance.

Conclusions. We present the first parametric survival model quantifying the relationship between PFS and longitudinal CA-125 kinetics in treated ROC patients. The model enabled calculation of the increase in Δ CA125 required to observe a predetermined benefit in PFS to compare therapeutic strategies in populations. Therefore, Δ CA125 may be a predictive marker of the expected gain in PFS and an early predictive tool in drug development decisions.

© 2014 Elsevier Inc. All rights reserved.

[☆] Presentation during congress: This work was presented during a poster session at the 22nd annual Population Approach Group in Europe (PAGE) meeting: Wilbaux M, et al.: A drug-independent model predicting progression-free survival to support early drug development in recurrent ovarian cancer: PAGE 2013 Abstr 2716 [www.page-meeting.org/?abstract=2716].

It was also presented in a general poster session at the annual American Society of Clinical Oncology (ASCO) meeting: Wilbaux M, et al.: Benefit in progression-free survival (PFS) to expect based on CA125 reduction at week 6 in recurrent ovarian cancer (ROC) patients: CALYPSO phase III trial data (a GINECO-GCIG study). J Clin Oncol (suppl; abstr 5547 (112408)) 2013.

* Corresponding author at: EMR 3738, Ciblage Thérapeutique en Oncologie, Faculté Médecine et de Maïeutique Lyon-Sud Charles Mérieux, BP12-Chemin du Grand Revoyet, 69921 Oullins Cedex, France.

E-mail address: melanie.wilbaux@gmail.com (M. Wilbaux).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.ygyno.2014.04.003>

0090-8258/© 2014 Elsevier Inc. All rights reserved.

Introduction

More than 225,900 new cases of ovarian cancer are diagnosed worldwide each year [1]. Ovarian cancer accounts for the leading cause of death among all invasive cancers of the female gynecological system [1]. The objective of treating patients with advanced ovarian cancer is to lengthen overall survival. However, the time required to observe a significant gain in survival during clinical trials is too long. Consequently, early predictors of clinical benefits that are able to reduce the time line required to evaluate new treatments are needed [2].

Change in tumor size as assessed by discrete RECIST criteria is the outcome traditionally used to evaluate treatment efficacy in phase I

and phase II studies [3]. More recently, this endpoint has been suggested to have a more predictive value when considered as a continuous outcome. Following the Critical Path Initiative recommendations by the US Food and Drug Administration, mathematical and statistical models demonstrated that early changes in tumor size are predictors of survival in a variety of tumors, including metastatic breast cancer, colorectal cancer, and non-small cell lung cancer [4–6].

In advanced ovarian cancer patients, monitoring the decline in CA-125 titers in conjunction with the assessment of tumor size (using RECIST criteria) during chemotherapy is a strategy for characterizing treatment efficacy recognized by Gynecologic Cancer InterGroup (GCGI) [7]. However, the relevance of the binarized CA-125 response criterion (e.g., at least a 50% reduction from a pretreatment sample and maintained for at least 28 days) was strongly questioned by Lee et al. in 2011 [8]. Recent studies have suggested that longitudinal assessment of CA-125 values using mathematical algorithms will be more accurate than a single threshold-based strategy for analyzing CA-125 kinetics but the relationships to treatment benefit have never been assessed [9–11].

The actual predictive value of CA-125 dynamics during treatment in patients with advanced ovarian cancer is to be determined. In a previous study, we showed that quantifiable links exist between CA-125 kinetics and tumor size changes using a mathematical model, but the association with progression-free survival (PFS) remained to be elucidated [12]. The objectives of the present study were to establish the quantitative relationships between longitudinal modeled CA-125 kinetics and PFS in patients with recurrent ovarian cancer who are treated with chemotherapy, and to predict the expected PFS based on the patient-modeled CA-125 response. In addition, we aimed to identify the potential changes in CA-125 required to observe a predetermined improvement in PFS. This model could provide a useful tool for assessing the reliable prediction of PFS and support early drug development decisions.

Materials and methods

Trial and patients

The CALYPSO trial was a randomized, multicenter, phase III non-inferiority trial to test the efficacy and safety of the combination of carboplatin and pegylated liposomal doxorubicin (CD) compared to the standard combination of carboplatin and paclitaxel (CP) in patients with platinum-sensitive recurrent ovarian cancer (ROC). A total of 976 patients were randomized, 467 to CD and 509 to CP. Pujade et al. reported the superiority of CD regarding PFS and safety, and the details of this study were published previously [13].

Data management

Patients with non-measurable lesions were excluded from our analysis. For computational reasons, patients who had all their CA-125 values consistently lower than $25 \text{ U} \cdot \text{mL}^{-1}$, resulting in flat kinetic profiles, were removed. The whole patient dataset was randomly split into: (i) a learning dataset including two-thirds of patients to build the model and estimate parameters and (ii) a validation dataset with the remaining one-third of patients for an advanced evaluation of the model. Due to the skewness of the distribution of dependent variables, CA-125 concentrations were Box–Cox transformed (Supplementary S1, online only) and tumor size values log-transformed, to meet normality assumption [14]. Tumor size was reported as the sum of the longest dimensions of all target lesions, and a limit of quantification of 10 mm was utilized [3].

Model building procedure

A five-step scheme was used to relate changes in CA-125 titers, tumor size and PFS (Fig. 1). The previously reported model, meant to link CA-125 and tumor size changes, was combined with a parametric model of PFS [12].

First, modeled fractional changes in tumor size and CA-125 longitudinal changes were assessed from baseline to week 6. The selected 6 week length of time for CA125 kinetic modeling relates to 2 cycles of carboplatin–paclitaxel, which was considered as suitable for early prediction of treatment benefit. Next, several covariates potentially associated with PFS were screened. A parametric survival model meant to associate longitudinal CA-125 kinetics, significant predictive factors, and PFS was developed using the approach described by Claret et al. for colorectal cancer [6]. After internal and advanced internal evaluations, practical applications were modeled; the expected PFS was predicted based on the patient CA-125 response, and the increase in modeled fractional changes in CA-125 required to observe a predetermined PFS improvement was calculated.

1) Assessment of modeled fractional changes in tumor size and CA-125 Tumor sizes and CA-125 titers were used to calculate fractional changes in tumor size (ΔTS) and CA-125 ($\Delta CA125$) modeled continuously from baseline (BL) to week 6, as described in Supplementary S2 (online only).

Of note, tumor size and CA-125 titers predicted at baseline and week 6 by the longitudinal model were used to calculate ΔTS and $\Delta CA125$ [12]. The model structure is presented in Supplementary S3 (online only). The model was implemented using the CA-125 concentrations, tumor size values, and chemotherapy dates available in the CALYPSO database.

2) Screening for significant predictive factors

Several covariates potentially associated with PFS were tested: ΔTS , $\Delta CA125$, baseline tumor size, baseline CA-125, patient therapy-free interval (≤ 12 months vs. > 12 months), age, treatment type (CP vs. CD), lesion number ($= 1$ vs. > 1)... Significant predictive factors for PFS were determined using Kaplan–Meier curves (log-rank test) and univariate Cox regression analyses (likelihood ratio test) with a two-sided alpha risk of 0.05 [15,16]. All significant factors in the univariate analysis were integrated in a multivariate analysis using the parametric survival model.

3) Development of the parametric survival model

A parametric survival model was developed to describe the distribution of PFS as a function of longitudinal changes in CA-125 and tumor size and significant predictive factors [17]. The median PFS (months) was calculated for all patients from the date of the first administration of chemotherapy until the date of progressive disease or death, whichever occurred first. Different PFS distributions (i.e., exponential, Gaussian, log-normal, Weibull, logistic, and log-logistic) were tested using adequate statistical and graphical tests (i.e., likelihood comparison and assumption testing) before selecting the best distribution. Significant predictive factors were included in the parametric model one-by-one using forward selection ($\alpha = 0.05$). Backward stepwise elimination procedures were then carried out to exclude non-significant covariates ($\alpha = 0.01$).

The Akaike Information Criteria (AIC) were calculated to compare different models [18]. The final model was internally evaluated and its ability to predict PFS was tested using simulations on learning and validation datasets (Supplementary S4, online only).

4) Practical applications of the model

The model was applied to predict expected median PFS based on the patient-modeled CA-125 response. Individually modeled $\Delta CA125$ was dichotomized on the medians in order to discriminate between two groups of patients: rapid-responders ($\Delta CA125$ greater than the median) and slow-responders ($\Delta CA125$ lower than the median). The median PFS was computed using individual values for significant covariates and $\Delta CA125$. The predicted median PFS along with 95% CI was compared to the observed median PFS.

The model was also used to predict the increase in the modeled fractional change in CA-125 required to observe a predetermined PFS benefit for the purpose of comparing therapeutic strategies.

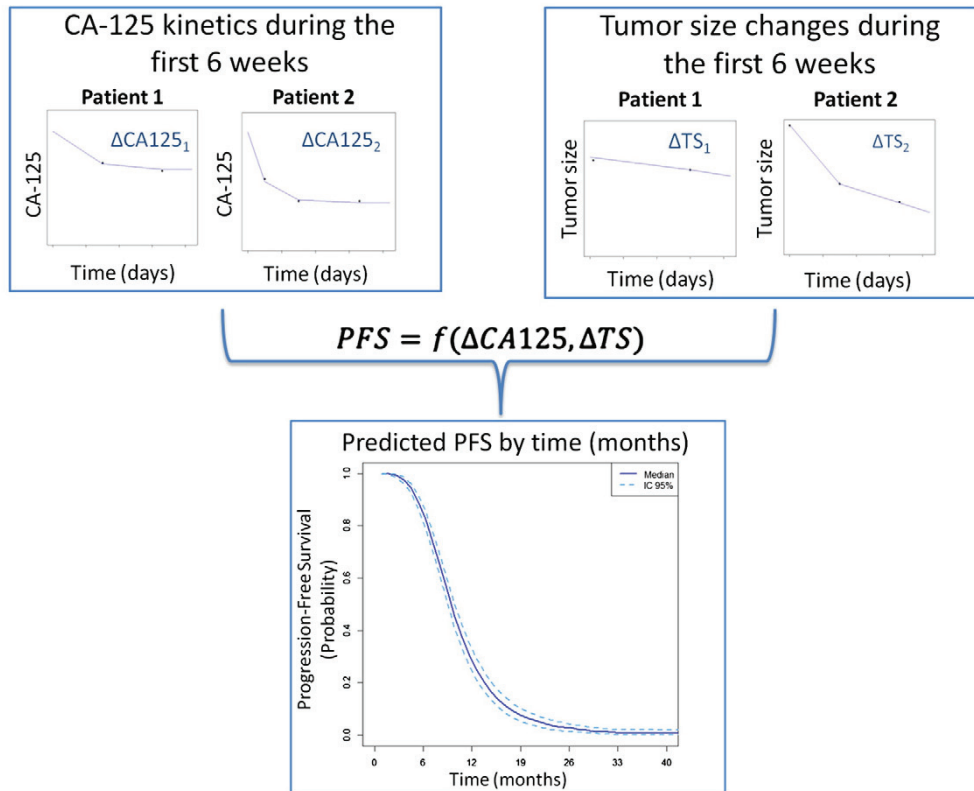


Fig. 1. Model building strategy. First, a previously reported model was applied for individual prediction of CA-125 kinetics and of tumor size changes [12]. Black dots are the observed values, and blue lines are the predicted kinetics. Then, the modeled fractional changes in CA-125 and tumor size ($\Delta CA125$ and ΔTS) from baseline to week 6 were calculated. Finally, $\Delta CA125$ and ΔTS were used in a parametric model to predict the progression-free survival in the population until 3.3 years.

Computing process

The NONMEM 7™ program and PsN™ suite were used to predict CA-125 and tumor size kinetics from the semi-mechanistic model [19,20]. The Box–Cox power parameter λ was calculated in R using

the *powertransform* function of the *car* package [21]. Graphical representations, Kaplan–Meier analysis, Cox regression, and parametric estimations were performed in R using the *survival* package [21]. The practical applications of the model were predicted with the function *predict()* in R [21].

Table 1

Patient characteristics. Data are presented as median [min–max] or number of patients (%). ΔTS indicates the fractional change in tumor size from baseline at week 6, and $\Delta CA125$ indicates the fractional change in CA-125 from baseline at week 6. Since log and Box–Cox transformations have to be done before the ΔTS and $\Delta CA125$ calculations, they cannot be directly transformed in a normal scale. Fractional changes in tumor size and CA-125 in normal scale were recalculated with baseline and week 6 values on normal scale.

Characteristic	Total	Learning dataset	Validation dataset
Number of patients	534	356	178
Progression-free survival (days)	310 [59–975]	308 [68–975]	310 [59–760]
Number of censored patients	41 (8%)	28 (8%)	13 (7%)
Baseline tumor size (mm, normal scale)	63 [7–376]	61 [7–376]	65 [11–294]
Baseline tumor size (mm, log-transformed data)	4.14 [1.99–5.93]	4.12 [1.99–5.93]	4.18 [2.41–5.68]
ΔTS^1 (mm, log-transformed data)	0.05 [–0.01–0.56]	0.05 [–0.01–0.54]	0.06 [–0.001–0.56]
Fractional change in tumor size in normal scale (mm)	0.20 [–0.04–0.94]	0.19 [–0.04–0.94]	0.22 [–0.01–0.94]
Baseline CA-125 (U·mL ⁻¹ , normal scale)	201 [7–29 316]	209 [7–29 316]	183 [7–15 818]
Baseline CA-125 (U·mL ⁻¹ , Box–Cox transformed data)	3.48 [1.64–4.83]	3.50 [1.69–4.83]	3.44 [1.64–4.72]
$\Delta CA125^2$ (U·mL ⁻¹ , Box–Cox transformed data)	0.15 [–0.13–0.60]	0.14 [–0.05–0.57]	0.17 [–0.13–0.59]
Fractional change in CA-125 in normal scale (mm)	0.68 [–1.24–0.99]	0.66 [–1.17–0.99]	0.69 [–1.24–0.99]
Age (years)	61.2 [27.1–82.5]	61.0 [29.5–82.5]	61.9 [27.1–79.7]
Treatment: carboplatin–paclitaxel	283 (53%)	179 (50%)	104 (58%)
Carboplatin–pegylated liposomal doxorubicin	251 (47%)	177 (50%)	74 (42%)
Lesion number: =1	163 (30%)	112 (31%)	51 (29%)
>1	371 (70%)	244 (69%)	127 (71%)
Target lesion size: <5 cm	389 (73%)	249 (70%)	140 (79%)
>5 cm	145 (27%)	107 (30%)	38 (21%)
Patient therapy-free interval (months): ≤12	199 (37%)	134 (38%)	65 (37%)
>12	335 (63%)	222 (62%)	113 (63%)

Results

Data management

A total of 297 patients with non-measurable disease were excluded from the analysis. After selecting patients (Supplementary S5, online only), data from 534 patients were available for modeling analysis with a median of 10 CA-125 values and four tumor size observations per subject. The value of the power parameter λ for the CA-125 Box–Cox transformation was estimated at -0.16 .

Patient characteristics are presented in Table 1. After random data-splitting, the learning dataset contained 356 patients and the validation dataset contained 178 patients. The patient characteristics were similar in both datasets (Table 1).

Screening for significant predictive factors

Using univariate exploratory analysis, four independent predictive factors of PFS remained significant: modeled fractional changes in longitudinal CA125 from baseline to week 6 ($\Delta CA125$), modeled fractional changes in tumor size from baseline to week 6 (ΔTS), baseline CA-125 ($CA125_{BL}$), and patient therapy-free interval (≤ 12 months vs. > 12 months). Larger patient therapy-free intervals (HR = 0.95, $P = 0.018$), higher $\Delta CA125$ (HR = 0.22, $P = 0.002$), and higher ΔTS (HR = 0.35, $P = 0.016$) were associated with better PFS. Higher baseline CA-125 value was associated with poorer prognosis (HR = 1.27, $P = 0.024$).

We also explored the modeled fractional changes in CA-125 and tumor size from baseline to week 8 (56 days, corresponding to two cycles of carboplatin-pegylated liposomal doxorubicin), weeks 10 and 12 as potential predictors of PFS. The results were similar to those at week 6. Therefore, we retained the earliest predictor.

Development of the parametric survival model

A log-logistic distribution assuming a non-monotonic hazard best described the PFS data based on probability plots and statistical tests (not shown). The PFS could be expressed as a function of an intercept parameter (α_0), a scale parameter (σ), and a slope parameter for each covariate X (α_X), as described in Supplementary S6 (online only).

After stepwise forward addition and backward elimination of the significant predictive factors, the final model included the modeled fractional change in CA-125 from baseline to week 6 ($\Delta CA125$) as the only significant covariate. Parameter values and their precision for estimation are provided in Table 2. All parameters were well estimated with relative standard errors (RSEs) typically less than 25%. The model predicted that a 0.1 unit increase in $\Delta CA125$ increases the median PFS by 9.19%.

Of note, the modeled fractional change in tumor size from baseline to week 6 (ΔTS) was not a significant predictor after backward elimination when CA-125-related covariates were taken into account. We developed a tumor size-based model composed of ΔTS as the only covariate for comparison purposes. According to the AIC (CA-125-based model = 4204 vs. tumor size-based model = 4213) and diagnostic plots, the CA-125-based model (i.e., the model composed of $\Delta CA125$)

was a better predictor of PFS than the model using tumor size data (i.e., the model composed of ΔTS).

Internal and advanced internal evaluation

As explained in Supplementary S4, simulation-based tests were performed [22]. Fig. 2 shows the plots for the internal and advanced internal evaluations. In both, the observed Kaplan–Meier curve was comprised within the 95% CI of the median of the simulations.

Practical applications of the model

The CA-125-based model was applied to predict the expected median PFS based on the patient-modeled CA-125 kinetics. Two groups of patients were dichotomized based on individual $\Delta CA125$ medians: slow-responders with modeled $\Delta CA125 < \text{median}$ and rapid-responders with modeled $\Delta CA125 \geq \text{median}$. The patient characteristics were similar in both groups (Supplementary S7). The PFS curves for both groups are shown in Fig. 3. As described in the table, the observed median PFS was included in the 95% CI of the predicted median

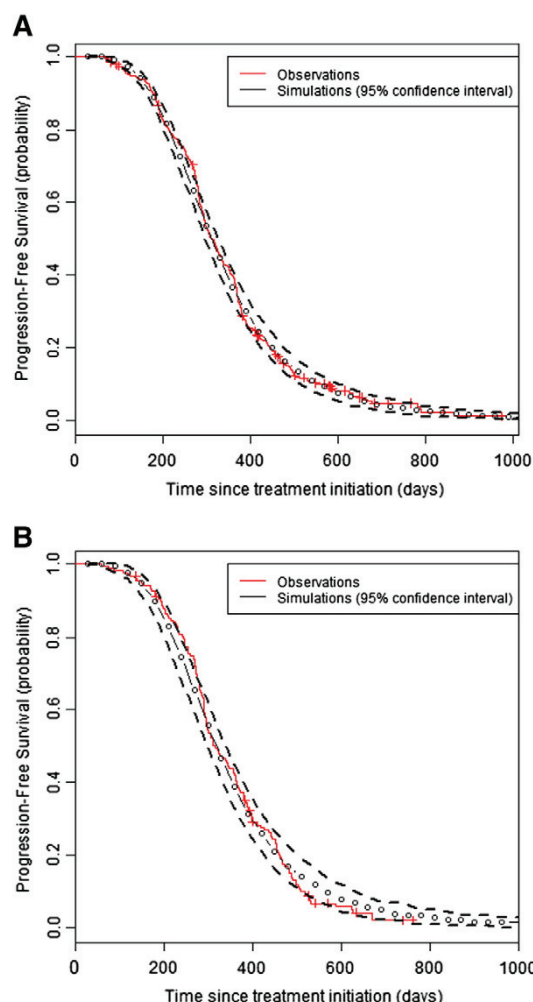
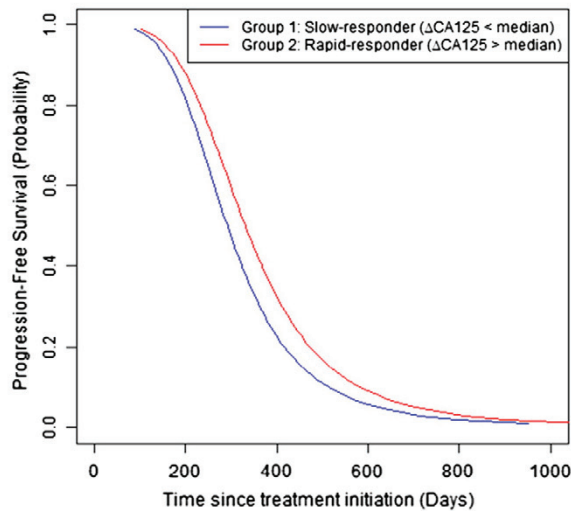


Fig. 2. Graphics for internal (A) and advanced internal (B) validations of the parametric survival model. The red curve corresponds to the observed PFS probability over time, and black curves correspond to the simulated PFS probability with its 95% confidence interval.

Table 2
Parameter estimates of the parametric survival model (equation in Supplementary 6) with significant predictive factors of PFS (SE: standard error, AIC: Akaike Information Criteria).

Parameter	Estimate	Relative SE (%)	Time ratio	Wald P-value
α_0	5.612	0.7	–	–
$\alpha_{\Delta CA125}$	0.879	24.2	2.409	<0.001
σ	0.257	4.6	–	–
AIC	4204	–	–	–



Group	Number of	Median observed	Median predicted PFS
	patients	PFS (days)	[95% CI] (days)
1 – Slow-responder	178	294	291 [274 - 309]
2 – Rapid-responder	178	339	331 [314 - 348]

Fig. 3. Predicted PFS curves for rapid-responders and slow-responders. The blue line corresponds to the slow-responder group, whereas the red line corresponds to the rapid-responder group.

PFS, suggesting the ability of the model to predict median PFS based on the modeled changes in CA-125. As expected, the rapid-responders had a better prognosis than slow-responders regarding median PFS (331 [314–348] days vs. 291 [274–309] days).

The model also enabled calculation of the increase in ΔCA125 required to observe a predetermined PFS benefit, as shown in Fig. 4. A “new” strategy leading to a ΔCA125 increase of 0.11 or 0.46 unit

compared to a “reference” strategy would result in a 10% or 50% improvement in PFS, respectively. For example, considering that the reference treatment, associated with median PFS of 310 days, induces a median ΔCA125 of 0.14, a new strategy should target a median ΔCA125 of 0.25 and 0.60 to obtain a 10% and 50% improvement in PFS (i.e., median PFS of 341 and 465 days), respectively.

Discussion

Gains in survival remain the primary endpoint for assessing the benefit offered by novel drugs in patients with advanced ovarian cancer [23]. However, such a time-demanding endpoint is not affordable in early phase trials, and the development of surrogate endpoints capable of reducing the time required to evaluate new treatments during drug development is needed [2].

Using a model-based strategy similar to that reported by Claret et al. in advanced and metastatic colorectal cancer patients, we developed a parametric model linking longitudinal modeled CA-125 kinetics with PFS in treated ROC patients using the data from the CALYPSO phase III trial [6].

Some of the significant predictive factors associated with PFS that we identified during the screening step are consistent with the literature. The predictive values of baseline CA-125 and patient therapy-free interval regarding PFS were already reported by Lee et al. [24]. Moreover, the link between changes in tumor size and PFS was already suggested by Lindbom et al., who developed a parametric survival model based on changes in tumor size at the second visit with the data from 360 advanced ovarian cancer patients [25]. For the first time, the present study shows that the modeled longitudinal change in CA-125 from baseline to week 6 is a predictive biomarker of PFS. The predictive value of decreased CA-125, dichotomized with a cutoff at 50%, has been adopted by the GCIg as a defined response for clinical

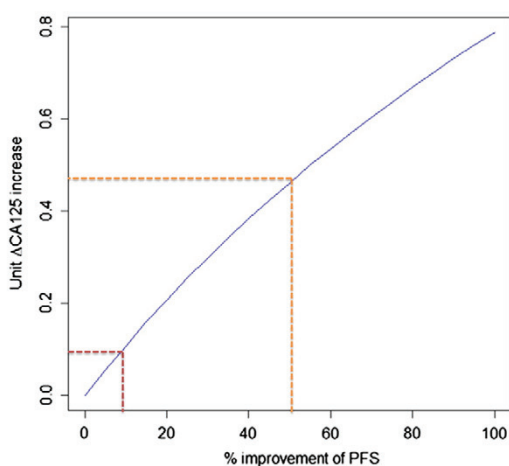


Fig. 4. Increase in ΔCA125 required to observe a predetermined PFS benefit. The blue curve is the prediction of the ΔCA125 increase for different percentage improvements of PFS. Red and orange dotted lines are examples for 10% and 50% improvement of PFS.

trials, but this was recently called into question [7]. Lee et al. demonstrated that this binary parameter and early response (complete or partial response) are not proper surrogates for PFS [8]. The inconsistency between our outcomes and the literature may be due to differences in methodology. Lee et al. included these parameters in Cox models as binary variables (i.e., early decline vs. no early decline, and early response vs. no early response), but we considered fractional changes in modeled CA-125 and tumor size as continuous patient-level variables, thereby offering greater statistical power, and less impact of inter- and intra-individual variability on kinetic parameter estimates [26]. This finding would be consistent with recent studies suggesting that longitudinal assessment of CA-125 kinetics is more accurate for ovarian cancer screening compared to a unique threshold [10,11]. On the other hand, Lee et al. also explained the poor surrogate value of the CGIC-defined CA-125 response by differences in the dosing schedules of treatment arms (e.g., every 3 weeks for carboplatin–paclitaxel and every 4 weeks for carboplatin-LPD). This finding would suggest a limited value of this kinetic parameter as a decision tool in developing study drugs with different dosing schedules. In contrast, we did not find any regimen (CP vs. CD) effect on PFS, due to the reduction of the number of patients leading to a lack of statistical power to detect a treatment effect. Furthermore, we did not find an impact of assessment time frames (e.g., 6, 8, 10 or 12 weeks) on outcomes.

In our analysis, the modeled kinetics of CA-125 appeared to be a better predictor of PFS than changes in tumor size, which provides interesting perspectives, as blood samples are easier and cheaper to obtain than imaging assessments. Internal and advanced internal validations demonstrated the strong prediction ability of the model. This model may be used to predict the expected gain in PFS based on early changes in CA-125 titers, or the change in CA-125 decrease required to observe a predetermined PFS benefit in populations of treated ROC patients.

This model framework may be useful for predicting the expected PFS gain in phase III trial based on early phase II clinical data (CA-125 changes) using simulations, as well as for designing clinical trials by targeting specific risk groups. Consequently, we think that this parametric and drug-independent time-to-event model may be a helpful support for go/no go drug development decisions and as an assessment tool for clinical trials.

Our study has some limitations. This work was an unplanned retrospective study of the CALYPSO phase III trial; our results are bound to the patient population enrolled in the CALYPSO trial and the treatments administered. The findings may not be applicable to other patient populations or other regimens. The model will have to be confirmed in another cohort of patients treated with other drugs. We have planned to validate these outcomes, by collaboration with the GINECO, on the databases of other phase III trials (AGO-OVAR 5, 7 and 9) [27–29]. The longitudinal decline in CA-125 analyzed using models could potentially be considered as a surrogate endpoint. However, only meta-analyses of randomized trials are validated to characterize the statistical surrogate value of a marker in regard to survival [30].

Despite these limitations, we report the first parametric model of survival that quantifies the association between PFS and modeled longitudinal CA-125 kinetics in ROC patients based on an approach that was previously reported for other cancers [5]. Although model building is a complex process, models could be easily implemented during clinical trials. An online program integrating the models could automatically predict the median PFS based on few CA-125 time-points of ovarian cancer patients during treatment. The modeled declines in CA-125 may be promising predictive markers of the expected gain in PFS, thereby embodying an early predictive tool for comparing the expected clinical responses of new compounds with respect to reference treatments during drug development.

Conflict of interest statement

The authors have declared no conflict of interest.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data to this article can be found online at <http://dx.doi.org/10.1016/j.ygyno.2014.04.003>.

References

- [1] Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011;61:69–90.
- [2] Kola I, Landis J. Can the pharmaceutical industry reduce attrition rates? *Nat Rev Drug Discov* 2004;3:711–5.
- [3] Eisenhauer EA, Therasse P, Bogaerts J, Schwartz LH, Sargent D, Ford R, et al. New response evaluation criteria in solid tumours: revised RECIST guideline (version 1.1). *Eur J Cancer* 2009;45:228–47.
- [4] Wang Y, Sung C, Dartois C, Ramchandani R, Booth BP, Rock E, et al. Elucidation of relationship between tumor size and survival in non-small-cell lung cancer patients can aid early decision making in clinical drug development. *Clin Pharmacol Ther* 2009;86:167–74.
- [5] Claret I, Girard P, Hoff PM, Van Cutsem E, Zuideveld KP, Jorga K, et al. Model-based prediction of phase III overall survival in colorectal cancer on the basis of phase II tumor dynamics. *J Clin Oncol* 2009;27:4103–8.
- [6] Claret I, Girard P, O'Shaughnessy J. Model-based predictions of expected anti-tumor response and survival in phase III studies based on phase II data of an investigational agent. *J Clin Oncol* 2006;24:307s [Suppl]; abstr 6025].
- [7] Rustin GJ, Quinn M, Thigpen T, du Bois A, Pujade-Lauraine E, Jakobsen A, et al. Re: new guidelines to evaluate the response to treatment in solid tumors (ovarian cancer). *J Natl Cancer Inst* 2004;96:487–8.
- [8] Lee CK, Friedlander M, Brown C, GebSKI VJ, Georgouloupoulos A, Vergote I, et al. Early decline in cancer antigen 125 as a surrogate for progression-free survival in recurrent ovarian cancer. *J Natl Cancer Inst* 2011;103:1338–42.
- [9] Almufti R, Wilbaux M, Oza A, Henin E, Freyer G, Tod M, Colomban O, You B. A critical review of the analytical approaches for circulating tumor biomarker kinetics during treatment. *Ann Oncol* 2013;25:41–56.
- [10] Xu JL, Commins J, Partridge E, Riley TL, Prorok PC, Johnson CC, et al. Longitudinal evaluation of CA-125 velocity and prediction of ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 2012;125:70–4.
- [11] Drescher CW, Shah C, Thorpe J, O'Brian K, Anderson GL, Berg CD, et al. Longitudinal screening algorithm that incorporates change over time in CA125 levels identifies ovarian cancer earlier than a single-threshold rule. *J Clin Oncol* 2012;31:387–92.
- [12] Wilbaux M, Henin E, Oza A, Colomban O, Pujade-Lauraine E, Freyer G, Tod M, You B. Prediction of tumour response induced by chemotherapy using modelling of CA-125 kinetics in recurrent ovarian cancer patients. *Br J Cancer* 2014;110:1517–24.
- [13] Pujade-Lauraine E, Wagner U, Avall-Lundqvist E, GebSKI V, Heywood M, Vasey PA, et al. Pegylated liposomal doxorubicin and carboplatin compared with paclitaxel and carboplatin for patients with platinum-sensitive ovarian cancer in late relapse. *J Clin Oncol* 2010;28:3323–9.
- [14] Box GEP, Cox DR. An analysis of transformations. *J R Stat Soc Ser B Methodol* 1964;26:211–52.
- [15] Kaplan EL, Meier P. Nonparametric estimation from incomplete observations. *J Am Stat Assoc* 1958;53:457–81.
- [16] Cox DR. Regression models and life-tables. *J R Stat Soc Ser B Methodol* 1972;34:187–220.
- [17] Kleinbaum D, Klein M. Parametric survival models. *Survival analysis*. New York: Springer; 2012. p. 289–344.
- [18] Akaike H. Information theory and an extension of the maximum likelihood principle. Second international symposium on information theory. Budapest: Akademiai Kiado; 1973.
- [19] Beal SL, Sheiner LB, Boeckmann A, Bauer RJ. NONMEM user's guides (1989–2009). Ellicott City, MD, USA: Icon Development Solutions; 2009.
- [20] Lindbom L, Ribbing J, Jonsson EN. Perl-speaks-NONMEM (PsN)—a Perl module for NONMEM related programming. *Comput Methods Programs Biomed* 2004;75:85–94.
- [21] R Development Core Team. R: a language and environment for statistical computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing; 2010.
- [22] Eisenhauer EA. Optimal assessment of response in ovarian cancer. *Ann Oncol* 2011;22(Suppl. 8):viii49–51.
- [23] Lee CK, Simes RJ, Brown C, Lord S, Wagner U, Plante M, et al. Prognostic nomogram to predict progression-free survival in patients with platinum-sensitive recurrent ovarian cancer. *Br J Cancer* 2011;105:1144–50.
- [24] Lindbom L, Claret I, Andre V, Cleverly A, de Alwis D, Bruno R. A drug-independent tumor size reduction-survival model in advanced ovarian cancer to support early clinical development decisions. *ACOP*; 2009.
- [25] Karrison TG, Maitland ML, Stadler WM, Ratain MJ. Design of phase II cancer trials using a continuous endpoint of change in tumor size: application to a study of sorafenib and erlotinib in non-small-cell lung cancer. *J Natl Cancer Inst* 2007;99:1455–61.
- [26] du Bois A, Herrstedt J, Hardy-Bessard AC, Muller HH, Harter P, Kristensen G, et al. Phase III trial of carboplatin plus paclitaxel with or without gemcitabine in first-line treatment of epithelial ovarian cancer. *J Clin Oncol* 2010;28:4162–9.
- [27] du Bois A, Weber B, Rochon J, Meier W, Goupil A, Olbricht S, et al. Addition of epirubicin as a third drug to carboplatin–paclitaxel in first-line treatment of advanced ovarian cancer: a prospectively randomized gynecologic cancer intergroup trial by the Arbeitsgemeinschaft Gynaekologische Onkologie Ovarian Cancer Study

- Group and the Groupe d'Investigateurs Nationaux pour l'Etude des Cancers Ovariens. *J Clin Oncol* 2006;24:1127–35.
- [28] Pfisterer J, Weber B, Reuss A, Kimmig R, du Bois A, Wagner U, et al. Randomized phase III trial of topotecan following carboplatin and paclitaxel in first-line treatment of advanced ovarian cancer: a gynecologic cancer intergroup trial of the AGO-OVAR and GINECO. *J Natl Cancer Inst* 2006;98:1036–45.
- [29] Buyse M, Sargent DJ, Grothey A, Matheson A, de Gramont A. Biomarkers and surrogate end points—the challenge of statistical validation. *Nat Rev Clin Oncol* 2010;7:309–17.
- [30] Yano Y, Beal SL, Sheiner LB. Evaluating pharmacokinetic/pharmacodynamic models using the posterior predictive check. *J Pharmacokinet Pharmacodyn* 2001;28:171–92.

SUPPLEMENTARY MATERIAL – PUBLICATION II

Supplement S1: Box Cox transformation:

Many important statistical analysis results follow the assumption that the population being sampled or investigated is normally distributed. The Box-Cox transformation can be used to make the residual error more similar to a normal distribution. The Box-Cox transformation of CA-125 with power parameter λ is defined as ¹:

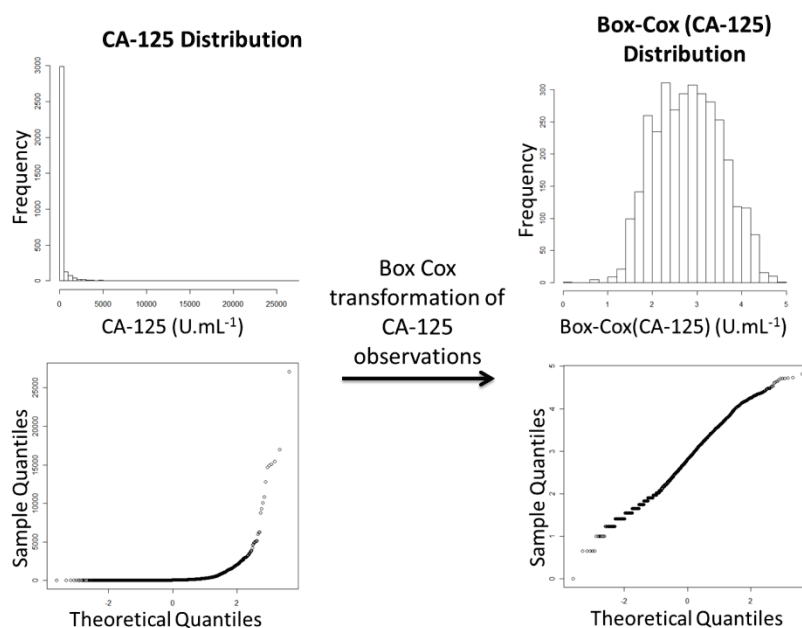
$$CA\ 125'_{\lambda} = \frac{CA\ 125^{\lambda} - 1}{\lambda}$$

λ was calculated in R, using the *powertransform* function of the *car* package ².

The log-transformation is a special-case of the Box-Cox transformation, where λ is equal to 0.

In our dataset, a λ value of -0.16 was estimated to approximate a normal distribution of the Box-Cox transformed CA-125 concentrations.

The following figure shows the CA-125 distribution before and after Box-Cox transformation:



Supplement S2: Assessment of modeled fractional changes in tumor size and CA-125 at the end of week 6 duration:

Tumor sizes (log-transformed) and CA-125 titers (Box-Cox transformed) were used to calculate (Eqs. 1 and 2) fractional changes in tumor size (ΔTS) and CA-125 ($\Delta CA125$) modeled continuously from baseline (BL) to week 6 (42 days, corresponding to two cycles of carboplatin–paclitaxel):

$$\Delta TS = \frac{TS_{BL} - TS_{Week6}}{TS_{BL}} \quad 1.$$

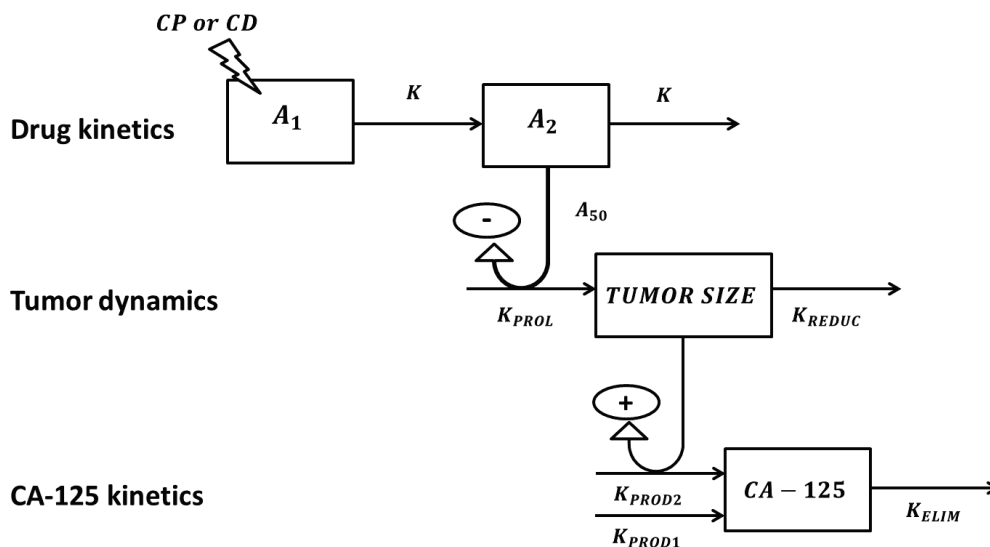
$$\Delta CA125 = \frac{CA125_{BL} - CA125_{Week6}}{CA125_{BL}} \quad 2.$$

Because observations at week 6 were not available for all patients, tumor size and CA-125 titers were predicted using the previously reported K-PD semi-mechanistic model linking tumor dynamics to CA-125 kinetics during chemotherapy treatment³. The model structure is presented below. Thus, dependence on the experimental design was removed and the issue of missing data avoided. The model was implemented using the CA-125 concentrations, tumor size values, and chemotherapy dates available in the CALYPSO database. The NONMEM 7™ program and PsN™ suite were used to predict CA-125 and tumor size kinetics from the semi-mechanistic model^{4,5}.

Since log and Box-Cox transformations have to be done before the ΔTS and $\Delta CA125$ calculations, they cannot be expressed in a normal scale.

Supplement S3: K-PD semi-mechanistic model:

The K-PD semi-mechanistic model we used to predict tumor size and CA-125 values was as follows³:



A semi-mechanistic model is defined as a compartmental model with minimal physiological components. A K-PD approach was used for the kinetics of the drug effect. The model contained three outputs with corresponding sets of equations: drug kinetics, tumor dynamics, and CA-125 kinetics.

* The drug kinetics were described by a two compartment K-PD model: a central compartment (A1) receiving the treatment and a transit compartment (A2) allowing a lag time before the drug effect, which is typical of anticancer drugs.

* Tumor dynamics were dependent on the treatment effect, acting as an inhibitor of tumor growth in a saturable manner.

* The CA-125 kinetics were described with an indirect model including production and elimination rates. To account for CA-125 production by both cancer tissues and normal tissues, two production rates were considered: KPROD1, the CA-125 basal production rate by normal tissue, and KPROD2, the CA-125 production rate by a stationary tumor.

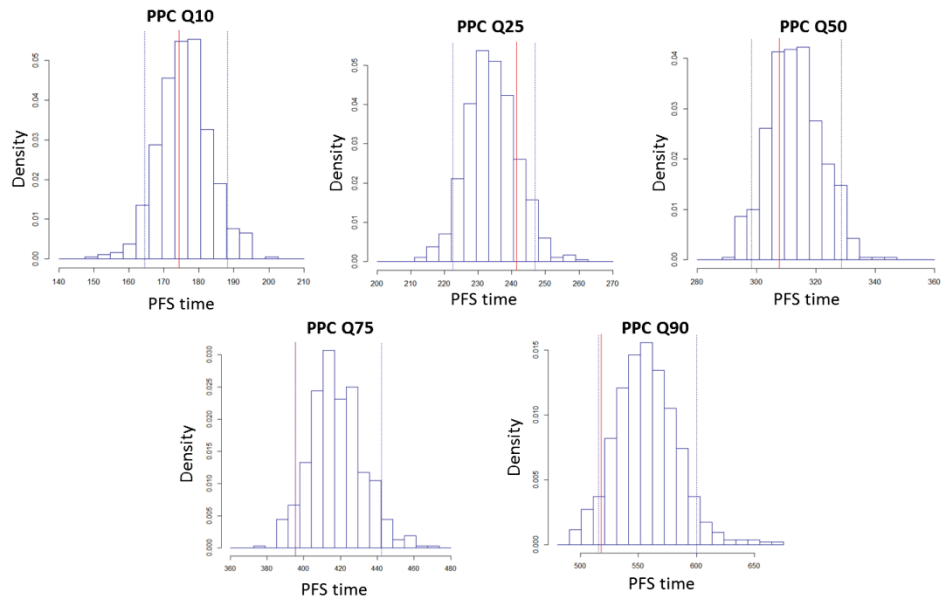
Supplement S4: Internal and advanced internal evaluation:

The model was internally evaluated using diagnostic plots, and the ability to predict PFS was tested using Visual Predictive Check (VPC) ⁶. A total of 500 replicates of PFS distributions were simulated for patients from the learning dataset based on the model and its estimated parameters. Median survival curves and 95% confidence intervals (CIs) were computed across the replicates. To validate the model, the observed survival curve should be within the simulated 95% CI.

An advanced internal evaluation was done using VPC by comparing observed survival and simulated survival in the validation dataset.

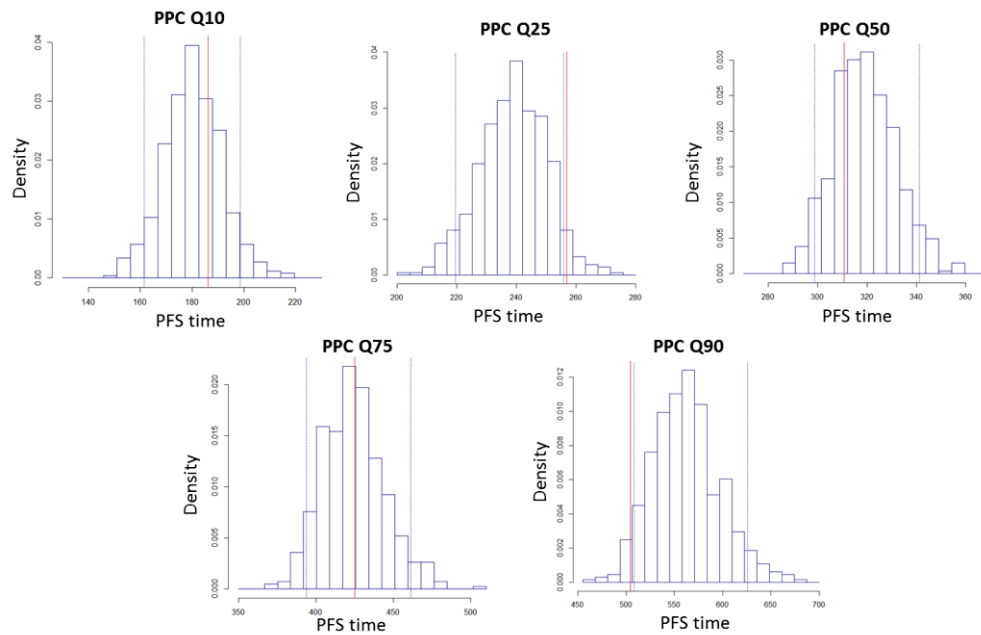
Another graphical evaluation criterion was used: the posterior predictive check, or PPC. 500 replicates of PFS times were simulated for patients from the learning dataset based on the model and its estimated parameters. The distribution of simulated PFS times and its 95% confidence interval were represented at different quantiles (10%, 25%, 50%, 75% and 90%), and was compared with the observation. The following figure shows the PPC for the internal evaluation:

Chapitre II – Modélisation de la cinétique du CA-125 dans le cancer de l’ovaire



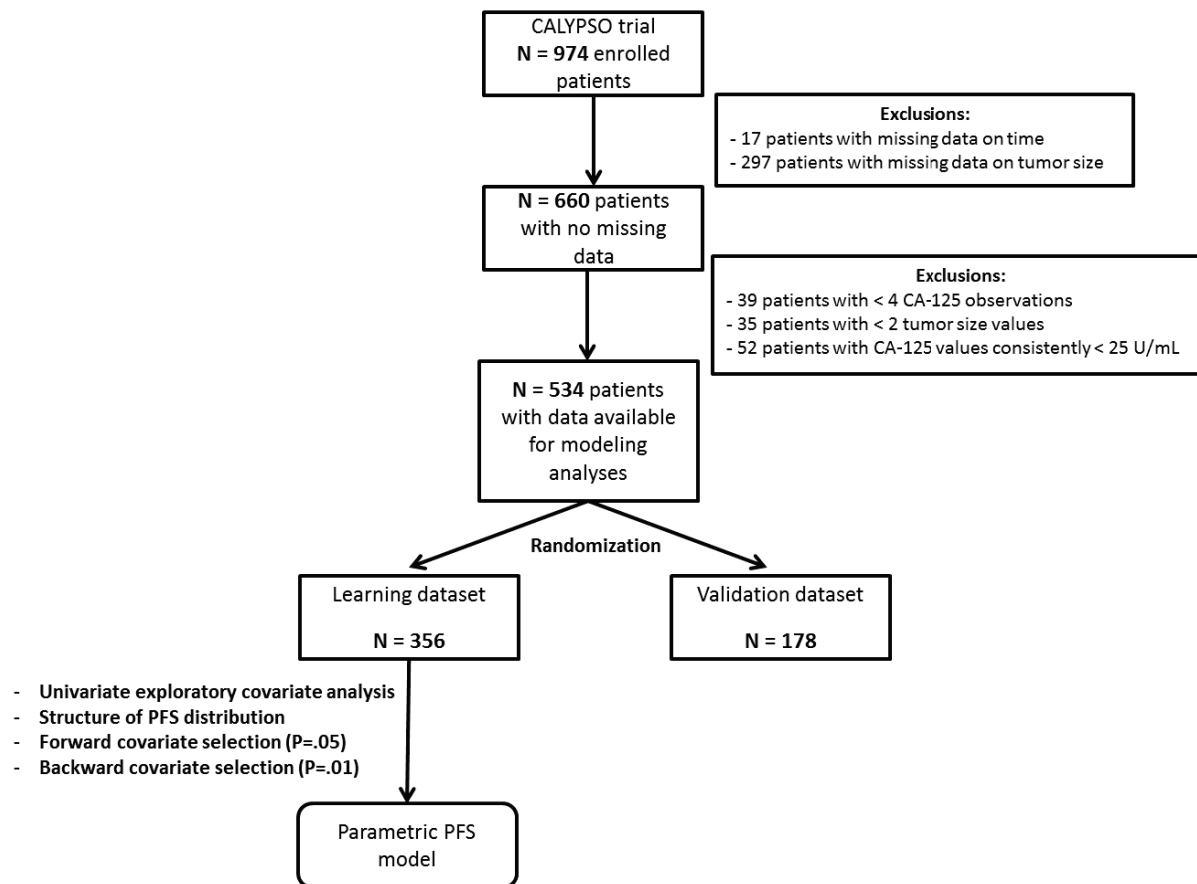
Blue lines correspond to the 95% confidence interval of the simulated PFS times for each quantile. Red lines are the observed PFS time for each quantile.

The following figure shows the PPC for the advanced internal evaluation:



Blue lines correspond to the 95% confidence interval of the simulated PFS times for each quantile. Red lines are the observed PFS time for each quantile.

Supplement S5: Selection of patients included in the present study:



Supplement S6: Log-logistic parametric model:

The logarithm of median PFS can be expressed as a function of an intercept parameter (α_0), a scale parameter (σ), and a slope parameter for each covariate X (α_X) (Eq. 3).

$$\log(PFS) = \alpha_0 + \sigma \times \log\left(\frac{1-S(T)}{S(T)}\right) + \alpha_X \times X \quad 3.$$

In Eq. 3, $S(t)$ is the log-logistic survival function defined as the probability that an individual survives longer than a specified time.

Exponentiated coefficients (e^{α_X}) are interpreted as time ratios for a 1-unit change in the corresponding covariate; the expected median PFS is multiplied by e^{α_X} when increasing the value of covariate X by one unit.

- [5] Lindbom L, Ribbing J, Jonsson EN. Perl-speaks-NONMEM (PsN)--a Perl module for NONMEM related programming. *Comput Methods Programs Biomed* 2004;75: 85-94.
- [6] Yano Y, Beal SL, Sheiner LB. Evaluating pharmacokinetic/pharmacodynamic models using the posterior predictive check. *J Pharmacokinet Pharmacodyn* 2001;28: 171-9

CHAPITRE III -
MODELISATION DES
CINETIQUES DES CTC_s
ET DU PSA DANS LE
CANCER DE LA
PROSTATE

I- RESUME

Dans les cancers de la prostate, la plupart des décès sont secondaires au développement des métastases, notamment au niveau osseux, où les techniques d'imagerie ne permettent pas de mesurer la charge tumorale. De plus, la validité de l'utilisation du PSA en tant que critère de substitution pour évaluer l'effet des traitements reste assez controversée (Cary & Cooperberg, 2013). C'est pourquoi de nouveaux marqueurs tumoraux sont en pleine émergence. Parmi ceux-ci, les CTCs commencent à être largement étudiées, suite à leur approbation par la FDA pour leur utilisation dans l'évaluation des cancers de prostate métastatique (de Bono *et al*, 2008). Le suivi de la cinétique du nombre de CTCs dans les cancers métastatiques de la prostate est particulièrement pertinent, puisque ces cellules fournissent de l'information sur l'évolution de la charge tumorale totale, incluant la tumeur primaire et les métastases. Cependant, la cinétique des CTCs, ainsi que leur relation avec celle d'autres marqueurs, comme le PSA ou la taille tumorale, n'ont jamais été étudiées.

Le principal objectif de ce travail était de quantifier le lien dynamique entre les cinétiques de CTCs et de PSA chez des patients sous traitement pour un cancer de la prostate métastatique et résistant à la castration. Pour cela, un modèle complexe combinant plusieurs caractéristiques avancées de pharmacométrie a été construit.

Etant donné les difficultés liées à la détection et l'analyse des CTCs, le troisième chapitre de cette thèse est plus méthodologique que les précédents. Ce travail a fait l'objet d'un manuscrit, soumis à *Clinical Pharmacology & Therapeutics: Pharmacometrics & Systems Pharmacology* (Manuscrit III – Page 166).

1- PATIENTS ET DONNEES

Nous avons travaillé sur les données mises à disposition par J. De Bono (de Bono *et al*, 2008). Les observations de 223 patients atteints d'un cancer de la prostate métastatique et castration-résistant, ou mCRPC (*metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer*), ont été analysées. A un temps donné, les patients étaient susceptibles de recevoir trois types de traitements : chimiothérapie, hormonothérapie ou les deux simultanément. Nous ne disposons pas des données PK, mais uniquement des dates des cycles de chimiothérapie et d'hormonothérapie. En moyenne 4 valeurs de CTCs et de PSA étaient disponibles pour chaque patient. Les numérations de CTCs pour 7,5 mL de sang et les concentrations de PSA ($\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$) étaient observées à différents temps pendant traitement. La médiane des nombres de CTCs était égale à 2 CTCs/7,5 mL, avec des valeurs allant de 0 à 6437. De plus, une grande proportion de nombre de CTCs à 0 était observée. Enfin, les données ont été analysées durant les 6 premiers mois après initiation du traitement.

Les graphiques ci-dessous (*spaghetti-plot*) représentent tous les profils individuels de CTCs et de PSA en fonction du temps (Figure 29) :

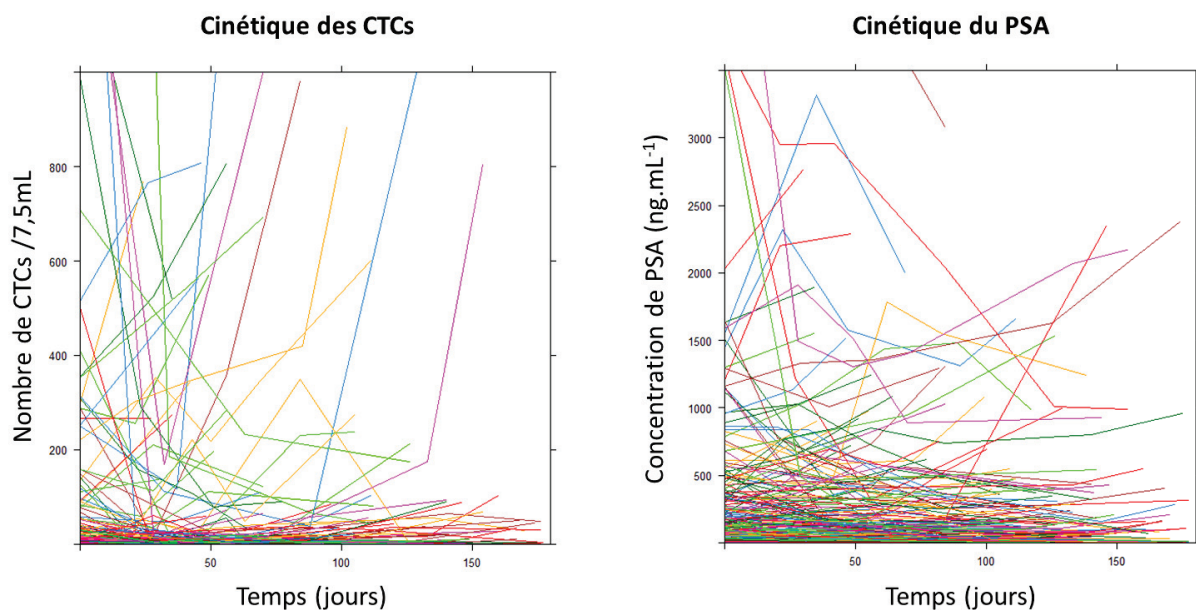


Figure 29 - Profils cinétiques du nombre de CTCs et du PSA.

Ces graphiques montrent une grande variabilité et non-homogénéité dans les profils. De plus, les profils individuels des cinétiques conjointes de PSA et CTCs étaient très différents selon les patients : certains avec des cinétiques parallèles, d'autres avec des profils divergents (cinétique plus rapide ou plus lente pour les CTCs comparée au PSA).

Enfin, le graphique ci-dessous représente le nombre de CTCs en fonction des concentrations de PSA (Figure 30) :

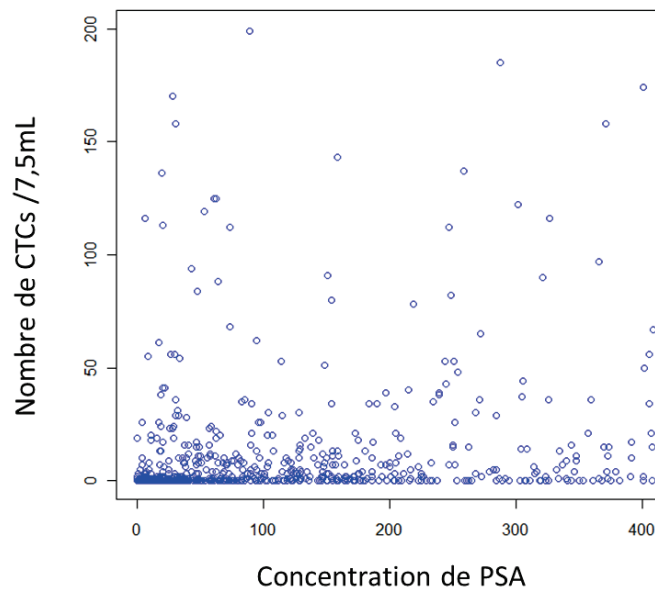


Figure 30 - Nombre de CTCs en fonction des concentrations de PSA.

Aucun lien direct n'est observé entre les nombres de CTCs et les concentrations de PSA, d'où l'intérêt de l'utilisation d'un modèle mathématique. En effet, l'absence de corrélation apparente peut être due à des cinétiques différentes des deux types de marqueurs.

2- MODELE RELIANT LES CINETIQUES DE CTCS ET PSA

Nous avons construit un modèle semi-mécanistique permettant de quantifier la relation dynamique entre les cinétiques de CTCs et de PSA pendant traitement chez des patients mCRPC.

a) Développement et caractéristiques du modèle

Le modèle a nécessité la prise en compte de plusieurs niveaux de complexité, combinant différents aspects méthodologiques de pharmacométrie. La structure simplifiée du modèle a été représentée dans la Figure 31 :

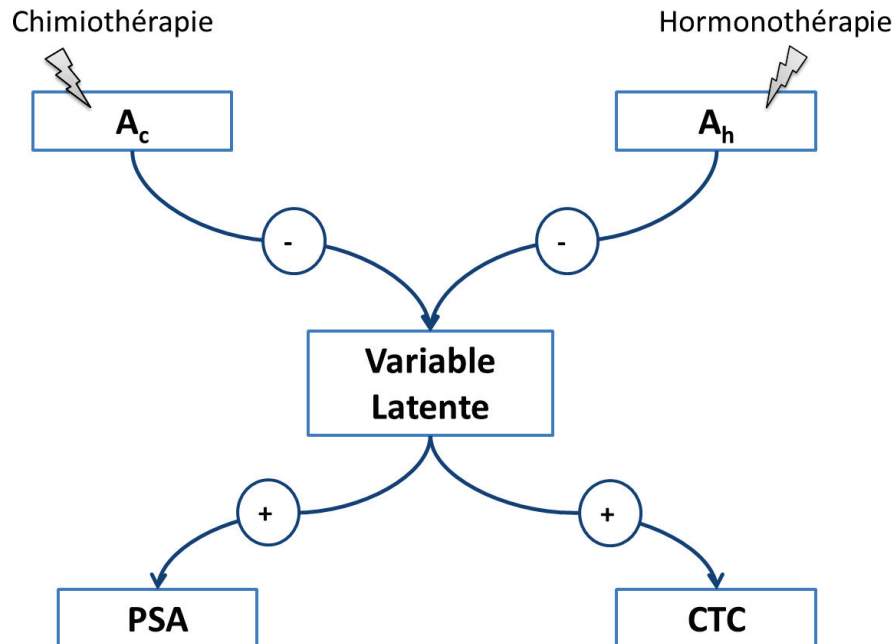


Figure 31 - Représentation simplifiée du modèle reliant les cinétiques de CTCs et PSA.

i. Cinétiques des traitements

Etant donné l'absence de données PK, une approche K-PD a été utilisée pour décrire la cinétique des effets des traitements (Jacqmin *et al*, 2007). Les administrations de chimiothérapie et d'hormonothérapie ont été affectées à deux compartiments K-PD différents, permettant ainsi l'estimation de paramètres propres à chaque type de traitement pour la cinétique ainsi que pour l'efficacité.

ii. Relation dynamique entre les cinétiques de PSA et de CTCs

Les données de PSA et de CTCs n'ont aucun lien direct ; cependant, nous avons émis l'hypothèse que les cinétiques de ces deux marqueurs étaient influencées par une variable commune. Ainsi, une variable latente, définie comme une variable sous-jacente non-observée, a été utilisée pour relier les cinétiques de PSA et de CTCs (Hu, 2014). La

cinétique de la variable latente a été décrite par une constante de production d'ordre 0 et une constante de vitesse d'élimination d'ordre 1. De plus, les traitements sont supposés agir en inhibant sa production. Enfin, cette variable latente peut être interprétée, dans notre cas, comme représentant la charge tumorale, ou la partie de la tumeur sécrétant le PSA et les CTCs.

iii. Modélisation conjointe de deux types de données

Le PSA est une variable continue, alors que les CTCs correspondent à des données comptées. On parle de données comptées pour un nombre d'évènements comptés (dans notre cas, le nombre de CTCs) dans un intervalle de temps. Ce type de données correspond donc à des variables discrètes, impliquant des techniques de modélisation différentes de celles de données continues.

La variable latente, commune aux deux marqueurs, est supposée stimuler leur production. La cinétique du PSA a été décrite par un modèle indirect, alors que la cinétique des CTCs dans le sang total a été caractérisée par un modèle dit de *Cell lifespan*.

Le modèle de *Cell lifespan* permet de prendre en compte le délai dans la réponse par rapport à l'administration d'un médicament ; il est couramment utilisé pour la modélisation de la maturation des cellules sanguines, ou encore de l'apoptose des cellules tumorales (Krzyzanski & Perez Ruixo, 2012). Dans ce type de modèle, les cellules : i) sont produites à un taux constant (K_0) ; ii) survivent durant un certain temps, appelé le *Cell lifespan*, ou durée de vie de la cellule (LS) ; iii) et enfin meurent. La principale hypothèse du modèle de *Cell lifespan* est que chaque CTC a la même durée de vie ; ainsi, le taux d'élimination des CTCs au temps t est égal au taux de production des CTCs au temps $(t - LS)$. Ceci peut être résumé sur la figure suivante (Figure 32) :

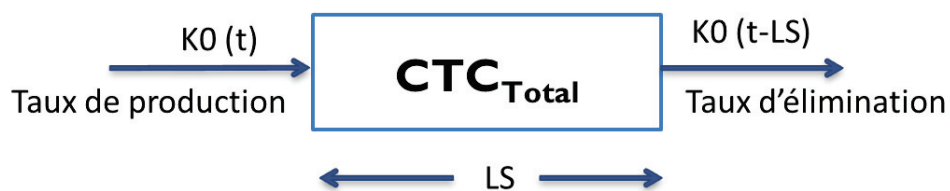


Figure 32 - Principe du modèle de *Cell lifespan*.

Sans aucune perturbation des CTCs, le taux de production est égal au taux d'élimination : le système est à l'équilibre. En revanche, si la production de CTCs est perturbée par une variation de la variable latente au temps t , l'impact sur le taux d'élimination sera retardé par LS , la durée de vie d'un CTC.

iv. Echantillonnage aléatoire des CTCs

Le volume total de sang est de l'ordre de 5 L chez un homme adulte. Le volume d'une aliquote pour la mesure des CTCs est de 7,5 mL. Le volume total représente donc $5000/7,5 = 667$ volumes d'aliquote. Le nombre de CTC présent dans ces 667 aliquotes subit une fluctuation d'échantillonnage, qui obéit, en première intention, à la loi de Poisson (Tibbe *et al*, 2007). Une distribution de Poisson peut être appliquée pour des données comptées distribuées de façon aléatoire dans un certain intervalle ou volume. Ainsi, la probabilité P qu'un volume de sang de 7,5 mL contienne un nombre n de CTCs est donnée par l'équation suivante :

$$P(CTC_{Obs} = n) = \frac{\lambda^n \times e^{-\lambda}}{n!}$$

λ correspond à la moyenne des CTCs observées dans l'aliquote. La principale hypothèse du modèle de Poisson est l'équidispersion : la moyenne des comptes est supposée égale à leur variance. Ainsi, λ correspond également à la variance des CTCs observées dans l'aliquote. Cependant, cette hypothèse est rarement respectée, et d'autres modèles plus complexes sont également disponibles (Plan *et al*, 2009).

Cela implique, par exemple, qu'un nombre de CTC observé égal à 0 ne signifie pas qu'aucun CTC n'est présent dans le sang total. Le nombre de CTC observé dans une aliquote de 7,5 mL (CTC_{Obs}) permet d'estimer le nombre de CTCs dans le volume de sang total de 5 L (CTC_{Total}), avec une certaine imprécision due à la fluctuation d'échantillonnage.

b) Formalisation du modèle

La structure générale, plus détaillée, du modèle semi-mécanistique peut être représentée par la figure suivante (Figure 33) :

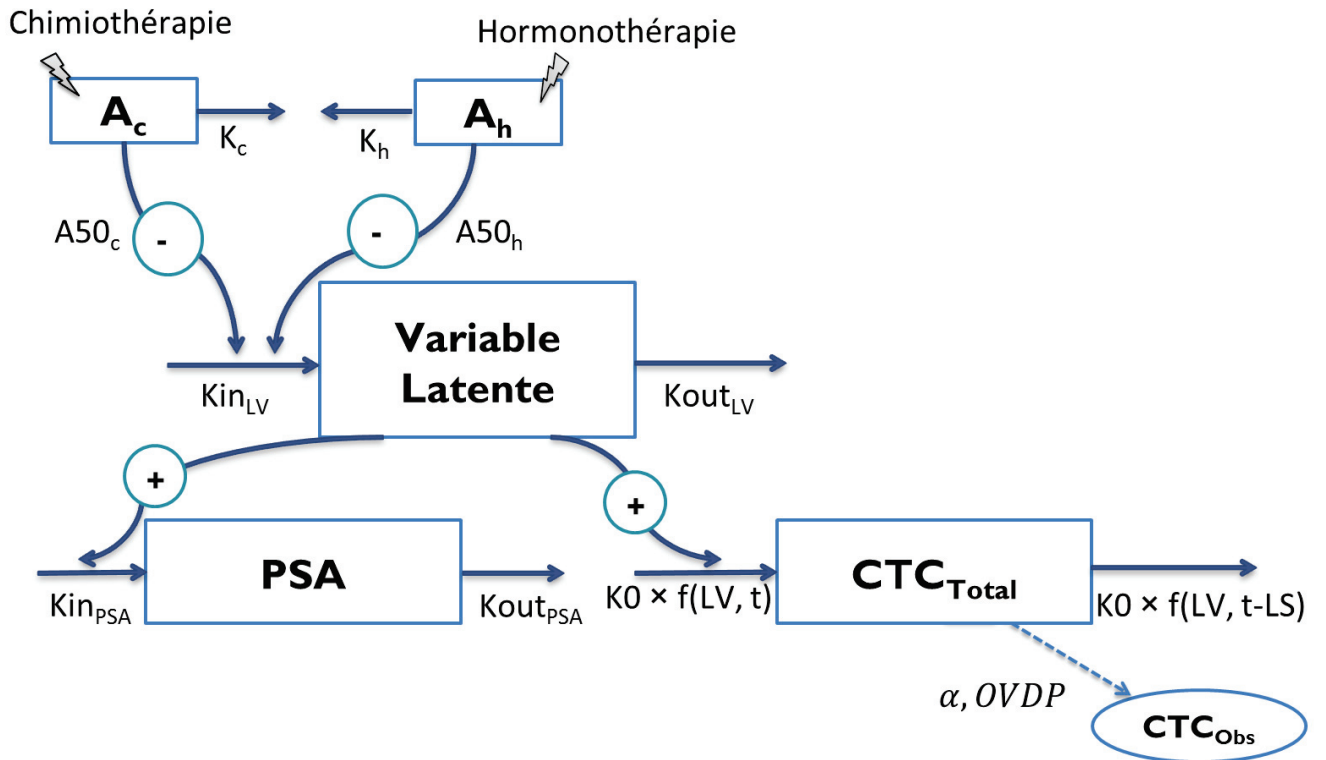


Figure 33 - Représentation compartimentale du modèle reliant les cinétiques de CTCs et PSA.

Les équations du modèle sont les suivantes :

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{dA_c}{dt} = -K_c \times A_c \\ \frac{dA_h}{dt} = -K_h \times A_h \\ \frac{dLV}{dt} = Kin_{LV} \times \left(1 - \frac{A_c}{A50_c + A_c}\right) \times \left(1 - \frac{A_h}{A50_h + A_h}\right) - Kout_{LV} \times LV \\ \frac{dPSA}{dt} = Kin_{PSA} \times LV - Kout_{PSA} \times PSA \\ \frac{dCTC_{Total}}{dt} = KO \times LV - KO \times LVD \end{array} \right.$$

A_c et A_h représentent les quantités de médicaments pour la chimiothérapie et l'hormonothérapie (Unité Arbitraire, UA). K_c et K_h caractérisent les cinétiques

d'élimination des deux types de traitements (jour⁻¹). A50_c et A50_h sont les quantités de médicaments (chimiothérapie et hormonothérapie) produisant 50% de l'effet maximal (UA). LV correspond à la variable latente (UA), et Kin_{LV} et Kout_{LV} aux taux de croissance/production et décroissance/élimination de cette variable (UA.jour⁻¹ et jour⁻¹). Kin_{PSA} et Kout_{PSA} sont les taux de production et d'élimination du PSA (ng.mL⁻¹.jour⁻¹.UA.⁻¹ et jour⁻¹). K0 correspond au taux de production des CTCs (cellules.jour⁻¹.UA.⁻¹). LVD correspond à la variable latente retardée par la durée de vie des CTCs, qui elle-même est gouvernée par les cinétiques retardées des traitements.

Les conditions initiales du modèle au temps 0 sont les suivantes :

$$\left\{ \begin{array}{l} A_c(0) = 0 \\ A_h(0) = 0 \\ LV(0) = LV_0 \text{ avec } LV_0 < \frac{Kin_{LV}}{Kout_{LV}} \\ PSA(0) = PSA_0 \\ CTC_{Total}(0) = K0 \times LS \times LV_0 \end{array} \right.$$

LV₀ et PSA₀ correspondent aux valeurs initiales de variable latente et de PSA (UA et ng.mL⁻¹). LS est la durée de vie des CTCs (*lifespan*) (jour).

En émettant l'hypothèse d'une répartition homogène des CTCs, nous avons appliqué un facteur d'échelle, α , au nombre de CTCs total (CTC_{Total}) prédit par le modèle de *Cell lifespan*, afin d'obtenir le nombre de CTCs attendu dans l'aliquote, λ :

$$\lambda = CTC_{Total} \times \alpha$$

$$\alpha = \frac{\text{Volume de l'aliquote}}{\text{Volume de sang total}} = \frac{7,5}{5000} = 0,0015$$

Enfin, différents modèles dérivés de la distribution de Poisson ont été testés pour prendre en compte l'échantillonnage aléatoire des observations de CTCs. Le modèle correspondant le mieux aux données était le modèle binomial négatif (*Negative Binomial*), de moyenne λ et de variance $\lambda \times (1 + OVDP \times \lambda)$. La probabilité d'observer un nombre de CTCs égal à n est la suivante :

$$P(CTC_{obs} = n) = \left[\frac{\Gamma(n + \frac{1}{OVDP})}{n! \times \Gamma(\frac{1}{OVDP})} \right] \times \left(\frac{1}{1 + OVDP \times \lambda} \right)^{\frac{1}{OVDP}} \times \left(\frac{\lambda}{\frac{1}{OVDP} + \lambda} \right)^n$$

Γ représente la fonction Gamma. Le paramètre λ correspond à la moyenne des comptes de CTCs (la valeur prédite par le modèle). OVDP est un paramètre de sur-dispersion, permettant de modéliser une variance supérieure à la moyenne. Lorsque le paramètre OVDP s'approche de 0, le modèle binomial négatif se rapproche du modèle de Poisson.

Afin de prendre en compte la variabilité inter-individuelle, le développement du modèle a été réalisé via une approche de population, avec le logiciel NONMEM 7.3. L'évaluation du modèle a été basée sur les critères de vraisemblance, les GOFs classiques, les valeurs des RSE et des *Shrinkage*, ainsi que les graphiques basés sur des simulations (Manuscrit III).

3- RESULTATS

D'après les critères d'évaluation du modèle, les cinétiques du PSA et des nombres de CTCs ont été correctement décrites par le modèle, et les performances prédictives ont été validées. Les détails concernant la validation du modèle, les graphiques ainsi que les paramètres estimés sont décrits dans le Manuscrit III de cette thèse. Nous avons également réalisé des simulations de cinétiques individuelles. Le modèle a permis la simulation de différents types de profils cinétiques individuels aussi hétérogènes que ceux que nous observons dans notre base de données.

Par ailleurs, le modèle a été utilisé pour simuler trois profils d'un patient typique sous différents types de traitements : i) un patient moyen traité par chimiothérapie seule ; ii) un patient traité par hormonothérapie seule ; et iii) un patient traité par chimiothérapie et hormonothérapie simultanément. Pour les trois cas, le patient recevait 6 cycles du traitement (soit 170 jours de traitement), et les cinétiques de CTCs, PSA et variable latente étaient simulées jusqu'à 300 jours (Manuscrit III). D'après ces simulations, la

cinétique des CTCs semblait être plus sensible aux variations de variable latente, comparé à la cinétique des concentrations de PSA.

Nous avons ensuite exploré, par simulations, les sensibilités des cinétiques de CTCs et de PSA aux changements de valeurs de la variable latente. Pour cela, une augmentation ainsi qu'une réduction de 50% de la variable latente initiale ont été simulées (Manuscrit III). Comme précédemment, les cinétiques des CTCs étaient plus sensibles aux variations de variable latente, et plus rapides que celles du PSA. Nous avons également exploré les profils au niveau individuel, prenant en compte la variabilité inter-individuelle ; la cinétique des CTCs était plus précoce chez 98% des individus simulés.

4- DISCUSSION ET CONCLUSION

Ce modèle est le premier modèle semi-mécanistique quantifiant la relation dynamique entre les cinétiques de nombre de CTCs et de concentration de PSA chez des patients atteints d'un cancer de la prostate métastatique. Ce modèle est complexe et atypique, puisqu'il combine différentes innovations de pharmacométrie :

- modélisation K-PD prenant en compte deux cinétiques et effets différents pour chaque type de traitement, chimiothérapie et hormonothérapie ;
- utilisation d'une variable latente pour relier les deux marqueurs, qui peut être interprétée comme la charge tumorale sécrétante ;
- modélisation conjointe de données comptées (CTCs) et de données continues (PSA) ;
- description des processus discrets de production et d'élimination des CTCs dans le sang total par un modèle de *Cell lifespan* ;
- prise en compte de l'échantillonnage de CTCs avec un modèle binomial négatif.

Le modèle a permis de prendre en compte les principaux défis liés à l'analyse et la numération des CTCs : i) le processus de production discret des CTCs ; ii) l'erreur d'échantillonnage distribuée selon une loi de type Poisson ; iii) la prise en compte de la sur-dispersion des nombres de CTCs ; et iv) la fréquence importante de nombre de CTCs

à 0. Etant donné la distribution des nombres de CTCs, nous avons décidé de décrire leurs cinétiques dans le sang total, avant de se mettre à l'échelle de l'aliquote, au lieu de modéliser directement une cinétique de concentration dans les 7,5 mL. Ceci nous a également permis d'obtenir des estimations plus réalistes des paramètres de production et de durée de vie des CTCs. L'évaluation interne du modèle, basée sur les GOFs et les VPCs a permis de démontrer la capacité prédictive du modèle pour les cinétiques du PSA et des nombres de CTCs.

Enfin, des simulations réalisées avec le modèle ont permis de montrer que les CTCs semblaient être un marqueur plus précoce que le PSA pour 98% des individus simulés. Ce constat va dans le sens des récentes recherches qui encouragent l'utilisation des CTCs à la place du PSA, car meilleur prédicteur de la survie (de Bono *et al*, 2008; Goldkorn *et al*, 2014; Scher *et al*, 2009).

Cependant, certaines limitations peuvent réduire l'impact de ce modèle. L'utilisation d'une variable latente, non-observée, peut être discutable et confuse pour des cliniciens. De plus, le modèle utilisé est une simplification de la réalité ; certains phénomènes, comme l'auto-ensemencement décrit par Kim *et al*, ou la production de PSA par les CTC eux-même, n'ont pas été pris en compte (Kim *et al*, 2009). Enfin, ce modèle doit être relié à un paramètre clinique pertinent afin de pouvoir être utilisé en pratique clinique.

En perspective, les résultats de ce travail doivent être confirmés et confrontés à d'autres bases de données. De plus, ce modèle va être utilisé afin d'établir un lien entre un paramètre cinétique relatif aux CTC et la survie. Il serait également intéressant de tester et de comparer la sensibilité et la spécificité des CTCs et du PSA pour prédire la survie. Si une relation avec un critère clinique était établie, la modélisation des cinétiques des nombres de CTCs pourraient permettre de nombreuses applications.

Le suivi de la cinétique des CTCs pourrait être utilisé pour prédire au niveau individuel l'efficacité d'un traitement ou le risque de progression, et ainsi anticiper un ajustement possible du traitement. Dans le développement du médicament, la modélisation des cinétiques des CTCs pourrait être utile pour identifier les meilleurs candidats à un essai ou encore pour prédire l'efficacité thérapeutique de façon précoce, et ainsi réduire le temps nécessaire à un essai clinique.

II- MANUSCRIT III : MODELISATION CONJOINTE DES CINETIQUES DES CTCs ET DU PSA

A joint model for the longitudinal kinetics of CTC count and PSA concentration during treatment in metastatic castration-resistant prostate cancer

Mélanie Wilbaux, Michel Tod, Johann De Bono, David Lorente, Joaquin Mateo, Gilles Freyer, Benoit You, Emilie Hénin

Soumis à Clinical Pharmacology & Therapeutics: Pharmacometrics & Systems Pharmacology, 2014.

A joint model for the longitudinal kinetics of CTC count and PSA concentration during treatment in metastatic castration-resistant prostate cancer

ABSTRACT

Assessment of treatment efficacy in metastatic castration-resistant prostate cancer (mCRPC) is limited by frequent non-measurable bone metastases. The count of circulating tumor cells (CTCs) is a promising surrogate marker that may replace the widely used PSA. The objective of this study was to quantify the dynamic relationships between the longitudinal kinetics of these markers during treatment in mCRPC patients. Data from 223 mCRPC patients treated by chemotherapy and/or hormonotherapy were analyzed for up to 6 months of treatment. A semi-mechanistic model was built, combining several pharmacometric advanced features: 1) two K-PD compartments for treatments; 2) a latent variable linking both marker kinetics; 3) modeling of CTC kinetics with a cell lifespan model; and 4) a negative binomial distribution for the CTC random sampling. Linked with survival, this model would potentially be useful for predicting treatment efficacy during drug development or for therapeutic adjustment in treated patients.

STUDY HIGHLIGHTS

- What is the current knowledge on the topic?

Assessment of treatment efficacy in metastatic castration-resistant prostate cancer (mCRPC) is limited by the frequent development of non-measurable bone metastases. The count of circulating tumor cells (CTCs) is emerging as a promising surrogate marker, which could replace the widely used PSA.

- What question did this study address?

CTC kinetic monitoring during treatment could be used to predict treatment efficacy in mCRPC patients. However, relationships between the kinetics of CTCs and PSA have never been assessed. We built a semi-mechanistic population model of CTC and PSA kinetics during treatment.

- What this study adds to our knowledge?

The proposed semi-mechanistic model is the first to quantify the dynamic relationships between the kinetics of PSA and CTC count in treated mCRPC patients. It combines several advanced features in pharmacometrics, accounting for the major challenges in CTC analysis.

- How this might change clinical pharmacology and therapeutics?

Linked with survival, this model might provide a useful tool for predicting treatment efficacy during drug development or for adjusting therapeutic strategy in mCRPC patients.

INTRODUCTION

Prostate cancer is the most common cancer and the third leading cause of death from cancer among males in developed countries.¹ The development of metastases signals the distant spread of prostate cancer cells and the need for systemic treatments, including androgen-deprivation drugs. The natural history of prostate cancer with bone metastasis development, accounting for up to 90% of patients, induces a bias in the assessment of treatment efficacy, because most of these lesions are poorly assessable with morphological imaging techniques and RECIST (Response Evaluation Criteria In Solid Tumors) criteria.² As a consequence, other indicators of treatment effects have been developed.

The prostate-specific antigen (PSA) is the most widely used serum tumor marker in evaluating treatment effect in prostate cancer.^{3,4} However, its validity as a surrogate marker of treatment efficacy is controversial, and the 50% decline rate recognized by the Prostate Cancer Clinical Trials working group was recently questioned.^{5,6} Consequently, new markers are emerging, such as the count of Circulating Tumor Cells (CTCs), defined by the US Food and Drug Administration (FDA) as the number of EpCAM-positive epithelial nucleated cells >4 μm in diameter in a 7.5 ml blood sample.^{7,8} CTCs were first described by Ashworth et al.⁸ in 1869, who observed “a case of cancer in which cells similar to those in the tumor were seen in the blood after death”. These cells correspond to tumor cells that have been released into the blood and potentially lead to the development of new metastases. CTCs are estimated to represent less than one in a billion of the circulating mononuclear cells in the blood;⁹ this rarity has required the development of sensitive and robust detection and enumeration methods to implement CTC analysis for widespread use in the clinic.⁹ Several methods have been reported for CTC detection,¹⁰ but the CellSearch System (Veridex, Raritan, NJ, USA) is the only FDA-approved method for enumeration in metastatic breast, prostate, and colorectal cancers.^{11, 12, 13} The major complication in CTC analysis is that the number of CTCs obtained in the aliquot may not reflect the actual number in the whole

blood.⁹ For instance, Tibbe et al.⁹ identified three major sources of variation in CTC counting: i) the Poisson-distributed sampling error of the number of CTCs in a blood sample; ii) the variability in enrichment efficiency; and iii) the intra- and inter-reader variabilities.

Despite these limitations, CTC research has progressed rapidly in recent years in the effort to demonstrate the potential application of CTCs as a prognostic or predictive biomarker in oncology. In metastatic castration-resistant prostate cancer (mCRPC) patients receiving chemotherapy or hormone treatments, both baseline CTC count (< 5 vs ≥ 5) and CTC changes (rise or decrease between baseline and another time point) during treatment were more closely associated with patient survival than were PSA changes.^{13, 14, 15} This finding led to the FDA approval of the use of CTC counts in the evaluation of mCRPC patients. Although dichotomization is frequently used for CTC analyses (<5 or ≥ 5 per aliquot), it has some limitations, first and foremost the loss of statistical power.^{5, 16, 17}

Monitoring the kinetics of CTCs using modeling is particularly relevant for several reasons. First, it is a highly sensitive clinical test based on shedding of tumor cells that, in theory, will provide information about the evolution of the total tumor burden, including the primary tumor and the metastases in an individual patient. Second, it represents a new tool for evaluating treatment response in large clinical trials. Finally, there is a need for improved serum biomarkers in mCRPC. However, the longitudinal kinetics of CTC counts, along with their relationships with other markers, such as PSA and tumor burden, needs to be addressed. The main objective of the present study was to quantify the dynamic relationships between the longitudinal kinetics of PSA and CTC counts during treatment in mCRPC patients. To achieve this goal, a semi-mechanistic model was built, combining several advanced features in pharmacometrics.

RESULTS

Data

The data from 223 mCRPC patients were analyzed.¹³ Patients were treated by chemotherapy and/or hormonotherapy, but no treatment doses or pharmacokinetic outcomes were available. Characteristics of patients are described in Table 1. CTC counts per aliquot and PSA concentrations were measured at different time points along treatment. A median of four CTC values and four PSA titers was available per subject until 6 months after treatment initiation. The median CTC count was 2 CTC/7.5 ml, with a range of 0–6437 CTC/7.5 ml, and the median PSA concentration was 116 ng/ml with a range of <0.1 –17,800 ng/ml. A large

proportion of CTC counts equal to 0 was observed (40%). PSA observations were below the limit of quantification (LOQ) in 0.1% of measurements.

Individual kinetic profiles were heterogeneous, as illustrated in the Supplementary Material 1 (Figure S1). Indeed, different types of profiles were observed: some with parallel PSA and CTC kinetics, others with divergent evolutions.

Patient characteristics	Data
Number of patients	223
Total number of CTC observations	919
CTC count value	2 [0–6437]
Baseline CTC count	7 [0–5925]
Number of CTC count = 0	365 (40%)
Number of CTC observations per patient	4 [2–6]
Total number of PSA observations	928
PSA concentration (ng/ml)	116 [LOQ–17,800]
Baseline PSA concentration (ng/ml)	130 [2–17,800]
Number of BLQ values for PSA	1 (0.11%)
Number of PSA observation per patient	4 [1–6]
Follow-up time (days)	124 [21–177]
Number of treatment cycles	5 [2–10]

Table 1 - Patient characteristics. Data are presented as median [min–max]. LOQ: Limit of quantification. BLQ: Below limit of quantification.

Model characteristics

A semi-mechanistic model was built to quantify the dynamic relationships between the kinetics of CTC counts and PSA concentrations during treatment in mCRPC patients. To take the inter-individual variability (IIV) into account, model development was performed using non-linear mixed effects modeling.

The structure of the final model is described in Figure 1.

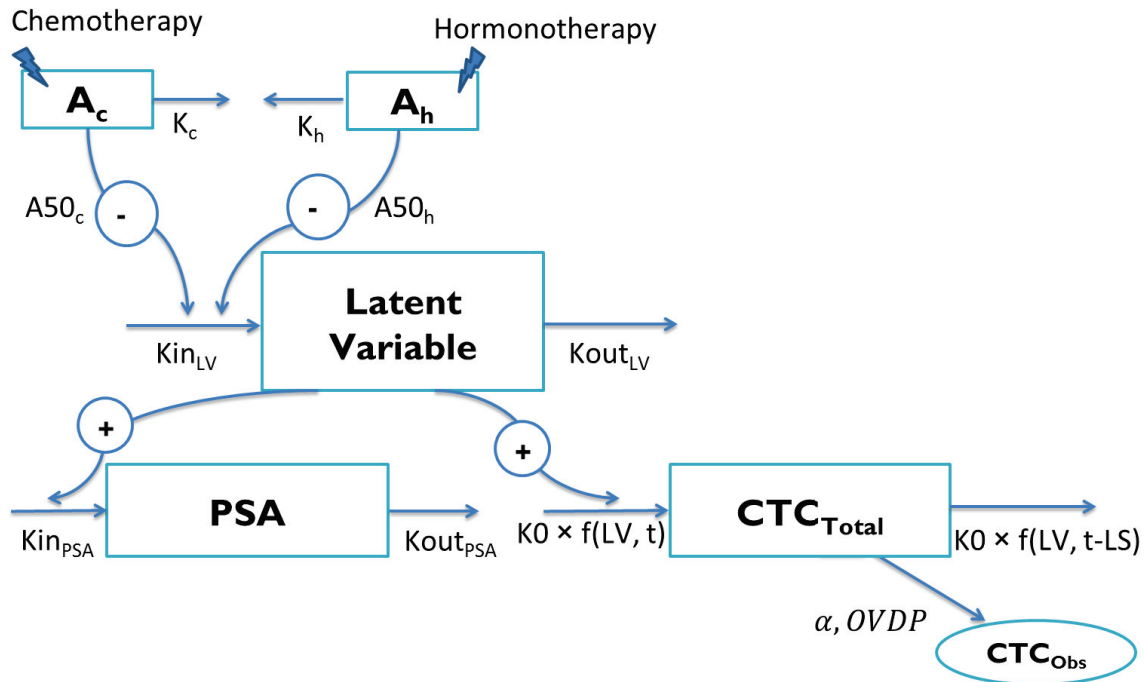


Figure 1. Structure of the model. A_c and A_h represent drug amounts in the chemotherapy and hormonotherapy compartments, respectively (*Arbitrary Unit, AU*). K_c and K_h are the chemotherapy and hormonotherapy kinetic rate constants, respectively (day^{-1}). $A50_c$ and $A50_h$ are the amounts of each treatment producing 50% of the maximum effect (*AU*), respectively. Kin_{LV} and $Kout_{LV}$ are the latent variable production and elimination rate constants ($AU \cdot day^{-1}$ and day^{-1}), respectively. Kin_{PSA} and $Kout_{PSA}$ correspond to the PSA production and elimination rate constants ($ng \cdot ml^{-1} \cdot day^{-1} \cdot AU^{-1}$ and day^{-1}), respectively. $K0$ is the CTC production rate ($CTC \cdot day^{-1} \cdot AU^{-1}$). CTC_{Total} and CTC_{Obs} are the CTC counts in the total body blood and in the aliquot, respectively. α corresponds to the scaling factor and OVDP to the overdispersion parameter.

Because of the characteristics of the data, the model combined different levels of complexity, as follows.

1) Drug effect kinetics

Because no drug concentration data were available, a K-PD approach was applied to model the kinetics of the drug actions.¹⁸ Two different K-PD compartments were used to describe

the drug effect kinetics for chemotherapy and hormonotherapy administrations, thus allowing the estimations of different kinetics and efficacy parameters for chemotherapy and hormonotherapy.

2) Dynamic relationships between PSA and CTC kinetics

The treatment effects on both PSA and CTCs were assumed to be mediated through a common latent variable, defined as an underlying, non-observed variable. The latent variable kinetics was described by a non–steady-state indirect model, with zero-order production and first-order elimination rates.¹⁹ Each treatment acted as an inhibitor of the latent variable production, following a saturable (E_{max}) process.

3) Joint modeling of two types of data

The latent variable was supposed to enhance the production of PSA and CTCs. The PSA concentration kinetics (continuous data) was described by a non–steady-state model with zero-order production and first-order elimination rates.¹⁹ The discrete processes for CTC kinetics (count data) in the total body blood were characterized by a cell lifespan model.²⁰

4) Random sampling of CTCs

Because the total blood volume (5 L) is much greater than the aliquot volume (7.5 ml) and the CTCs are considered to be relatively rare count data, the CTC count from a 7.5 ml aliquot of blood (CTCObs) was interpreted as a random sample of the total CTC count (CTCTotal). The sampling distribution of CTCObs was considered to be of the Poisson law family.

Model formalization

1) Structural model

The model, shown in Figure 1, was described by the following equations:

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{dA_c}{dt} = -K_c \times A_c \\ \frac{dA_h}{dt} = -K_h \times A_h \\ \frac{dLV}{dt} = Kin_{LV} \times \left(1 - \frac{A_c}{A50_c + A_c}\right) \times \left(1 - \frac{A_h}{A50_h + A_h}\right) - Kout_{LV} \times LV \\ \frac{dPSA}{dt} = Kin_{PSA} \times LV - Kout_{PSA} \times PSA \\ \frac{dCTC_{Total}}{dt} = K0 \times LV - K0 \times LVD \end{array} \right.$$

A_c and A_h represent drug amounts in the chemotherapy and the hormonotherapy compartments, respectively (*Arbitrary Unit, AU*). K_c and K_h are the chemotherapy and hormonotherapy kinetics rate constants (day^{-1}), respectively. $A50_c$ and $A50_h$ are the amounts of each treatment producing 50% of the maximum effect (*AU*). LV corresponds to the latent variable (*AU*), and Kin_{LV} and $Kout_{LV}$ are their production rate and elimination rate constant ($AU \cdot day^{-1}$ and day^{-1}), respectively. LVD corresponds to the latent variable delayed by the lifespan (*AU*) (Supplementary Material 3). Kin_{PSA} and $Kout_{PSA}$ are the PSA production and elimination rate constants ($ng \cdot ml^{-1} \cdot day^{-1} \cdot AU^{-1}$ and day^{-1}), respectively. $K0$ is the CTC production rate ($CTC \cdot day^{-1} \cdot AU^{-1}$).

The initial conditions of the model at time 0 were as follows:

$$\left\{ \begin{array}{l} A_c(0) = 0 \\ A_h(0) = 0 \\ LV(0) = LV_0 \text{ with } LV_0 < \frac{Kin_{LV}}{Kout_{LV}} \\ PSA(0) = PSA_0 \\ CTC_{Total}(0) = K0 \times LS \times LV_0 \end{array} \right.$$

LV_0 and PSA_0 are the initial latent variable value (*AU*) and the initial PSA concentration (ng/ml), respectively. LS corresponds to the CTC lifespan (*day*).

2) Individual parameter distributions in the population

The individual parameters were assumed to be normally distributed for $K0$ and LS parameters and log-normally distributed for all other parameters, allowing for the estimation of correlations between parameters.

3) Observation model for PSA and CTCs

Unexplained residual variability for PSA kinetics was modeled using an exponential residual error model, written as an additive model for the log-transformed PSA observations and predictions (log-transformation both side).

Assuming a homogeneous distribution of CTCs, the expected number of CTCs (λ) was scaled by the total number of CTCs (CTC_{Total}) obtained with the cell lifespan model:

$$\lambda = CTC_{Total} \times \alpha$$

where

$$\alpha = \frac{\text{Aliquot volume}}{\text{Total blood volume}} = \frac{7.5}{5000} = 0.0015.$$

Finally, the observed CTC count (CTC_{Obs}) is a random sampling from a Poisson law family. The best model was the negative binomial distribution with a mean of λ and a variance of

$\lambda \times (1 + OVDP \times \lambda)$. This model allowed taking into account the overdispersion, characterized by a variance greater than the mean of the observed CTC counts. The probability of observing a number of CTCs equal to n was calculated as:

$$P(CTC_{Obs} = n) = \left[\frac{\Gamma(n + \frac{1}{OVDP})}{n! \times \Gamma(\frac{1}{OVDP})} \right] \times \left(\frac{1}{1 + OVDP \times \lambda} \right)^{\frac{1}{OVDP}} \times \left(\frac{\lambda}{\frac{1}{OVDP} + \lambda} \right)^n$$

where Γ and $n!$ are the Gamma and Factorial functions, respectively. OVDP is the overdispersion parameter, allowing for estimating a variance greater than the mean.

Model evaluation

According to goodness-of-fit plots presented in Figure 2, PSA kinetics in treated mCRPC patients was properly fit over the 6-month period, and visual predictive check (VPC) showed good agreement between the distributions of observed and simulated values.

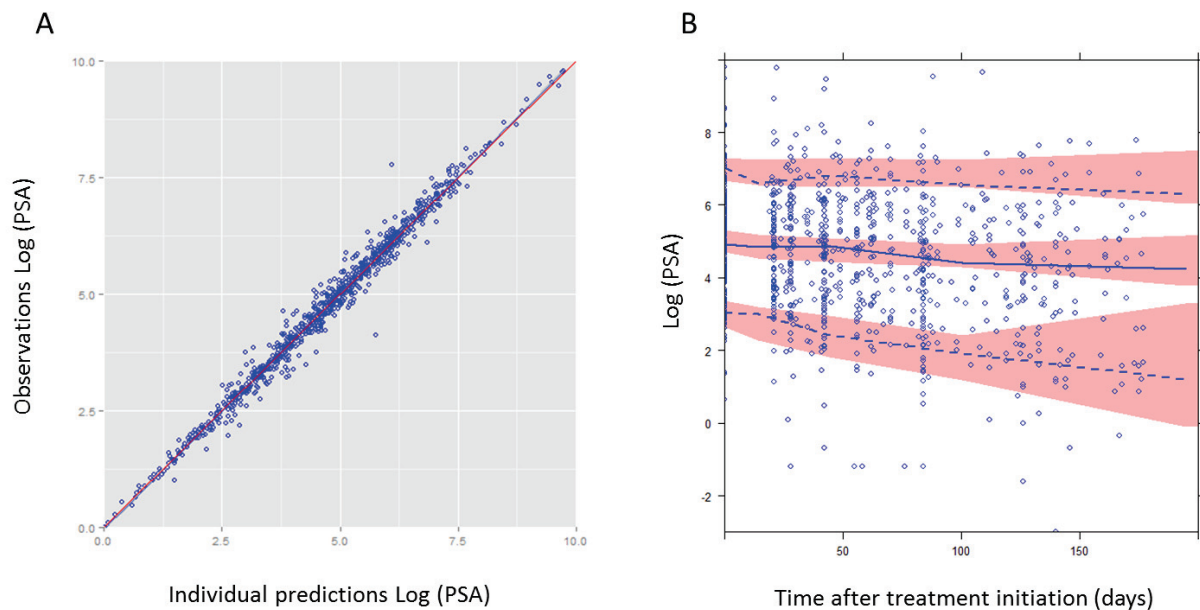


Figure 2. Evaluation of the model capacity to predict PSA. (A) Observed logarithms of PSA are plotted versus individual transformed predictions. Red line is the identity line. (B) Visual predictive check: log-transformed PSA values are plotted versus time. Red areas represent the 95% confidence intervals of the 5th, 95th, and 50th percentiles of simulated data. Blue dots are the observed values. Blue lines represent the median (solid line), and the 5th and 95th percentiles (dashed lines) of the observations.

The predictive performance for the CTC counts was assessed with simulation-based diagnostics: categorical VPCs and overdispersion plot (mean vs variance). These graphics are presented in Figure 3 and show that both the probability for a given number of CTCs and the overdispersion were described well by the model simulations. It also shows the consistency between the observed proportion of CTCs equal to 0 and the simulated ones.

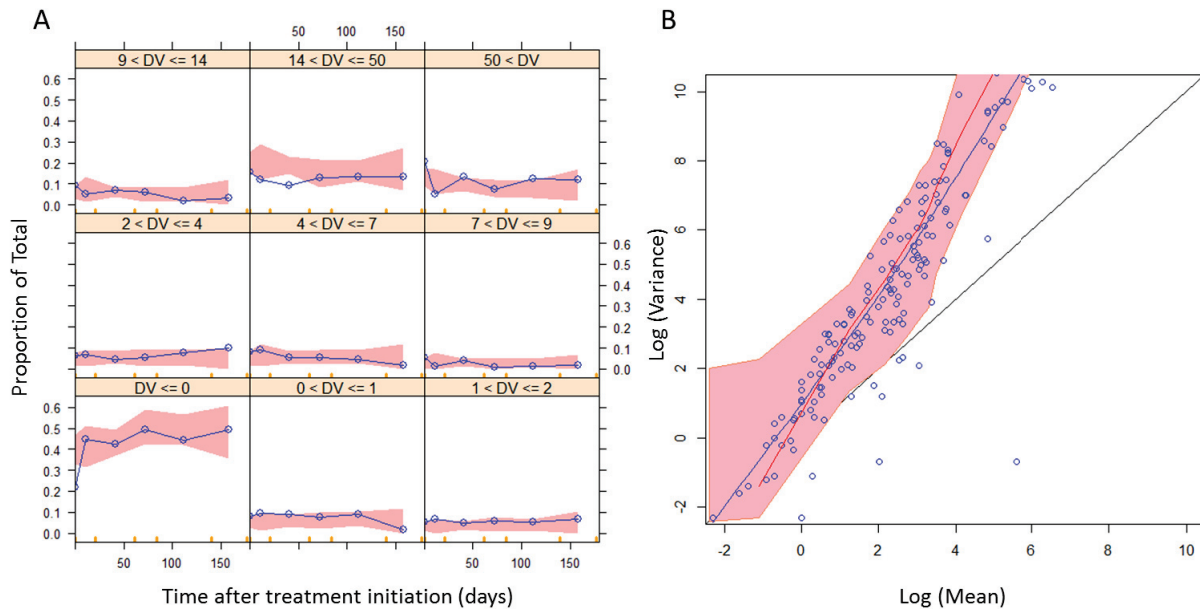


Figure 3. Evaluation of the model capacity to predict CTC counts. (A) Categorical VPCs: the probability of having a number of CTCs for different CTC count categories was plotted versus time. Red areas are the 95% confidence intervals of the simulated median probabilities. Blue lines are the observed probabilities. (B) Overdispersion plot: The logarithms of variance were plotted versus the logarithms of means. Black line is the identity line. Blue dots are the observations, and the blue line a loess of the observations. Red line corresponds to the median of simulated data, and the red area to its 95% predicted interval.

Finally, a categorical VPC for the frequently used dichotomized CTC count (<5 vs ≥ 5) was performed and confirmed the acceptable predictive performance of the model (Supplementary Material 2, Figure S2).

Parameter interpretation

Parameter estimates are reported in Table 2. Relative standard errors (RSEs) of typical mean parameters and IIV, representative of estimation precision, were all less than 20%. Because of the heterogeneity of the data, IIV values were large, but they were supported by

satisfactory RSE and shrinkage values. Correlations between IIV parameters were estimated; for instance, K_0 was highly correlated with LS (correlation = 0.99) and K_{inPSA} highly correlated with PSA_0 (correlation = 0.92).

Parameter estimates showed that chemotherapy had a greater inhibiting potency than hormonotherapy, as expected ($A50_c = 0.0003$; $A50_h = 0.004$; $A50_h = A50_c$ 13-fold). The CTC lifespan (LS) was estimated at 58 days, and its production rate (K_0) at $308 \text{ CTC}\cdot\text{day}^{-1}\cdot\text{AU}^{-1}$. The PSA half-life (computed as $(\log(2)/K_{out_{PSA}})$) was estimated at 85 days, and its production rate ($K_{in_{PSA}}$) at $1.4 \text{ ng}\cdot\text{ml}^{-1}\cdot\text{day}^{-1}\cdot\text{AU}^{-1}$. The ratio of production rates ($K_{in_{PSA}}/K_0$) was equal to $0.004 \text{ ng}\cdot\text{ml}^{-1}\cdot\text{CTC}^{-1}$.

Parameter (unit)	Estimate	RSE estimate (%)	IIV (CV %)	RSE IIV (%)	Shrinkage (%)
K_c (day^{-1})	0.248	4	85	3	63
K_h (day^{-1})	0.449	5	135	3	51
$Q50_c$ (AU)	0.0003	17	218	8	27
$Q50_h$ (AU)	0.004	12	168	1	29
LV_0 (AU)	1 FIX	/	0 FIX	/	/
$K_{out_{LV}}$ (day^{-1})	0.00513	20	450	13	36
SF_{LV} (AU/day)	6.33	1	89	6	27
$K_{in_{PSA}}$ ($\text{ng}\cdot\text{ml}^{-1}\cdot\text{day}^{-1}\cdot\text{AU}^{-1}$)	1.40	9	161	5	6
$K_{out_{PSA}}$ (day^{-1})	0.00813	9	124	4	21
PSA_0 (ng/ml)	153	8	155	2	1.4

K0 (CTC.day ⁻¹ .AU ⁻¹)	308	1	12	2	59
LS (day)	58	1	14	2	59
OVDP (AU)	4.9	4	150	1	17
PSA res error	0.3	/	/	/	/

Table 2 - Parameter estimates. RSE is the relative standard error. IIV is the inter-individual variability.

Sensitivity of simulated PSA and CTC kinetics

Thanks to the IIV, the model allowed simulations of different types of individual kinetics profiles, similar to those observed, as illustrated in the Supplementary Material 1 (Figure S3).

Furthermore, simulations using the model and population parameters were performed under different treatment types. Three kinetic profiles of a typical patient were assessed until 300 days (Figure 4): i) receiving chemotherapy alone; ii) receiving hormonotherapy alone; and iii) receiving both simultaneously. A larger inhibition effect of chemotherapy compared to hormonotherapy was observed. The model allowed regrowth of both biomarkers after stopping treatment. The magnitude of changes was more important for CTCs than for PSA.

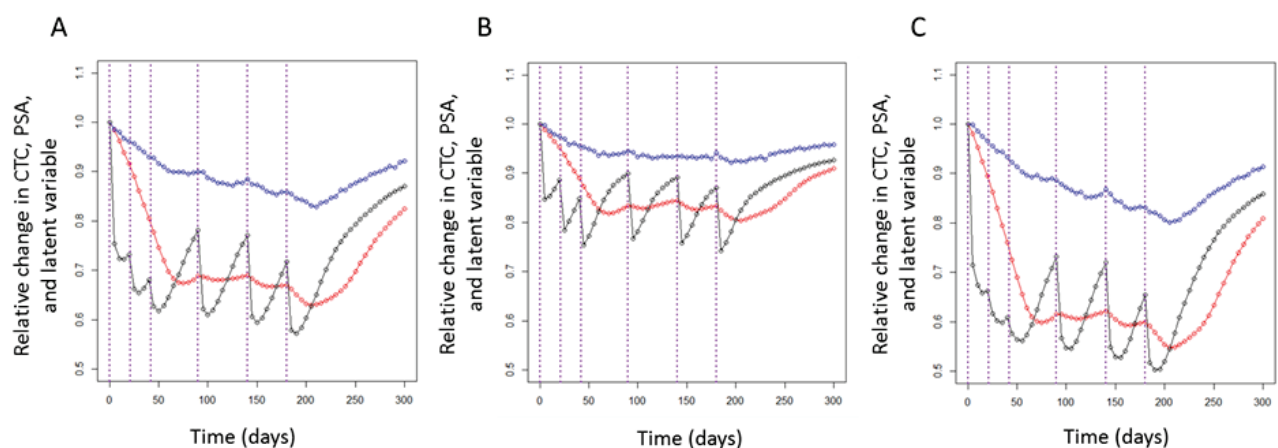


Figure 4. Simulations under different treatment regimens. CTCs, PSA, and the latent variables, all normalized by their baseline values, were plotted versus time. Different typical patients were represented: (A) receiving chemotherapy alone, (B) hormonotherapy alone, or (C) both

simultaneously. Blue curves represent the PSA kinetics, red curves the CTC kinetics, and black curves the latent variable kinetics. Vertical lines represent the treatment cycles.

Finally, simulations were used to explore the sensitivity of PSA and CTC kinetics to changes in the latent variable values. Simulated PSA and CTC kinetics were compared after doubling and halving the latent variable. According to Figure 5, CTCs seemed to be more sensitive to the variations of the latent variable, compared to PSA. Moreover, CTCs reached 90% of steady-state at 200 days while PSA reached it at 600 days. Accounting for IIV, 98% of simulated patients showed a faster variation in CTC than PSA after latent variable increase. The CTC kinetics therefore appeared to be faster than the PSA kinetics in most of the patients.

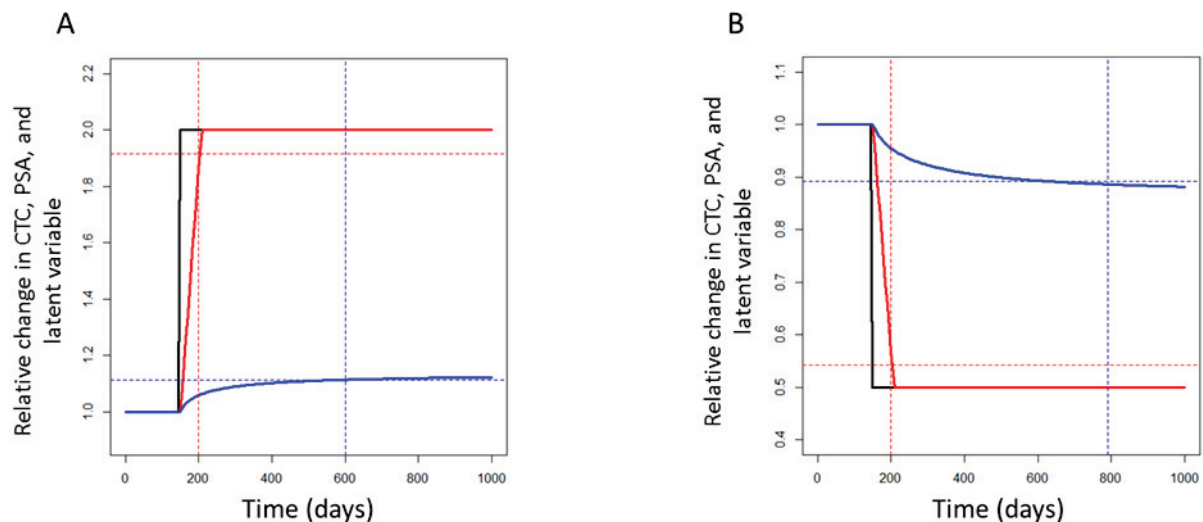


Figure 5. Simulations of PSA and CTC kinetics under different latent variable changes. CTCs, PSA, and the latent variables, all normalized by their baseline values, were plotted versus time. Two latent variable profiles were simulated: (A) an increase and (B) a decrease. Black curves represent the latent variable kinetics, red curves the CTC kinetics, and blue curves the PSA kinetics. Blue and red dashed lines correspond to the time at which the PSA and CTC reached 90% of steady-state.

DISCUSSION

Assessment of treatment efficacy in mCRPC patients is a critical medical issue because of the inefficiency of morphological imaging tests for monitoring clinical response. The PSA is the most widely used serum tumor marker, but its surrogacy value is questioned.^{5,6} PSA may soon be replaced by CTC counting, which appears as a promising prognostic and predictive marker of survival and treatment efficacy.^{13, 14, 15}

The semi-mechanistic model reported here is the first to quantify the joint dynamic relationships between the kinetics of PSA and CTC count in mCRPC patients. This atypical model combines several advanced features in pharmacometrics: K-PD modeling, joint modeling of count and continuous data, both driven by a common latent variable, and the discrete process for CTCs, modeled by a cell lifespan model combined with random sampling statistics. To simplify, the latent variable might be interpreted as the non-measured tumor burden producing CTCs and PSA. This model allowed taking into account the major challenges for CTC detection and enumeration: i) the discrete process; ii) the Poisson-distributed sampling error; iii) the overdispersion; and iv) the high number of CTC counts equal to 0. This report represents the first time that a cell lifespan model has been used to describe CTC kinetics. Moreover, although the Poisson process was already used to take into account the sampling of blood collection for CTC, this paper describes the first application of negative binomial distribution to model the overdispersion in this context.⁹ Failure to address such phenomena may lead to underestimation of standard errors.²¹

Internal evaluation, based on goodness-of-fit plots and simulation-based diagnostics, demonstrated the good predictive ability of the model for the kinetics of PSA and CTC count. The model enabled estimations of PSA and CTC production, CTC lifespan, and their respective IIVs. The estimated PSA half-life of 85 days was in agreement with literature data.²² The CTC lifespan was estimated at 58 days; obtaining an experimental estimate of CTC lifespan is difficult, because of the high rate of null counts and the time-varying production rate, and the scientific literature on this topic is conflicting.^{23, 24}

The second main finding of the present study is the ability to generate by simulations the PSA, CTC, and latent variable kinetics profiles under different treatments, including chemotherapy and/or hormonotherapy agents. The model was also used to simulate PSA and CTC kinetics under different types of latent variable changes. According to these simulations, CTC count seems to be more sensitive to the variation of the latent variable and is an earlier biomarker compared to PSA. These observations support the previous results showing the greater prediction potency of CTC compared to PSA.^{13, 14, 15}

Nevertheless, some limitations may reduce the impact of the outcomes presented here. The use of an indirectly measurable latent variable with uncertain physiological meaning is confusing and debatable for non-modelers. Integration of longitudinal tumor burden observations with a tumor growth inhibition model could improve the model and its interpretation. The present semi-mechanistic model undoubtedly simplifies the reality of actual biological processes. For instance, Kim et al. recently showed that CTCs can also reseed the organ of origin via the circulatory system and express factors that lead to

accelerate tumor growth and angiogenesis.²⁵ This process, which is called “tumor self-seeding”, was not taken into account in our model.

Despite these limitations, this model is the first to quantify the dynamic links between the kinetics of PSA and CTC count during treatment in mCRPC patients. It is a complex and atypical model combining different methodologies in pharmacometrics. As a consequence, the results of the present model need to be confirmed. External validation of model estimates for describing CTC kinetics is planned using another mCRPC database. Investigation of model-based CTC kinetics in patients treated with other treatments or for other tumor types also is under consideration. Finally, using individual simulations, we showed that CTC was an earlier biomarker than PSA in most patients. Thus, some covariates, such as pharmacogenomic data, need to be tested to identify patients for whom CTC counting is the most sensitive.

Moreover, the present model will be challenged i) to establish a link between a CTC kinetic parameter and survival and ii) to compare the sensitivity and specificity of PSA and CTC count for predicting treatment efficacy. A link between the latent variable and survival will also be tested. If relationships between a CTC kinetic parameter and efficacy outcomes are confirmed and found to be more predictive than those of PSA, longitudinal CTC kinetics modeling may have several applications. In drug development, monitoring CTC kinetics may be used to identify the best drug candidates and reduce the timeline required for clinical trials.²⁶ CTC kinetic parameters may also be used to predict future treatment efficacy or risk of early progression and the potential need for early treatment adjustment.

METHODS

Data

The data from patients enrolled in the IMMC38 trial, meant to assess the relationships between categorized CTC count (<5 or ≥5 per aliquot) and survival in mCRPC patients, were used.¹³ Because 70% of patients discontinued the study at 180 days, we decided to limit model-based analysis to a 6-month treatment duration to reduce potential statistical biases. The types of treatment (i.e., chemotherapy and hormonotherapy) and administration dates were collected, but no treatment doses or pharmacokinetic outcomes were available. The LOQ for PSA concentration was 0.1 ng/ml.²⁷ Values below the LOQ, representing 0.1% of the observed values, were fixed at LOQ/2 in the dataset.²⁸

Model development

In a first step, the PSA and the CTC kinetics were fitted separately. Then, they were combined and linked with a common unobserved variable.

The final model required consideration of four levels of complexity, as follows.

1) Drug effect kinetics

At a given time, a patient can receive either an administration of chemotherapy or hormonotherapy, or both simultaneously. Therefore, the model had to take into account the kinetics of the effects of the three regimens: chemotherapy, hormonotherapy, or both. Moreover, because neither doses nor concentrations were available, an arbitrary amount (equal to 1) was set for the doses for each treatment cycle.

Models with a common K-PD compartment gathering chemotherapy and hormonotherapy as well as models with two separate K-PD compartments for each treatment type were tested. Furthermore, identical and different kinetic and efficacy parameters for each treatment type were evaluated. Finally, a direct additional effect of treatment on CTCs was also assessed.

2) Dynamic relationships between PSA and CTC kinetics

PSA concentration and CTC count kinetics had no clear direct relationships (Supplementary Material 1, Figure S1), but were assumed to be triggered by a common unobserved latent variable. To allow the latent variable to increase, the baseline latent variable (LV_0) was constrained to be less than the steady-state condition, defined as follows:

$$LV_0 = \frac{Kin_{LV}}{Kout_{LV}} \times \frac{\exp(SF_{LV})}{1 + \exp(SF_{LV})}$$

where SF_{LV} could have a positive or negative value. Because no information was available concerning the latent variable, LV_0 was fixed to 1; thus, LV corresponded to the fractional change in the latent variable from baseline. As a consequence, the logit function was applied on Kin_{LV} :

$$Kin_{LV} = \frac{LV_0 \times Kout_{LV}}{\frac{\exp(SF_{LV})}{1 + \exp(SF_{LV})}}$$

Interpreting the latent variable as a tumor burden, different models for its kinetics were tested: the exponential, Gompertz, and Logistic models.^{29, 30}

3) Joint modeling of two types of data

PSA concentrations are continuous data while CTC counts are count data produced by a discrete process. As a consequence, the simultaneous modeling of count and continuous data was necessary. The productions of both markers were stimulated by the common latent variable.

The PSA kinetics was described by an indirect model. The CTC kinetics in the total body blood was modeled by a cell lifespan model, commonly used for the modeling of lifespans and delays in PK-PD.²⁰ The main assumption of the cell lifespan model is that the rate of CTC loss at time t is equal to the production rate at time t -lifespan.²⁰ The implementation method of the cell lifespan model is detailed in Supplementary Material 3.

A model including a PSA production by CTCs was tested, without improving the model fit.

4) Random sampling of CTCs

CTCs obtained from the cell lifespan may not reflect the observed cell population. For instance, a CTC_{Obs} value of 0 does not imply that no CTCs are produced. The observed number of CTCs can be seen as a count process, usually described by a Poisson-type distribution. Different Poisson-related models were tested: basic Poisson, zero-inflated Poisson, and negative binomial and zero-inflated negative binomial models.²¹

Non-linear mixed effects model

Model development was performed using non-linear mixed effects modeling, and the software NONMEM (version 7.3 by ICON Development Solutions, Ellicott City, MD, USA) with the ADVAN 13 subroutine was used.³¹ Estimations were made by maximizing the likelihood of the data, using the stochastic approximation expectation maximization (SAEM) algorithm followed by importance sampling to obtain the objective function value for hypothesis testing.

The simultaneous modeling of continuous and count data was permitted in NONMEM by the indication variable F_FLAG.³¹ The delay, representing the CTC lifespan, was implemented in NONMEM with the ALAG function and was calculated with the method of steps that allowed virtually solving a delay differential equations system by transforming it into an ordinary differential equations system.³² Gamma and Factorial functions were calculated using the GAMLN function implemented in NONMEM 7.3.³¹ The NONMEM code implementing this

model was presented in Supplementary Material 4. Finally, data handling and graphical representations were performed in R, using the PsN suite and the Xpose package.^{33, 34, 35}

Model selection and evaluation

Selection and evaluation of the best model were achieved using criteria based on the likelihood, RSE and shrinkage values, goodness-of-fit plots, and simulation-based diagnostics.^{37, 37}

The agreement between PSA observations and predictions was evaluated using classical goodness-of-fit plots, such as population predictions vs observations, individual predictions vs observations, and residual analysis. The ability of the model to predict PSA was assessed using VPC. A total of 100 PSA profiles were performed using the final individual parameters estimated from the model. The observed values were compared with the simulated 5th, median, and 95th percentiles with their confidence intervals (95%).

Different evaluation methods were used to evaluate the model predictive capacity on CTC count kinetics. For this kind of data, the probability of having a given number of CTCs was estimated. Simulation-based graphics were performed: categorical VPCs and overdispersion plot. Categorical VPCs were obtained from 100 simulations of the data. Then, the median simulated probability of having a given number of CTCs and its 95% confidence interval was compared to the observed probability. To obtain an overdispersion plot, 500 simulations of the data under the model were performed. Mean and variance were calculated for each simulated patient. Then, the median of the variance and its 95% predicted interval were computed for each bin of mean. Finally, the simulated overdispersion was compared to the observed one.

Sensitivity of simulated PSA and CTC kinetics

The model and its parameters were used to simulate individual kinetic profiles of CTCs, PSA, and latent variable.

The model was also used to simulate three typical regimens with population parameter estimates: i) a patient receiving six cycles of chemotherapy following a classical design over 180 days; ii) a patient receiving six cycles of hormonotherapy following a classical design over 180 days; and iii) a patient receiving simultaneously six cycles of chemotherapy and hormonotherapy over 180 days.

Finally, an instantaneous increase (doubling) and decrease (halving) of the latent variable were simulated with a Heaviside function, and simulated PSA and CTC profiles were compared. The time to reach 90% of the steady-state level for both markers was assessed. A total of 500 individual simulated profiles, taking into account the IIV, were also explored.

REFERENCES

1. Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011, 61(2): 69-90.
2. Bubendorf L, Schopfer A, Wagner U, Sauter G, Moch H, Willi N, et al. Metastatic patterns of prostate cancer: an autopsy study of 1,589 patients. *Hum Pathol* 2000, 31(5): 578-583.
3. Scher HI, Halabi S, Tannock I, Morris M, Sternberg CN, Carducci MA, et al. Design and end points of clinical trials for patients with progressive prostate cancer and castrate levels of testosterone: recommendations of the Prostate Cancer Clinical Trials Working Group. *J Clin Oncol* 2008, 26(7): 1148-1159.
4. Wang MC, Valenzuela LA, Murphy GP, Chu TM. Purification of a human prostate specific antigen. *Invest Urol* 1979, 17(2): 159-163.
5. Almufti R, Wilbaux M, Oza A, Henin E, Freyer G, Tod M, et al. A critical review of the analytical approaches for circulating tumor biomarker kinetics during treatment. *Ann Oncol* 2013, 25(1): 41-56.
6. Petrylak DP, Ankerst DP, Jiang CS, Tangen CM, Hussain MH, Lara PN, Jr., et al. Evaluation of prostate-specific antigen declines for surrogacy in patients treated on SWOG 99-16. *J Natl Cancer Inst* 2006, 98(8): 516-521.
7. Allard WJ, Matera J, Miller MC, Repollet M, Connelly MC, Rao C, et al. Tumor cells circulate in the peripheral blood of all major carcinomas but not in healthy subjects or patients with nonmalignant diseases. *Clin Cancer Res* 2004, 10(20): 6897-6904.
8. Ashworth TR. A case of cancer in which cells similar to those in the tumours were seen in the blood after death. *The Medical Journal of Australia* 1869, 14: 146-147.
9. Tibbe AG, Miller MC, Terstappen LW. Statistical considerations for enumeration of circulating tumor cells. *Cytometry A* 2007, 71(3): 154-162.
10. Liberko M, Kolostova K, Bobek V. Essentials of circulating tumor cells for clinical research and practice. *Crit Rev Oncol Hematol* 2013, 88(2): 338-356.
11. Cohen SJ, Punt CJ, Iannotti N, Saidman BH, Sabbath KD, Gabrail NY, et al. Relationship of circulating tumor cells to tumor response, progression-free survival, and overall survival in patients with metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2008, 26(19): 3213-3221.
12. Cristofanilli M, Budd GT, Ellis MJ, Stopeck A, Matera J, Miller MC, et al. Circulating tumor cells, disease progression, and survival in metastatic breast cancer. *N Engl J Med* 2004, 351(8): 781-791.
13. de Bono JS, Scher HI, Montgomery RB, Parker C, Miller MC, Tissing H, et al. Circulating tumor cells predict survival benefit from treatment in metastatic castration-resistant prostate cancer. *Clin Cancer Res* 2008, 14(19): 6302-6309.

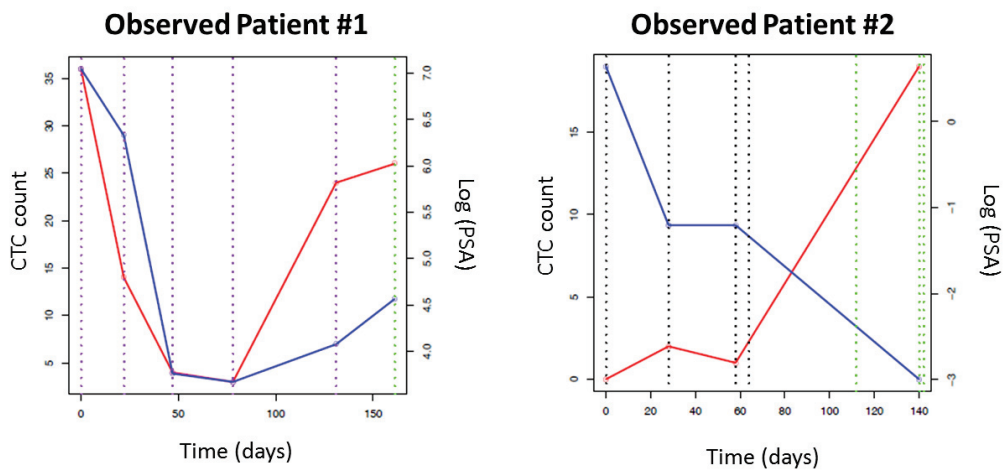
14. Goldkorn A, Ely B, Quinn DI, Tangen CM, Fink LM, Xu T, et al. Circulating Tumor Cell Counts Are Prognostic of Overall Survival in SWOG S0421: A Phase III Trial of Docetaxel With or Without Atrasentan for Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer. *J Clin Oncol* 2014, 32(11): 1136-1142.
15. Scher HI, Heller G, Molina A. Evaluation of circulating tumor cell (CTC) enumeration as an efficacy response biomarker of overall survival (OS) in metastatic castration-resistant prostate cancer (mCRPC): Planned final analysis (FA) of COU-AA-301, a randomized double-blind, placebo-controlled phase III study of abiraterone acetate (AA) plus low-dose prednisone (P) post docetaxel. *J Clin Oncol* 2011, 29: 293s (suppl; abstr LBA4517).
16. Coumans FA, Ligthart ST, Terstappen LW. Interpretation of changes in circulating tumor cell counts. *Transl Oncol* 2013, 5(6): 486-491.
17. Scher HI, Jia X, de Bono JS, Fleisher M, Pienta KJ, Raghavan D, et al. Circulating tumour cells as prognostic markers in progressive, castration-resistant prostate cancer: a reanalysis of IMMC38 trial data. *Lancet Oncol* 2009, 10(3): 233-239.
18. Jacqmin P, Snoeck E, van Schaick EA, Gieschke R, Pillai P, Steimer JL, et al. Modelling response time profiles in the absence of drug concentrations: definition and performance evaluation of the K-PD model. *J Pharmacokinet Pharmacodyn* 2007, 34(1): 57-85.
19. Dayneka NL, Garg V, Jusko WJ. Comparison of four basic models of indirect pharmacodynamic responses. *J Pharmacokinet Biopharm* 1993, 21(4): 457-478.
20. Krzyzanski W, Perez Ruixo JJ. Lifespan based indirect response models. *J Pharmacokinet Pharmacodyn* 2012, 39(1): 109-123.
21. Plan EL, Maloney A, Troconiz IF, Karlsson MO. Performance in population models for count data, part I: maximum likelihood approximations. *J Pharmacokinet Pharmacodyn* 2009, 36(4): 353-366.
22. Emmenegger U, Ko YJ. PSA-based treatment response criteria in castration-resistant prostate cancer: promises and limitations. *Can Urol Assoc J* 2009, 3(5): 375-376.
23. Meng S, Tripathy D, Frenkel EP, Shete S, Naftalis EZ, Huth JF, et al. Circulating tumor cells in patients with breast cancer dormancy. *Clin Cancer Res* 2004, 10(24): 8152-8162.
24. Stott SL, Lee RJ, Nagrath S, Yu M, Miyamoto DT, Ulkus L, et al. Isolation and characterization of circulating tumor cells from patients with localized and metastatic prostate cancer. *Sci Transl Med* 2010, 2(25): 25ra23.
25. Kim MY, Oskarsson T, Acharyya S, Nguyen DX, Zhang XH, Norton L, et al. Tumor self-seeding by circulating cancer cells. *Cell* 2009, 139(7): 1315-1326.
26. Kola I, Landis J. Can the pharmaceutical industry reduce attrition rates? *Nat Rev Drug Discov* 2004, 3(8): 711-715.
27. Bock JL, Klee GG. How sensitive is a prostate-specific antigen measurement? How sensitive does it need to be? *Arch Pathol Lab Med* 2004, 128(3): 341-343.
28. Beal SL. Ways to fit a PK model with some data below the quantification limit. *J Pharmacokinet Pharmacodyn* 2001, 28(5): 481-504.
29. Bonate PL, Suttle AB. Modeling tumor growth kinetics after treatment with pazopanib or placebo in patients with renal cell carcinoma. *Cancer Chemother Pharmacol* 2013, 72(1): 231-240.

30. Ribba B, Holford NH, Magni P, Troconiz I, Gueorguieva I, Girard P, et al. A review of mixed-effects models of tumor growth and effects of anticancer drug treatment used in population analysis. *CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol* 2014, 3: e113.
31. Beal SL, Sheiner LB, Boeckmann A, Bauer RJ. *NONMEM User's Guides (1989-2009)*. Ellicott City, MD, USA: Icon Development Solutions 2009.
32. Perez-Ruixo JJ, Kimko HC, Chow AT, Piotrovsky V, Krzyzanski W, Jusko WJ. Population cell life span models for effects of drugs following indirect mechanisms of action. *J Pharmacokinet Pharmacodyn* 2005, 32(5-6): 767-793.
33. Jonsson EN, Karlsson MO. Xpose--an S-PLUS based population pharmacokinetic/pharmacodynamic model building aid for NONMEM. *Comput Methods Programs Biomed* 1999, 58(1): 51-64.
34. Lindbom L, Ribbing J, Jonsson EN. Perl-speaks-NONMEM (PsN)--a Perl module for NONMEM related programming. *Comput Methods Programs Biomed* 2004, 75(2): 85-94.
35. R Development Core Team. *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria 2010.
36. Guidance for industry on Population Pharmacokinetics; availability. Food and Drug Administration, HHS. Notice. *Fed Regist* 1999, 64(27): 6663-6664.
37. Yano Y, Beal SL, Sheiner LB. Evaluating pharmacokinetic/pharmacodynamic models using the posterior predictive check. *J Pharmacokinet Pharmacodyn* 2001, 28(2): 171-192.

SUPPLEMENTARY MATERIAL – MANUSCRIPT III

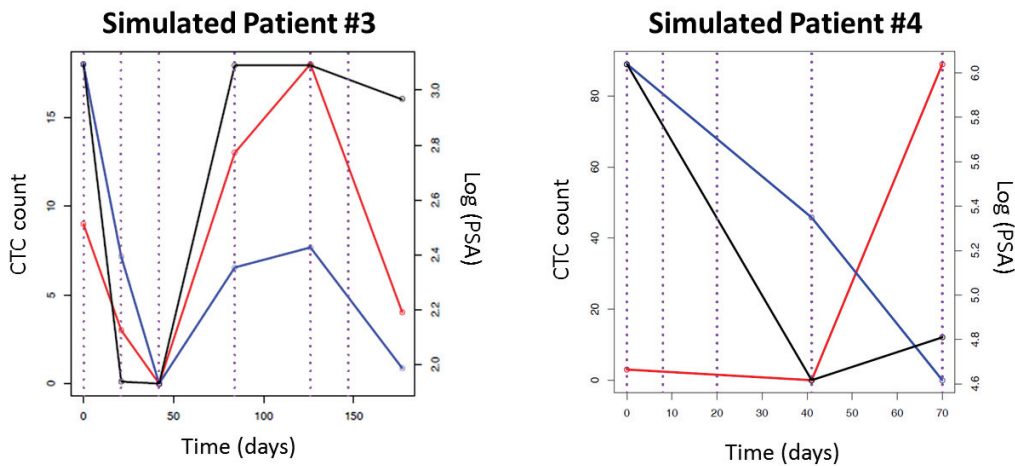
Supplementary Material 1 – Heterogeneity of individual kinetic profiles

Figure S1 - Different types of observed individual kinetic profiles



Blue curves represent the PSA kinetics and red curves the CTC kinetics. Vertical dashed lines represent the treatment cycles: chemotherapy in black, hormonotherapy in green, and both treatments administered simultaneously in purple.

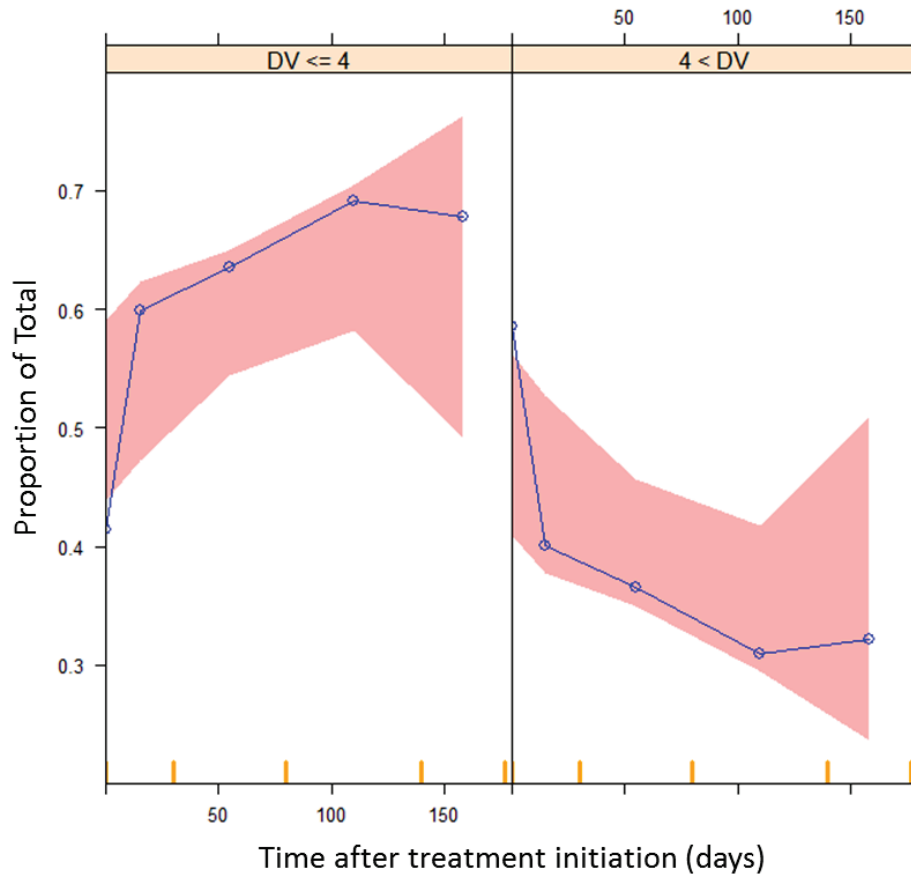
Figure S3 - Different types of simulated individual kinetic profiles



Blue curves represent PSA kinetics, red curves CTC kinetics, and black curves the latent variable kinetics. Vertical dashed lines represent the treatment cycles.

Supplementary Material 2 – Categorical VPCs for the dichotomized CTC count (<5 vs ≥ 5)

Figure S2 – Categorical VPCs (CTC count <5 vs CTC count ≥ 5)

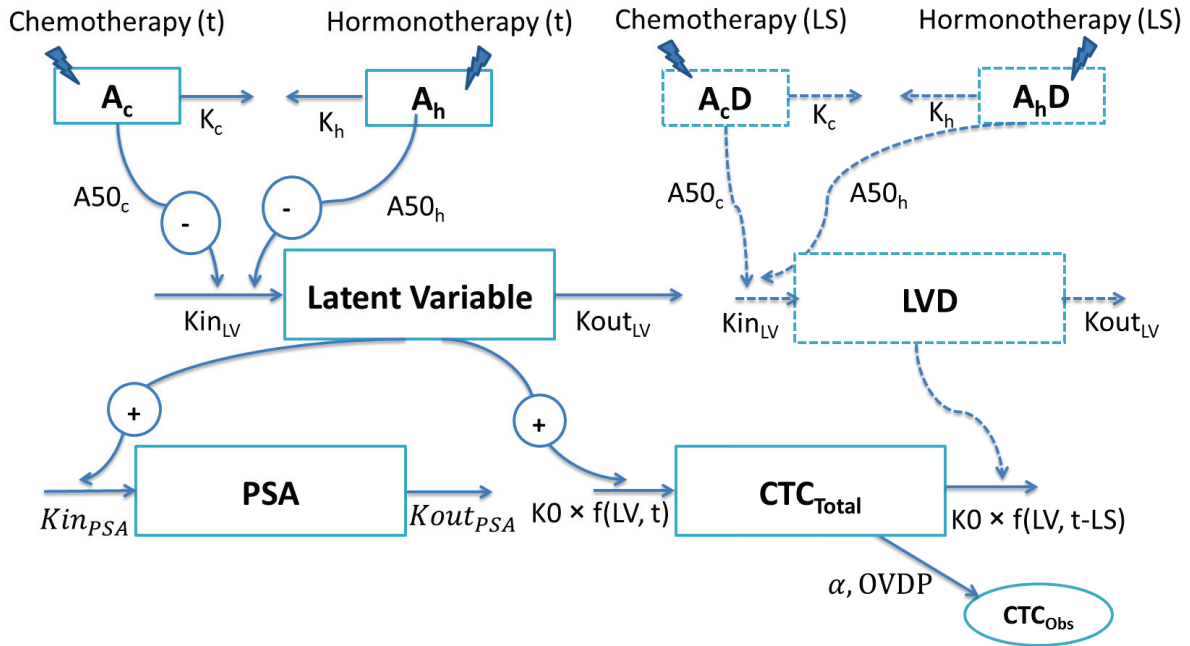


The probabilities of having a number of CTCs lower than 5 or greater than 5 were plotted versus time. Red areas are the 95% confidence intervals of the simulated median probabilities. Blue lines are the observed probabilities.

Supplementary Material 3 – Model including the delayed compartments

To estimate the CTC lifespan, the model was implemented in NONMEM using delayed compartments with the ALAG function. Figure S4 represents the model including the delayed compartments.

Figure S4 – Model including the delayed compartments



This model was described by the following equations:

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{dA_c}{dt} = -K_c \times A_c \\ \frac{dA_cD}{dt} = -K_c \times A_cD \\ \frac{dA_h}{dt} = -K_h \times A_h \\ \frac{dA_hD}{dt} = -K_h \times A_hD \\ \frac{dLV}{dt} = Kin_{LV} \times \left(1 - \frac{A_c}{A50_c + A_c}\right) \times \left(1 - \frac{A_h}{A50_h + A_h}\right) - Kout_{LV} \times LV \\ \frac{dLVD}{dt} = Kin_{LV} \times \left(1 - \frac{A_cD}{A50_c + A_cD}\right) \times \left(1 - \frac{A_hD}{A50_h + A_hD}\right) - Kout_{LV} \times LVD \\ \frac{dPSA}{dt} = Kin_{PSA} \times LV - Kout_{PSA} \times PSA \\ \frac{dCTC_{Total}}{dt} = KO \times LV - KO \times LVD \end{array} \right.$$

A_c and A_h represent drug amounts in the chemotherapy and the hormonotherapy compartments (*Arbitrary Unit, AU*), respectively. A_cD and A_hD represent drug amounts in the delayed chemotherapy and the delayed hormonotherapy compartments (*Arbitrary Unit, AU*), respectively. K_c and K_h are the chemotherapy and hormonotherapy kinetics rate constants, respectively (day^{-1}). $A50_c$ and $A50_h$ respectively are the amounts of each treatment producing 50% of the maximum effect (*AU*). LV corresponds to the latent variable (*AU*), and Kin_{LV} and $Kout_{LV}$ are their production and elimination rates ($AU \cdot day^{-1}$ and day^{-1}), respectively. LVD corresponds to the delayed latent variable (*AU*). Kin_{PSA} and $Kout_{PSA}$ correspond to the PSA production and elimination rates ($ng \cdot ml^{-1} \cdot day^{-1} \cdot AU^{-1}$ and day^{-1}), respectively. KO is the CTC production rate ($CTC \cdot day^{-1} \cdot AU^{-1}$).

The initial conditions of the model at time 0 were as follows:

$$\left\{ \begin{array}{l} A_c(0) = 0 \\ A_cD(0) = 0 \\ A_h(0) = 0 \\ A_hD(0) = 0 \\ LV(0) = LV_0 \text{ with } LV_0 < \frac{Kin_{LV}}{Kout_{LV}} \\ LVD(0) = LV_0 \\ PSA(0) = PSA_0 \\ CTC_{Total}(0) = K0 \times LS \times LV_0 \end{array} \right.$$

$$LS = ALAG_{A_cD} = ALAG_{A_hD} = ALAG_{LVD}$$

LV_0 and PSA_0 are the initial latent variable value (AU) and the initial PSA concentration (ng/ml), respectively. LS correspond to the CTC lifespan (day).

Supplementary Material 4 – NONMEM code

\$PROBLEM Joint model of PSA and CTC count kinetics in mCRPC patients

\$INPUT ID TIME AMT DV CMT MDV

\$DATA ...

\$SUBROUTINE ADVAN13 TOL=9

\$MODEL NCOMP=8

COMP = (A1) ; PK chemotherapy

COMP = (A2) ; PK hormonotherapy

COMP = (A3) ; Latent Variable

COMP = (A4) ; CTC

COMP = (A5) ; Delayed PK chemotherapy

COMP = (A6) ; Delayed PK hormonotherapy

COMP = (A7) ; Delayed Latent Variable

COMP = (A8) ; PSA

\$PK CALLFL=-2 ; Call the PK subroutine with every event record, with additional and lagged doses

MU_1=LOG(THETA(1))

LV0=EXP(MU_1+ETA(1)) ; Initial Latent Variable

MU_2=LOG(THETA(2))

Kc=EXP(MU_2+ETA(2)) ; Chemotherapy kinetic rate constant

MU_3=LOG(THETA(3))

Kh=EXP(MU_3+ETA(3)) ; Hormonotherapy kinetic rate constant

MU_4=LOG(THETA(4))

A50c=EXP(MU_4+ETA(4)) ; Amount of chemotherapy producing 50% of the maximum effect

MU_5=LOG(THETA(5))

A50h=EXP(MU_5+ETA(5)) ; Amount of hormonotherapy producing 50% of the maximum effect

MU_6=LOG(THETA(6))

KOUTLV=EXP(MU_6+ETA(6)) ; Latent Variable elimination rate constant

Chapitre III – Modélisation des cinétiques des CTCs et du PSA dans le cancer de la prostate

MU_7=THETA(7)
TH=EXP(MU_7+ETA(7))
KINLV=(TS0*KOUTTS)/((TH)/(1+(TH))) ; Latent Variable production rate

MU_8=LOG(THETA(8))
KINPSA=EXP(MU_8+ETA(8)) ; PSA production rate

MU_9=LOG(THETA(9))
KOUTPSA=EXP(MU_9+ETA(9)) ; PSA elimination rate constant

MU_10=LOG(THETA(10))
PSA0=EXP(MU_10+ETA(10)) ; Initial PSA concentration

MU_11=THETA(11)
K0=MU_11+ETA(11) ; CTC production rate

MU_12=THETA(12)
ALAG5=MU_12+ETA(12) ; Delay duration, lifespan (LS)
ALAG6=ALAG5
ALAG7=ALAG5

F4=K0*ALAG5 ; Initial condition for CTC: CTC(0)=K0*LS*LV0 (LV0=1)

MU_13=LOG(THETA(13))
OVDP=EXP(MU_13+ETA(13)) ; Overdispersion

MU_14=LOG(THETA(14))
W1=EXP(MU_14+ETA(14)) ; Standard deviation for PSA residual error

; Initial Conditions at time 0:

A_0(1)=0
A_0(2)=0
A_0(3)=LV0
A_0(5)=0
A_0(6)=0
A_0(7)=LV0
A_0(8)=PSA0

\$DES

DADT(1)=-Kc*A(1) ; Time course of chemotherapy amount
DADT(2)=-Kh*A(2) ; Time course of hormonotherapy amount
DADT(3)=KINLV*(1-(A(1)/(A50c+A(1))))*(1-(A(2)/(A50h+A(2))))-KOUTLV*A(3) ; Time course of LV
DADT(5)=-Kc*A(5) ; Delayed time course of chemotherapy amount
DADT(6)=-Kh*A(6) ; Delayed time course of hormonotherapy amount

DADT(7)=KINLV*(1-(A(5)/(A50c+A(5))))*(1-(A(6)/(A50h+A(6))))-KOUTLV*A(7) ; Delayed time course of LV

A7=LV0

IF(T.GT.ALAG5) A7=A(7)

DADT(4)=K0*A(3)-K0*A(7) ; Time course of total CTCs
DADT(8)=KINPSA*A(3)-KOUTPSA*A(8) ; Time course of PSA

\$ERROR

LAMB=A(4)*0.0015 ; Expected number of CTCs in the aliquot

PSA=A(8)
nCTC=DV

; Factorial:

```
LFAC=GAMLN(nCTC+1.)
```

```
;gamma functions of the negative binomial model expression:
```

```
LGAM1=GAMLN(nCTC+1/OVDP)
```

```
LGAM2=GAMLN(1/OVDP)
```

```
LTRM1=(LOG(1/(1+OVDP*LAMB)))*(1/OVDP)
```

```
LTRM2=(LOG(LAMB/(LAMB+1/OVDP)))*(nCTC)
```

```
;Logarithm of the Negative Binomial distribution:
```

```
LNB=LGAM1-LFAC-LGAM2+LTRM1+LTRM2
```

```
IF (CMT.EQ.4) THEN
```

```
F_FLAG=2
```

```
Y=-2*LNB ; -2 Log Likelihood
```

```
ENDIF
```

```
IF (CMT.EQ.8) THEN
```

```
F_FLAG=0
```

```
IPRED=LOG(PSA)
```

```
Y=IPRED+W1*ERR(1)
```

```
IRES=DV-IPRED
```

```
IWRES=IRES/W1
```

```
ENDIF
```

```
$THETA (...)
```

```
$OMEGA (...)
```

```
$SIGMA (...)
```

```
$ESTIMATION (...)
```

```
$TABLE (...)
```


DISCUSSION ET CONCLUSION

DISCUSSION GENERALE ET PERSPECTIVES

Dans les travaux de cette thèse, nous nous sommes intéressés à l'évaluation de l'efficacité des traitements au moyen de biomarqueurs. En effet, au niveau individuel, le choix de la stratégie thérapeutique la plus adaptée requiert une évaluation appropriée de la maladie pendant le traitement. Cependant la charge tumorale est souvent difficilement mesurable par imagerie dans les cancers de l'ovaire ou de prostate, limitant l'utilisation de critères tels que le RECIST. Par ailleurs, dans le développement du médicament en oncologie, un gain en termes de survie est le *gold-standard* pour évaluer le bénéfice d'un nouveau traitement. Mais le jugement d'un tel critère nécessite des études cliniques longues avec de larges effectifs, incompatible avec les essais précoces. Outre un coût élevé lié à une surveillance régulière à long terme, l'allongement de la période de suivi a pour conséquence de retarder les conclusions de l'essai et la mise à disposition à l'ensemble des patients d'une thérapie potentiellement efficace. Par conséquent, le développement de prédicteurs précoces du bénéfice clinique est nécessaire pour une meilleure prise en charge des patients, mais également pour accélérer le développement des médicaments.

Avantages de l'approche de population pour l'analyse de la cinétique des marqueurs tumoraux :

Depuis quelques années, des stratégies sont en cours de développement pour faciliter la caractérisation des variations tumorales pendant traitement. L'analyse des marqueurs tumoraux sériques a été largement étudiée. En effet, intuitivement, le marqueur tumoral étant essentiellement produit par la tumeur, on s'attend à observer un lien, plus ou moins direct entre les variations de taille tumorale et la cinétique de celui-ci. Le CA-125 dans le cancer de l'ovaire et le PSA dans le cancer de la prostate sont fréquemment utilisés. De nombreux critères d'évaluation de l'efficacité d'un traitement ont été publiés

dans la littérature, mais le seul actuellement reconnu par les autorités de santé est le pourcentage de réduction ou d'augmentation du marqueur sous traitement (Rustin *et al*, 2011; Scher *et al*, 2008). Cependant, ceux-ci sont souvent remis en question et présentent de nombreux inconvénients. La FDA a ainsi publiée des recommandations encourageant le développement de modèles mathématiques et statistiques (US Food and Drug Administration, 2004). C'est dans ce contexte que nous avons décidé d'appliquer les techniques de pharmacométrie.

Nous avons donc proposé l'utilisation de la modélisation mathématique via l'approche de population pour décrire les cinétiques de plusieurs marqueurs tumoraux sériques pendant traitement. Cette approche permet : i) de modéliser la cinétique d'un marqueur tumoral dans une population de patients ; ii) de quantifier les variabilités inter- et intra-individuelles ; et iii) d'évaluer l'influence de covariables individuelles sur la variabilité inexplicite. Elle présente un certain nombre d'avantages, comparé aux méthodes d'analyses standards, puisqu'elle permet de travailler avec peu de points par patient (*sparse data*) et sur des données hétérogènes, provenant de patients non sélectionnés. Enfin, cette approche permet de prendre en compte la dynamique de tout le système.

La modélisation mathématique par l'approche de population a été utilisée afin de répondre aux principaux objectifs de cette thèse : i) caractériser la relation entre concentration de biomarqueur et charge tumorale ; ii) quantifier l'impact d'une variation précoce de biomarqueur sur la survie sans progression ; et iii) évaluer l'intérêt de nouveaux biomarqueurs.

Utilisation de la modélisation pour la prédiction de la réponse tumorale au niveau individuelle :

Nous avons construit un modèle reliant la dynamique tumorale à la cinétique du CA-125 chez des patientes sous chimiothérapie en rechute d'un cancer de l'ovaire. Nous avons abordé son application en pratique clinique pour la prédiction et la prévision de l'évolution de la réponse tumorale à partir du CA-125. De façon pratique, la prédiction des variations de taille tumorale peut être un outil utile à l'évaluation de la résecabilité des lésions résiduelles par chirurgie après 3 ou 6 cycles de chimiothérapie. Pour cela, il

serait nécessaire de valider ce modèle dans une étude prospective. On pourrait imaginer un essai dont l'objectif serait de tester si l'utilisation du modèle pour évaluer l'efficacité d'un traitement permettrait d'améliorer la qualité de vie et la survie des patientes, mais également de diminuer les coûts associés à leur prise en charge. Ainsi, on pourrait comparer deux groupes de patientes en rechute d'un cancer de l'ovaire, toutes traitées par le traitement standard carboplatine-paclitaxel :

- un groupe contrôle dont l'efficacité du traitement serait évaluée par les techniques habituelles (critère de Rustin et critère RECIST) ;
- un groupe test dont l'efficacité du traitement serait évaluée à partir du modèle et des observations de taille tumorale et de CA-125 à différents temps (avec un minimum de deux échantillons), par exemple à chaque visite de la patiente, durant les 3 premiers cycles.

Dans chacun des groupes, ce serait ensuite au médecin de choisir si le traitement a besoin d'être adapté, arrêté ou changé. Dans cet essai, le critère principal serait la variation de CA-125 (Δ CA125) et la PFS, et les critères secondaires la survie globale, les effets secondaires, ainsi que les coûts associés à la prise en charge des patientes (chimiothérapie, dosages, personnels...).

Par ailleurs, dans de futures études, il serait intéressant de recueillir des données PK, doses et concentrations à différents temps, afin d'ajuster le modèle actuel K-PD en un modèle PK-PD plus complet et plus proche de la réalité.

Utilisation de la modélisation pour la prédiction de la PFS au niveau d'une population :

Nous avons ensuite étudié l'application de la modélisation mathématique pour accélérer le développement du médicament. Nous avons ainsi développé un modèle quantifiant le lien entre la variation précoce de CA-125 modélisée (Δ CA125) et la PFS. Par ailleurs, dans notre étude, la variation relative de CA-125 était un meilleur prédicteur que la variation relative de taille tumorale, ce qui ouvre des perspectives intéressantes car les prélèvements sanguins sont moins coûteux, moins invasifs et plus faciles à exécuter que l'imagerie.

En pratique, ce modèle pourrait être utilisé à partir de données de Phase II ou de données précoces de Phase III chez des patientes atteintes d'un cancer de l'ovaire. Premièrement il faudrait calculer les ΔCA125 de chaque patiente ; deux situations peuvent être envisagées :

- calcul d'un ΔCA125 observé à partir des observations de CA-125 au temps 0 et à la semaine 6 ;
- calcul d'un ΔCA125 modélisé à partir d'une estimation bayésienne des CA-125 au temps 0 et à la semaine 6. Il faudrait, pour cela, prévoir des dosages de CA-125 toutes les semaines jusqu'à la semaine 6.

Les ΔCA125 calculés à partir des données modélisées de CA-125 sont préférables aux ΔCA125 obtenus directement à partir des observations, car la modélisation prend en compte toutes les données longitudinales et élimine tout bruit dû à des erreurs de mesures ou à des temps d'observations variables.

Ensuite, le modèle de PFS pourrait être utilisé : i) pour prédire, de façon précoce, une PFS médiane dans une population en Phase II, et la comparer à une PFS médiane d'un précédent essai, ou ii) pour prédire, de façon précoce, le rapport des PFS médianes de deux bras de patientes d'une Phase III. De plus, si la PK était intégrée au modèle TS-CA, il serait possible de réaliser des simulations de dose-réponse puis de distribution de PFS, afin d'explorer les doses et schémas optimaux d'un médicament.

Pour évaluer ce modèle de manière prospective, il faudrait l'appliquer à partir des données de CA-125 d'un essai actuellement en cours afin de prédire les conclusions, avant la fin de celui-ci.

Enfin, un autre type de modèle pourrait être construit sur ces données, en intégrant directement la cinétique du CA-125 prédite au modèle de PFS, comme il a été fait par Hansson et al. avec le marqueur sVEGFR-3 (*soluble Vascular Endothelial Growth Factor Receptor*) dans les tumeurs gastro-intestinales (Hansson *et al*, 2013).

Nous avons montré que le ΔCA125 semble être un bon marqueur prédictif de la PFS. Cependant, seules les méta-analyses d'essais randomisés peuvent valider statistiquement un critère de substitution pour la survie. Par ailleurs, un autre volet de

recherche serait d'étudier l'intérêt de la modélisation des cinétiques de CA-125 lors de l'utilisation des thérapeutiques ciblées.

Construction d'un modèle atypique combinant des innovations en pharmacométrie pour un marqueur moderne :

Dans la dernière partie de cette thèse, nous avons construit un modèle décrivant les cinétiques conjointes de CTCs et de PSA pendant traitement chez des patients atteints d'un cancer de la prostate métastatique. L'analyse de ce nouveau type de marqueur a nécessité le développement d'un modèle original et atypique regroupant plusieurs innovations de pharmacométrie. Des simulations ont permis de montrer que la cinétique des CTCs semblait être un marqueur plus précoce que celle du PSA. Cependant, cette conclusion reste discutable puisque les données de CTCs sont exposées à des erreurs d'échantillonnage. De plus, le dosage des CTCs par la technique *CellSearch* est plus coûteux qu'un dosage du PSA.

Par ailleurs, nous avons vu que ce modèle ne pouvait pas être utilisable en tant que tel pour l'instant. En effet, il est prévu de relier un des paramètres lié au CTC, ou à la variable latente, avec la survie, mais également de comparer les sensibilités et spécificités de chaque marqueur pour la prédiction de la survie.

Ce modèle doit également être validé de façon externe sur une base de données indépendante. Pour de futures études, il faudrait récolter des covariables susceptibles d'expliquer une partie de la variabilité (comme des données de profils génétiques par exemple) ainsi que des données de taille tumorale pouvant être incluses à la place de la variable latente. Enfin, de même que pour le modèle de CA-125, des données PK permettraient d'ajuster le modèle K-PD en PK-PD. Par ailleurs, les CTCs étant retrouvées dans tous types de cancers solides, ce type de modèle pourrait potentiellement être applicable, en ajustant les paramètres, dans les cancers du sein ou colorectaux.

Limites générales :

Les travaux réalisés dans cette thèse présentent, malgré tout, un certain nombre de limites susceptibles de réduire leur intérêt. Avant tout, la prédiction de l'évolution de la maladie ne peut avoir d'intérêt uniquement s'il existe un traitement alternatif. Par ailleurs, la modélisation nécessite la prise en compte de nombreuses simplifications et hypothèses sur les mécanismes de production, d'élimination, de lien avec un autre marqueur... L'interprétation des paramètres est ainsi souvent délicate. De nombreux autres mécanismes ou voies de signalisation peuvent aussi entrer en jeu et représenter des facteurs confondants. De plus, la complexité des analyses pourrait contribuer à réduire la faisabilité et l'extension de cette approche pour l'étude d'autres marqueurs tumoraux. Enfin, l'intérêt de l'approche de population dans l'analyse de la cinétique des marqueurs tumoraux doit être encore confirmé sur les données d'études rétrospectives ou prospectives impliquant des cohortes de patients indépendantes.

CONCLUSION

En oncologie, il est nécessaire d'améliorer l'évaluation de l'efficacité aux traitements. L'utilisation des marqueurs tumoraux permettrait le recours à un critère non invasif mesurable plus précocement.

Dans les travaux de cette thèse, les techniques de pharmacométrie ont permis de tester les propriétés prédictives du CA-125 en tant que biomarqueur de la dynamique tumorale, afin de prédire de façon précoce l'efficacité d'un traitement chez des patientes atteintes d'un cancer de l'ovaire. La modélisation des profils cinétiques du CA-125 peut également être un marqueur prédictif du gain espéré en termes de PFS, et peut représenter un outil de prédiction précoce pour guider les décisions dans le développement et l'évaluation de nouveaux traitements. Nous avons également construit un modèle permettant de prédire les données de CTCs, nouveau marqueur émergent, dans le cancer de la prostate, qui devra plus tard être lié à la survie.

L'utilisation des marqueurs pour évaluer l'efficacité d'un traitement dans les cancers solides pourrait devenir un élément indispensable pour le clinicien. Les approches présentées dans cette thèse sont susceptibles d'améliorer le développement du médicament en oncologie et de diminuer les risques d'échecs et les coûts associés. De plus, elles peuvent améliorer la prise en charge des patients pour procéder au changement d'une thérapie inefficace le plus tôt possible. Malgré la complexité de ces modèles mathématiques, il serait possible de les implémenter dans un logiciel et de créer un site internet ou une application, permettant leur utilisation par des cliniciens ou des personnes non familières avec la modélisation.

BIBLIOGRAPHIE

- Adhyam M, Gupta AK (2013) A Review on the Clinical Utility of PSA in Cancer Prostate. *Indian J Surg Oncol* **3**: 120-9
- Agarwal N, Di Lorenzo G, Sonpavde G, Bellmunt J (2014) New agents for prostate cancer. *Ann Oncol*
- Allan AL, Keeney M (2010) Circulating tumor cell analysis: technical and statistical considerations for application to the clinic. *J Oncol* **2010**: 426218
- Almufti R, Wilboux M, Oza A, Henin E, Freyer G, Tod M, Colomban O, You B (2013) A critical review of the analytical approaches for circulating tumor biomarker kinetics during treatment. *Ann Oncol* **25**: 41-56
- Amling CL, Bergstralh EJ, Blute ML, Slezak JM, Zincke H (2001) Defining prostate specific antigen progression after radical prostatectomy: what is the most appropriate cut point? *J Urol* **165**: 1146-51
- Ashworth TR (1869) A case of cancer in which cells similar to those in the tumours were seen in the blood after death. *The Medical Journal of Australia* **14**: 146-147
- Attard G, Swennenhuis JF, Olmos D, Reid AH, Vickers E, A'Hern R, Levink R, Coumans F, Moreira J, Riisnaes R, Oommen NB, Hawche G, Jameson C, Thompson E, Sipkema R, Carden CP, Parker C, Dearnaley D, Kaye SB, Cooper CS, Molina A, Cox ME, Terstappen LW, de Bono JS (2009) Characterization of ERG, AR and PTEN gene status in circulating tumor cells from patients with castration-resistant prostate cancer. *Cancer Res* **69**: 2912-8
- Balk SP, Ko YJ, Bubley GJ (2003) Biology of prostate-specific antigen. *J Clin Oncol* **21**: 383-91
- Bast RC, Jr., Feeney M, Lazarus H, Nadler LM, Colvin RB, Knapp RC (1981) Reactivity of a monoclonal antibody with human ovarian carcinoma. *J Clin Invest* **68**: 1331-7
- Bast RC, Jr., Klug TL, St John E, Jenison E, Niloff JM, Lazarus H, Berkowitz RS, Leavitt T, Griffiths CT, Parker L, Zurawski VR, Jr., Knapp RC (1983) A radioimmunoassay using a monoclonal antibody to monitor the course of epithelial ovarian cancer. *N Engl J Med* **309**: 883-7
- Beal SL, Sheiner LB, Boeckmann A, Bauer RJ (2009) NONMEM User's Guides (1989-2009). *Ellicott City, MD, USA: Icon Development Solutions*
- Bender BC, Schindler E, Friberg LE (2013) Population pharmacokinetic pharmacodynamic modelling in oncology: a tool for predicting clinical response. *Br J Clin Pharmacol*
- Berek JS, Crum C, Friedlander M (2012) Cancer of the ovary, fallopian tube, and peritoneum. *Int J Gynaecol Obstet* **119 Suppl 2**: S118-29

- Biomarkers Definitions Working Group (2001) Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. *Clin Pharmacol Ther* **69**: 89-95
- Bookman MA, Malmstrom H, Bolis G, Gordon A, Lissoni A, Krebs JB, Fields SZ (1998) Topotecan for the treatment of advanced epithelial ovarian cancer: an open-label phase II study in patients treated after prior chemotherapy that contained cisplatin or carboplatin and paclitaxel. *J Clin Oncol* **16**: 3345-52
- Box GEP, Cox DR (1964) An Analysis of Transformations. *Journal of the Royal Statistical Society Series B (Methodological)* **26**: 211-252
- 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**: 2036-49
- Brendel K, Dartois C, Comets E, Lemenuel-Diot A, Laveille C, Tranchand B, Girard P, Laffont CM, Mentre F (2007) Are population pharmacokinetic and/or pharmacodynamic models adequately evaluated? A survey of the literature from 2002 to 2004. *Clin Pharmacokinet* **46**: 221-34
- Bruno R, Mercier F, Claret L (2014) Evaluation of tumor size response metrics to predict survival in oncology clinical trials. *Clin Pharmacol Ther* **95**: 386-93
- Bubendorf L, Schopfer A, Wagner U, Sauter G, Moch H, Willi N, Gasser TC, Mihatsch MJ (2000) Metastatic patterns of prostate cancer: an autopsy study of 1,589 patients. *Hum Pathol* **31**: 578-83
- Cary KC, Cooperberg MR (2013) Biomarkers in prostate cancer surveillance and screening: past, present, and future. *Ther Adv Urol* **5**: 318-29
- Catalona WJ, Smith DS, Ratliff TL, Dodds KM, Coplen DE, Yuan JJ, Petros JA, Andriole GL (1991) Measurement of prostate-specific antigen in serum as a screening test for prostate cancer. *N Engl J Med* **324**: 1156-61
- Chan DL, Morris DL, Rao A, Chua TC (2012) Intraperitoneal chemotherapy in ovarian cancer: a review of tolerance and efficacy. *Cancer Manag Res* **4**: 413-22
- Chiaffarino F, Pelucchi C, Parazzini F, Negri E, Franceschi S, Talamini R, Conti E, Montella M, La Vecchia C (2001) Reproductive and hormonal factors and ovarian cancer. *Ann Oncol* **12**: 337-41
- Claret L, Girard P, Hoff PM, Van Cutsem E, Zuideveld KP, Jorga K, Fagerberg J, Bruno R (2009) Model-based prediction of phase III overall survival in colorectal cancer on the basis of phase II tumor dynamics. *J Clin Oncol* **27**: 4103-8
- Claret L, Girard P, O'Shaughnessy J (2006) Model-based predictions of expected anti-tumor response and survival in Phase III studies based on phase II data of an investigational agent. *J Clin Oncol* **24**: 307s (suppl; abstr 6025)
- Cohen SJ, Punt CJ, Iannotti N, Saidman BH, Sabbath KD, Gabrail NY, Picus J, Morse M, Mitchell E, Miller MC, Doyle GV, Tissing H, Terstappen LW, Meropol NJ (2008) Relationship of circulating tumor cells to tumor response, progression-free survival, and overall survival in patients with metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* **26**: 3213-21
- Coumans FA, Siesling S, Terstappen LW (2013) Detection of cancer before distant metastasis. *BMC Cancer* **13**: 283

Bibliographie

Cristofanilli M, Budd GT, Ellis MJ, Stopeck A, Matera J, Miller MC, Reuben JM, Doyle GV, Allard WJ, Terstappen LW, Hayes DF (2004) Circulating tumor cells, disease progression, and survival in metastatic breast cancer. *N Engl J Med* **351**: 781-91

D'Amico AV, Whittington R, Malkowicz SB, Cote K, Loffredo M, Schultz D, Chen MH, Tomaszewski JE, Renshaw AA, Wein A, Richie JP (2002) Biochemical outcome after radical prostatectomy or external beam radiation therapy for patients with clinically localized prostate carcinoma in the prostate specific antigen era. *Cancer* **95**: 281-6

Danila DC, Pantel K, Fleisher M, Scher HI (2011) Circulating tumors cells as biomarkers: progress toward biomarker qualification. *Cancer J* **17**: 438-50

Dayneka NL, Garg V, Jusko WJ (1993) Comparison of four basic models of indirect pharmacodynamic responses. *J Pharmacokinet Biopharm* **21**: 457-78

de Bono JS, Logothetis CJ, Molina A, Fizazi K, North S, Chu L, Chi KN, Jones RJ, Goodman OB, Jr., Saad F, Staffurth JN, Mainwaring P, Harland S, Flaig TW, Hutson TE, Cheng T, Patterson H, Hainsworth JD, Ryan CJ, Sternberg CN, Ellard SL, Flechon A, Saleh M, Scholz M, Efsthathiou E, Zivi A, Bianchini D, Loriot Y, Chieffo N, Kheoh T, Haqq CM, Scher HI (2011) Abiraterone and increased survival in metastatic prostate cancer. *N Engl J Med* **364**: 1995-2005

de Bono JS, Scher HI, Montgomery RB, Parker C, Miller MC, Tissing H, Doyle GV, Terstappen LW, Pienta KJ, Raghavan D (2008) Circulating tumor cells predict survival benefit from treatment in metastatic castration-resistant prostate cancer. *Clin Cancer Res* **14**: 6302-9

Dempster AP, Laird NM, Rubin DB (1977) Maximum Likelihood from Incomplete Data via the EM Algorithm. *Journal of the Royal Statistical Society Series B (Methodological)* **39**: 1-38

du Bois A, Herrstedt J, Hardy-Bessard AC, Muller HH, Harter P, Kristensen G, Joly F, Huober J, Avall-Lundqvist E, Weber B, Kurzeder C, Jelic S, Pujade-Lauraine E, Burges A, Pfisterer J, Gropp M, Staehle A, Wimberger P, Jackisch C, Sehouli J (2010) Phase III trial of carboplatin plus paclitaxel with or without gemcitabine in first-line treatment of epithelial ovarian cancer. *J Clin Oncol* **28**: 4162-9

du Bois A, Weber B, Rochon J, Meier W, Goupil A, Olbricht S, Barats JC, Kuhn W, Orfeuvre H, Wagner U, Richter B, Lueck HJ, Pfisterer J, Costa S, Schroeder W, Kimmig R, Pujade-Lauraine E (2006) Addition of epirubicin as a third drug to carboplatin-paclitaxel in first-line treatment of advanced ovarian cancer: a prospectively randomized gynecologic cancer intergroup trial by the Arbeitsgemeinschaft Gynaekologische Onkologie Ovarian Cancer Study Group and the Groupe d'Investigateurs Nationaux pour l'Etude des Cancers Ovariens. *J Clin Oncol* **24**: 1127-35

Duffy MJ, Bonfrer JM, Kulpa J, Rustin GJ, Soletormos G, Torre GC, Tuxen MK, Zwirner M (2005) CA125 in ovarian cancer: European Group on Tumor Markers guidelines for clinical use. *Int J Gynecol Cancer* **15**: 679-91

Efron B (1978) Bootstrap methods: another look at the Jackknife. *Ann Stat* **7**: 1-26

Egevad L (2008) Recent trends in Gleason grading of prostate cancer: I. Pattern interpretation. *Anal Quant Cytol Histol* **30**: 190-8

Eisenhauer EA, Therasse P, Bogaerts J, Schwartz LH, Sargent D, Ford R, Dancey J, Arbuck S, Gwyther S, Mooney M, Rubinstein L, Shankar L, Dodd L, Kaplan R, Lacombe D, Verweij J (2009) New response evaluation criteria in solid tumours: revised RECIST guideline (version 1.1). *Eur J Cancer* **45**: 228-47

- Ette EI, Williams PJ (2004) Population pharmacokinetics II: estimation methods. *Ann Pharmacother* **38**: 1907-15
- European Medicines Agency (2007) Guideline on reporting the results of population pharmacokinetic analyses. *Committee for Medical Products for Human use (CHMP)*
- FIGO Oncology Committee (2002) FIGO staging for gestational trophoblastic neoplasia 2000. FIGO Oncology Committee. *Int J Gynaecol Obstet* **77**: 285-7
- Fitzpatrick JM, Banu E, Oudard S (2009) Prostate-specific antigen kinetics in localized and advanced prostate cancer. *BJU Int* **103**: 578-87
- Food and Drug Administration (1999) *Guidance for Industry : Population Pharmacokinetics*. Rockville, Maryland, USA: FDA.
- Food and Drug Administration (2009) *Guidance for Industry : Patient-Reported Outcome Measures: Use in Medical Product Development to Support Labeling Claims*: FDA.
- Gann PH (2002) Risk factors for prostate cancer. *Rev Urol* **4 Suppl 5**: S3-S10
- Goldkorn A, Ely B, Quinn DI, Tangen CM, Fink LM, Xu T, Twardowski P, Van Veldhuizen PJ, Agarwal N, Carducci MA, Monk JP, 3rd, Datar RH, Garzotto M, Mack PC, Lara P, Jr., Higano CS, Hussain M, Thompson IM, Jr., Cote RJ, Vogelzang NJ (2014) Circulating Tumor Cell Counts Are Prognostic of Overall Survival in SWOG S0421: A Phase III Trial of Docetaxel With or Without Atrasentan for Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer. *J Clin Oncol* **32**: 1136-42
- Gordon AN, Tonda M, Sun S, Rackoff W (2004) Long-term survival advantage for women treated with pegylated liposomal doxorubicin compared with topotecan in a phase 3 randomized study of recurrent and refractory epithelial ovarian cancer. *Gynecol Oncol* **95**: 1-8
- Gupta D, Lis CG (2009) Role of CA125 in predicting ovarian cancer survival - a review of the epidemiological literature. *J Ovarian Res* **2**: 13
- Hanlon AL, Moore DF, Hanks GE (1998) Modeling postradiation prostate specific antigen level kinetics: predictors of rising postnadir slope suggest cure in men who remain biochemically free of prostate carcinoma. *Cancer* **83**: 130-4
- Hansson EK, Amantea MA, Westwood P, Milligan PA, Houk BE, French J, Karlsson MO, Friberg LE (2013) PKPD Modeling of VEGF, sVEGFR-2, sVEGFR-3, and sKIT as Predictors of Tumor Dynamics and Overall Survival Following Sunitinib Treatment in GIST. *CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol* **2**: e84
- Heagerty PJ, Zheng Y (2005) Survival model predictive accuracy and ROC curves. *Biometrics* **61**: 92-105
- Holford N (2013) A time to event tutorial for pharmacometricians. *CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol* **2**: e43
- Holschneider CH, Berek JS (2000) Ovarian cancer: epidemiology, biology, and prognostic factors. *Semin Surg Oncol* **19**: 3-10
- Hu C (2014) Exposure-response modeling of clinical end points using latent variable indirect response models. *CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol* **3**: e117

Bibliographie

- Hu C, Sale ME (2003) A joint model for nonlinear longitudinal data with informative dropout. *J Pharmacokinet Pharmacodyn* **30**: 83-103
- International Germ Cell Cancer Collaborative Group (1997) International Germ Cell Consensus Classification: a prognostic factor-based staging system for metastatic germ cell cancers. *J Clin Oncol* **15**: 594-603
- Jaaback K, Johnson N (2006) Intraperitoneal chemotherapy for the initial management of primary epithelial ovarian cancer. *Cochrane Database Syst Rev*: CD005340
- Jacqmin P, Snoeck E, van Schaick EA, Gieschke R, Pillai P, Steimer JL, Girard P (2007) Modelling response time profiles in the absence of drug concentrations: definition and performance evaluation of the K-PD model. *J Pharmacokinet Pharmacodyn* **34**: 57-85
- Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D (2011) Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* **61**: 69-90
- Kaku T, Ogawa S, Kawano Y, Ohishi Y, Kobayashi H, Hirakawa T, Nakano H (2003) Histological classification of ovarian cancer. *Med Electron Microsc* **36**: 9-17
- Karrison TG, Maitland ML, Stadler WM, Ratain MJ (2007) Design of phase II cancer trials using a continuous endpoint of change in tumor size: application to a study of sorafenib and erlotinib in non small-cell lung cancer. *J Natl Cancer Inst* **99**: 1455-61
- Keizer RJ, Karlsson MO, Hooker A (2013) Modeling and Simulation Workbench for NONMEM: Tutorial on Pirana, PsN, and Xpose. *CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol* **2**: e50
- Kilic S, Yalcinkaya S, Guntekin E, Kukul E, Deger N, Sevuk M (1998) Determination of the site of metabolism of total, free, and complexed prostate-specific antigen. *Urology* **52**: 470-3
- Kim MY, Oskarsson T, Acharyya S, Nguyen DX, Zhang XH, Norton L, Massague J (2009) Tumor self-seeding by circulating cancer cells. *Cell* **139**: 1315-26
- Kola I, Landis J (2004) Can the pharmaceutical industry reduce attrition rates? *Nat Rev Drug Discov* **3**: 711-5
- Krebs MG, Hou JM, Ward TH, Blackhall FH, Dive C (2011) Circulating tumour cells: their utility in cancer management and predicting outcomes. *Ther Adv Med Oncol* **2**: 351-65
- Krumholtz JS, Carvalhal GF, Ramos CG, Smith DS, Thorson P, Yan Y, Humphrey PA, Roehl KA, Catalona WJ (2002) Prostate-specific antigen cutoff of 2.6 ng/mL for prostate cancer screening is associated with favorable pathologic tumor features. *Urology* **60**: 469-73; discussion 473-4
- Krzyzanski W, Perez Ruixo JJ (2012) Lifespan based indirect response models. *J Pharmacokinet Pharmacodyn* **39**: 109-23
- Kuhn E, Lavielle M (2004) Coupling a stochastic approximation version of EM with a MCMC procedure. *European Series in Applied and Industrial Mathematics : Probability and statistics* **8**: 115-131
- Lalonde RL, Kowalski KG, Hutmacher MM, Ewy W, Nichols DJ, Milligan PA, Corrigan BW, Lockwood PA, Marshall SA, Benincosa LJ, Tensfeldt TG, Parivar K, Amantea M, Glue P, Koide H, Miller R (2007) Model-based drug development. *Clin Pharmacol Ther* **82**: 21-32

Lee CK, Friedlander M, Brown C, GebSKI VJ, Georgouloupoulos A, Vergote I, Pignata S, Donadello N, Schmalfeldt B, Delva R, Mirza MR, Sauthier P, Pujade-Lauraine E, Lord SJ, Simes RJ (2011) Early decline in cancer antigen 125 as a surrogate for progression-free survival in recurrent ovarian cancer. *J Natl Cancer Inst* **103**: 1338-42

Lengyel E (2010) Ovarian cancer development and metastasis. *Am J Pathol* **177**: 1053-64

Liberko M, Kolostova K, Bobek V (2013) Essentials of circulating tumor cells for clinical research and practice. *Crit Rev Oncol Hematol* **88**: 338-56

Lilja H, Oldbring J, Rannevik G, Laurell CB (1987) Seminal vesicle-secreted proteins and their reactions during gelation and liquefaction of human semen. *J Clin Invest* **80**: 281-5

Lindbom L, Pihlgren P, Jonsson EN (2005) PsN-Toolkit--a collection of computer intensive statistical methods for non-linear mixed effect modeling using NONMEM. *Comput Methods Programs Biomed* **79**: 241-57

Lindstrom ML, Bates DM (1990) Nonlinear mixed effects models for repeated measures data. *Biometrics* **46**: 673-87

Lutz AM, Willmann JK, Cochran FV, Ray P, Gambhir SS (2008) Cancer screening: a mathematical model relating secreted blood biomarker levels to tumor sizes. *PLoS Med* **5**: e170

Markman M, Rothman R, Hakes T, Reichman B, Hoskins W, Rubin S, Jones W, Almadrones L, Lewis JL, Jr. (1991) Second-line platinum therapy in patients with ovarian cancer previously treated with cisplatin. *J Clin Oncol* **9**: 389-93

Meng S, Tripathy D, Frenkel EP, Shete S, Naftalis EZ, Huth JF, Beitsch PD, Leitch M, Hoover S, Euhus D, Haley B, Morrison L, Fleming TP, Herlyn D, Terstappen LW, Fehm T, Tucker TF, Lane N, Wang J, Uhr JW (2004) Circulating tumor cells in patients with breast cancer dormancy. *Clin Cancer Res* **10**: 8152-62

Menon U, Gentry-Maharaj A, Hallett R, Ryan A, Burnell M, Sharma A, Lewis S, Davies S, Philpott S, Lopes A, Godfrey K, Oram D, Herod J, Williamson K, Seif MW, Scott I, Mould T, Woolas R, Murdoch J, Dobbs S, Amso NN, Leeson S, Cruickshank D, McGuire A, Campbell S, Fallowfield L, Singh N, Dawney A, Skates SJ, Parmar M, Jacobs I (2009) Sensitivity and specificity of multimodal and ultrasound screening for ovarian cancer, and stage distribution of detected cancers: results of the prevalence screen of the UK Collaborative Trial of Ovarian Cancer Screening (UKCTOCS). *Lancet Oncol* **10**: 327-40

Menon U, Griffin M, Gentry-Maharaj A (2014) Ovarian cancer screening--current status, future directions. *Gynecol Oncol* **132**: 490-5

Mould DR, Upton RN (2012) Basic concepts in population modeling, simulation, and model-based drug development. *CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol* **1**: e6

Mould DR, Upton RN (2013) Basic concepts in population modeling, simulation, and model-based drug development-part 2: introduction to pharmacokinetic modeling methods. *CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol* **2**: e38

Narang AS, Desai DS (2009) Anticancer Drug Development: Unique Aspects of Pharmaceutical Development. In *Pharmaceutical Perspectives of Cancer Therapeutics*, Mahato (ed) pp 49-92: Springer Science + Business Media

Newling DWW (2009) Issues with the Use of Prostate-Specific Antigen as a Surrogate End Point in Hormone-Resistant Prostate Cancer. *European Urology Supplements* **8**: 13-19

Novaković S (2004) Tumor markers in clinical oncology. *Radiol Oncol* **38**: 73-83

O'Brien TJ, Beard JB, Underwood LJ, Dennis RA, Santin AD, York L (2001) The CA 125 gene: an extracellular superstructure dominated by repeat sequences. *Tumour Biol* **22**: 348-66

Ozols RF, Bundy BN, Greer BE, Fowler JM, Clarke-Pearson D, Burger RA, Mannel RS, DeGeest K, Hartenbach EM, Baergen R (2003) Phase III trial of carboplatin and paclitaxel compared with cisplatin and paclitaxel in patients with optimally resected stage III ovarian cancer: a Gynecologic Oncology Group study. *J Clin Oncol* **21**: 3194-200

Paget S (1989) The distribution of secondary growths in cancer of the breast. *Cancer Metastasis Rev* **8**: 98-101

Paller CJ, Antonarakis ES (2011) Cabazitaxel: a novel second-line treatment for metastatic castration-resistant prostate cancer. *Drug Des Devel Ther* **5**: 117-24

Paterlini-Brechot P, Benali NL (2007) Circulating tumor cells (CTC) detection: clinical impact and future directions. *Cancer Lett* **253**: 180-204

Pazdur R (2008) Endpoints for assessing drug activity in clinical trials. *Oncologist* **13 Suppl 2**: 19-21

Petrylak DP, Ankerst DP, Jiang CS, Tangen CM, Hussain MH, Lara PN, Jr., Jones JA, Taplin ME, Burch PA, Kohli M, Benson MC, Small EJ, Raghavan D, Crawford ED (2006) Evaluation of prostate-specific antigen declines for surrogacy in patients treated on SWOG 99-16. *J Natl Cancer Inst* **98**: 516-21

Pfisterer J, Plante M, Vergote I, du Bois A, Hirte H, Lacave AJ, Wagner U, Stahle A, Stuart G, Kimmig R, Olbricht S, Le T, Emerich J, Kuhn W, Bentley J, Jackisch C, Luck HJ, Rochon J, Zimmermann AH, Eisenhauer E (2006a) Gemcitabine plus carboplatin compared with carboplatin in patients with platinum-sensitive recurrent ovarian cancer: an intergroup trial of the AGO-OVAR, the NCIC CTG, and the EORTC GCG. *J Clin Oncol* **24**: 4699-707

Pfisterer J, Weber B, Reuss A, Kimmig R, du Bois A, Wagner U, Bourgeois H, Meier W, Costa S, Blohmer JU, Lortholary A, Olbricht S, Stahle A, Jackisch C, Hardy-Bessard AC, Mobus V, Quaas J, Richter B, Schroder W, Geay JF, Luck HJ, Kuhn W, Meden H, Nitz U, Pujade-Lauraine E (2006b) Randomized phase III trial of topotecan following carboplatin and paclitaxel in first-line treatment of advanced ovarian cancer: a gynecologic cancer intergroup trial of the AGO-OVAR and GINECO. *J Natl Cancer Inst* **98**: 1036-45

Pienta KJ (2009) Critical appraisal of prostate-specific antigen in prostate cancer screening: 20 years later. *Urology* **73**: S11-20

Plan EL, Maloney A, Troconiz IF, Karlsson MO (2009) Performance in population models for count data, part I: maximum likelihood approximations. *J Pharmacokinet Pharmacodyn* **36**: 353-66

Prat J (2014) Staging classification for cancer of the ovary, fallopian tube, and peritoneum. *Int J Gynaecol Obstet* **124**: 1-5

- Pujade-Lauraine E, Wagner U, Aavall-Lundqvist E, Gebiski V, Heywood M, Vasey PA, Volgger B, Vergote I, Pignata S, Ferrero A, Sehouli J, Lortholary A, Kristensen G, Jackisch C, Joly F, Brown C, Le Fur N, du Bois A (2010) Pegylated liposomal Doxorubicin and Carboplatin compared with Paclitaxel and Carboplatin for patients with platinum-sensitive ovarian cancer in late relapse. *J Clin Oncol* **28**: 3323-9
- R Development Core Team (2010) R: A language and environment for statistical computing. *R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria*
- Rustin GJ, Vergote I, Eisenhauer E, Pujade-Lauraine E, Quinn M, Thigpen T, du Bois A, Kristensen G, Jakobsen A, Sagae S, Greven K, Parmar M, Friedlander M, Cervantes A, Vermorken J (2011) Definitions for response and progression in ovarian cancer clinical trials incorporating RECIST 1.1 and CA 125 agreed by the Gynecological Cancer Intergroup (GCIg). *Int J Gynecol Cancer* **21**: 419-23
- Savic RM, Karlsson MO (2009) Importance of shrinkage in empirical bayes estimates for diagnostics: problems and solutions. *AAPS J* **11**: 558-69
- Scher HI, Halabi S, Tannock I, Morris M, Sternberg CN, Carducci MA, Eisenberger MA, Higano C, Bubley GJ, Dreicer R, Petrylak D, Kantoff P, Basch E, Kelly WK, Figg WD, Small EJ, Beer TM, Wilding G, Martin A, Hussain M (2008) Design and end points of clinical trials for patients with progressive prostate cancer and castrate levels of testosterone: recommendations of the Prostate Cancer Clinical Trials Working Group. *J Clin Oncol* **26**: 1148-59
- Scher HI, Jia X, de Bono JS, Fleisher M, Pienta KJ, Raghavan D, Heller G (2009) Circulating tumour cells as prognostic markers in progressive, castration-resistant prostate cancer: a reanalysis of IMMC38 trial data. *Lancet Oncol* **10**: 233-9
- Scher HI, Warren M, Heller G (2007) The association between measures of progression and survival in castrate-metastatic prostate cancer. *Clin Cancer Res* **13**: 1488-92
- Schmid BC, Oehler MK (2014) New perspectives in ovarian cancer treatment. *Maturitas* **77**: 128-36
- Scholler N, Urban N (2007) CA125 in ovarian cancer. *Biomark Med* **1**: 513-23
- Scully RE (1987) Classification of human ovarian tumors. *Environ Health Perspect* **73**: 15-25
- Sharma A, Jusko WJ (1998) Characteristics of indirect pharmacodynamic models and applications to clinical drug responses. *Br J Clin Pharmacol* **45**: 229-39
- Sharma S (2009) Tumor markers in clinical practice: General principles and guidelines. *Indian J Med Paediatr Oncol* **30**: 1-8
- Sheiner LB (1986) Analysis of pharmacokinetic data using parametric models. III. Hypothesis tests and confidence intervals. *J Pharmacokinet Biopharm* **14**: 539-55
- Sheiner LB (1997) Learning versus confirming in clinical drug development. *Clin Pharmacol Ther* **61**: 275-91
- Sheiner LB, Rosenberg B, Melmon KL (1972) Modelling of individual pharmacokinetics for computer-aided drug dosage. *Comput Biomed Res* **5**: 411-59

Bibliographie

Sobin LH, Gospodariwicz M, Wittekind C (2009) TNM Classification of Malignant Tumors, 7th edition (2009). Union Internationale Contre le Cancer and the American Joint Committee on Cancer. *Cancer*: 243-8

Stamey TA, Yang N, Hay AR, McNeal JE, Freiha FS, Redwine E (1987) Prostate-specific antigen as a serum marker for adenocarcinoma of the prostate. *N Engl J Med* **317**: 909-16

Stephenson AJ, Kattan MW, Eastham JA, Dotan ZA, Bianco FJ, Jr., Lilja H, Scardino PT (2006) Defining biochemical recurrence of prostate cancer after radical prostatectomy: a proposal for a standardized definition. *J Clin Oncol* **24**: 3973-8

Tannock IF, de Wit R, Berry WR, Horti J, Pluzanska A, Chi KN, Oudard S, Theodore C, James ND, Turesson I, Rosenthal MA, Eisenberger MA (2004) Docetaxel plus prednisone or mitoxantrone plus prednisone for advanced prostate cancer. *N Engl J Med* **351**: 1502-12

Therasse P, Arbuck SG, Eisenhauer EA, Wanders J, Kaplan RS, Rubinstein L, Verweij J, Van Glabbeke M, van Oosterom AT, Christian MC, Gwyther SG (2000) New guidelines to evaluate the response to treatment in solid tumors. European Organization for Research and Treatment of Cancer, National Cancer Institute of the United States, National Cancer Institute of Canada. *J Natl Cancer Inst* **92**: 205-16

Tibbe AG, Miller MC, Terstappen LW (2007) Statistical considerations for enumeration of circulating tumor cells. *Cytometry A* **71**: 154-62

Upton RN, Mould DR (2014) Basic concepts in population modeling, simulation, and model-based drug development: part 3-introduction to pharmacodynamic modeling methods. *CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol* **3**: e88

US Food and Drug Administration (2004) Innovation or Stagnation: Challenge and Opportunity on the Critical Path to New Medical Products

van der Burg ME, Lammes FB, Verweij J (1990) The role of CA 125 in the early diagnosis of progressive disease in ovarian cancer. *Ann Oncol* **1**: 301-2

Vergote I, Trope CG, Amant F, Kristensen GB, Ehlen T, Johnson N, Verheijen RH, van der Burg ME, Lacave AJ, Panici PB, Kenter GG, Casado A, Mendiola C, Coens C, Verleye L, Stuart GC, Pecorelli S, Reed NS (2010) Neoadjuvant chemotherapy or primary surgery in stage IIIC or IV ovarian cancer. *N Engl J Med* **363**: 943-53

Vollmer RT, Humphrey PA (2003) Tumor volume in prostate cancer and serum prostate-specific antigen. Analysis from a kinetic viewpoint. *Am J Clin Pathol* **119**: 80-9

Vollmer RT, Montana GS (1999) The dynamics of prostate-specific antigen after definitive radiation therapy for prostate cancer. *Clin Cancer Res* **5**: 4119-25

Vorgias G, Iavazzo C, Savvopoulos P, Myriokefalitaki E, Katsoulis M, Kalinoglou N, Akrivos T (2009) Can the preoperative Ca-125 level predict optimal cytoreduction in patients with advanced ovarian carcinoma? A single institution cohort study. *Gynecol Oncol* **112**: 11-5

Wang MC, Valenzuela LA, Murphy GP, Chu TM (1979) Purification of a human prostate specific antigen. *Invest Urol* **17**: 159-63

- Wang Y, Sung C, Dartois C, Ramchandani R, Booth BP, Rock E, Gobburu J (2009) Elucidation of relationship between tumor size and survival in non-small-cell lung cancer patients can aid early decision making in clinical drug development. *Clin Pharmacol Ther* **86**: 167-74
- Webber MM, Waghray A, Bello D (1995) Prostate-specific antigen, a serine protease, facilitates human prostate cancer cell invasion. *Clin Cancer Res* **1**: 1089-94
- Wilbaux M, Henin E, Oza A, Colomban O, Pujade-Lauraine E, Freyer G, Tod M, You B (2014a) Dynamic modeling in ovarian cancer: An original approach linking early changes in modeled longitudinal CA-125 kinetics and survival to help decisions in early drug development. *Gynecol Oncol* **133**: 460-6
- Wilbaux M, Henin E, Oza A, Colomban O, Pujade-Lauraine E, Freyer G, Tod M, You B (2014b) Prediction of tumour response induced by chemotherapy using modelling of CA-125 kinetics in recurrent ovarian cancer patients. *Br J Cancer* **110**: 1517-24
- Wolfinger R (1993) Laplace's approximation for nonlinear mixed models. *Biometrika* **80**: 791-5
- Wright DF, Winter HR, Duffull SB (2011) Understanding the time course of pharmacological effect: a PKPD approach. *Br J Clin Pharmacol* **71**: 815-23
- Yano Y, Beal SL, Sheiner LB (2001) Evaluating pharmacokinetic/pharmacodynamic models using the posterior predictive check. *J Pharmacokinet Pharmacodyn* **28**: 171-92
- You B, Girard P, Paparel P, Freyer G, Ruffion A, Charrie A, Henin E, Tod M, Perrin P (2009) Prognostic value of modeled PSA clearance on biochemical relapse free survival after radical prostatectomy. *Prostate* **69**: 1325-33
- You B, Perrin P, Freyer G, Ruffion A, Tranchand B, Henin E, Paparel P, Ribba B, Devonec M, Falandry C, Fournel C, Tod M, Girard P (2008) Advantages of prostate-specific antigen (PSA) clearance model over simple PSA half-life computation to describe PSA decrease after prostate adenomectomy. *Clin Biochem* **41**: 785-95

ANNEXE I

ANNEXE I: Script NONMEM du modèle TS-CA

\$PROBLEM Modèle TS-CA

\$INPUT ID TIME AMT DV CMT MDV

\$DATA ... ; Base de données

\$SUBROUTINE ADVAN13

\$MODEL NCOMP=4 ; Modèle avec 4 compartiments

COMP=(A1) ; Compartiment central pour chimiothérapie

COMP=(A2) ; Compartiment de transit

COMP=(A3) ; Compartiment pour la taille tumorale

COMP=(A4) ; Compartiment pour le CA-125

\$PK ; Définition des paramètres (*mu-referencing*)

MU_1=LOG(THETA(1))

K=EXP(MU_1+ETA(1)) ; Cinétique d'élimination du traitement

MU_2=LOG(THETA(2))

KREDUC=EXP(MU_2+ETA(2)) ; Taux de décroissance de la tumeur

MU_3=LOG(THETA(3))

TS0=EXP(MU_3+ETA(3)) ; Valeur initiale de la taille tumorale

MU_4=THETA(4)

KPROL=(TS0*KOUTS)/((EXP(MU_4+ETA(4)))/(1+(EXP(MU_4+ETA(4)))))) ; Taux de croissance de
;la tumeur + Transformation logit.

MU_5=LOG(THETA(5))

A50=EXP(MU_5+ETA(5)) ; Quantité médicament produisant 50% effet inhib max

MU_6=LOG(THETA(6))

KPROD1=EXP(MU_6+ETA(6)) ; Taux de production basal de CA-125

MU_7=LOG(THETA(7))

KPROD2=EXP(MU_7+ETA(7)) ; Taux de production de CA-125 par une tumeur stationnaire

MU_8=LOG(THETA(8))

K2=EXP(MU_8+ETA(8)) ; Facteur de proportionnalité reliant KPROD2 à VARTS

MU_9=LOG(THETA(9))

KELIM=EXP(MU_9+ETA(9)) ; Constante de vitesse d'élimination du CA-125

MU_10=LOG(THETA(10))

CA0=EXP(MU_10+ETA(10)) ; Valeur initiale de CA-125

; Conditions initiales dans chaque compartiment :

A_0(1)=0

Annexe I

A_0(2)=0
A_0(3)=TS0
A_0(4)=CA0

\$DES ; Equations différentielles

DADT(1)=-K*A(1) ; Cinétique traitement dans compartiment central
DADT(2)=K*A(1)-K*A(2) ; Cinétique traitement dans compartiment transit
DADT(3)=KPROL*(1-(A(2)/(A50+A(2))))-KREDUC*A(3) ; Cinétique taille tumorale
VARTS=KPROL*(1-(A(2)/(A50+A(2))))-KREDUC*A(3)
DADT(4)=KPROD1+KPROD2*EXP(K2*VARTS)-KELIM*A(4) ; Cinétique CA-125

\$ERROR ; Définition des modèles d'erreur

W1=THETA(11) ; Erreur résiduelle CA-125
W2=THETA(12) ; Erreur résiduelle taille tumorale > LOQ
W3=THETA(13) ; Erreur résiduelle taille tumorale < LOQ

TS=A(3)
CA=A(4)

LOQ=LOG(10) ; Définition de la LOQ à 10 mm
LLOQ=0 ; Variable indicatrice pour valeurs > LOQ

; CA-125 :

IPRED=(CA**(-0.1714195)-1)/(-0.1714195) ; Transformation Box-Cox
Y=IPRED+W1*ERR(1) ; W1: écart-type ERR(1)
IRES=DV-IPRED
IWRES=IRES/W1

; Taille tumorale > LOQ :

IF (CMT.EQ.3.AND.DV.GE.LOQ) THEN
IPRED=LOG(TS) ; Transformation LOG
Y=IPRED+W2*ERR(2) ; W2 : écart-type ERR(2)
IRES=DV-IPRED
IWRES=IRES/W2
ENDIF

; Taille tumorale < LOQ :

IF (CMT.EQ.3.AND.DV.LT.LOQ) THEN
LLOQ=1 ; Variable indicatrice pour valeurs < LOQ
IPRED=LOG(TS)
Y=IPRED+W3*ERR(3) ; W3 à fixer
IRES=DV-IPRED
IWRES=IRES/W3
ENDIF

\$THETA (...) ; Définitions des valeurs initiales THETA

\$OMEGA BLOCK (...) ; Définitions des valeurs initiales OMEGA

\$SIGMA (...) ; Définitions des valeurs initiales SIGMA

\$ESTIMATION METHOD=SAEM INTERACTION ; Méthode d'estimation SAEM

\$TABLE (...) ; Création de table

ANNEXE II

ANNEXE II: Caractéristiques des patientes dans chaque étude AGO-OVAR

Les données sont présentées en médiane [min - max] ou nombre de patients (%).

E : épirubicine ; T : topotecan ; G : gemcitabine.

Caractéristiques	AGO-OVAR 5		AGO-OVAR 7		AGO-OVAR 9	
	CP	CP-E	CP	CP-T	CP	CP-G
Nombre de patientes	86	83	98	102	220	215
PFS (jours)	301 [62 – 3055]	382 [49 – 2708]	301 [43 – 2336]	333 [50 – 2291]	414 [47 – 2274]	400 [47 – 2149]
Nombre de censures	8 (9%)	9 (11%)	6 (6%)	12 (12%)	37 (17%)	19 (9%)
CA-125 basal (U.mL ⁻¹ , échelle normale)	272 [18 – 34575]	297 [10 – 9025]	268 [12 – 887859]	236 [21 – 313253]	234 [2 – 42897]	285 [6 – 14352]
CA-125 basal (U.mL ⁻¹ , transformé Box-Cox)	3,6 [2,3 – 4,9]	3,6 [1,9 – 4,6]	3,6 [2,0 – 5,3]	3,5 [2,4 – 5,1]	3,5 [0,8 – 4,9]	3,6 [1,5 – 4,7]
Δ CA125 (U.mL ⁻¹ , transformé Box-Cox)	0,14 [-0,10 – 0,54]	0,15 [-0,12 – 0,40]	0,17 [-0,12 – 0,72]	0,16 [-0,05 – 0,51]	0,19 [-0,54 – 0,58]	0,18 [-0,21 – 0,61]

Résumé

Nous proposons, dans cette thèse, d'utiliser les techniques de modélisation en pharmacométrie selon l'approche de population afin de décrire les cinétiques de plusieurs marqueurs tumoraux sériques, et d'analyser leurs potentielles applications.

Dans un premier temps, nous avons construit un modèle reliant les cinétiques de taille tumorale et de CA-125 dans le cancer de l'ovaire. Nous avons ensuite évalué son application pour : i) la prévision de la réponse tumorale au niveau individuel ; ii) la prédiction précoce de la survie au niveau d'une population dans le développement du médicament. Dans un second temps, nous avons réalisé un travail plus méthodologique sur la modélisation des cinétiques conjointes de PSA et d'un nouveau marqueur, le nombre de cellules tumorales circulantes (CTCs), dans le cancer de la prostate. Un modèle atypique combinant plusieurs innovations en pharmacométrie a été développé. En perspective, un lien va être établi avec la survie.

En conclusion, la modélisation mathématique est un outil efficace pour l'évaluation précoce de l'efficacité des traitements.

Abstract

Our thesis project aimed at building mathematical models, using population approach, for different serum tumor markers, in order to describe their kinetics and to assess their potential applications.

In a first intent, we built a semi-mechanistic model linking tumor size changes and CA-125 kinetics induced by chemotherapy in ovarian cancer patients. This model allowed assessment of CA-125 as: i) a biomarker for tumor size dynamics and treatment efficacy for clinical purposes; ii) an early predictor of clinical benefit during drug development. Then, we realized a more fundamental work by developing a semi-mechanistic model for characterizing the relationships between PSA kinetics and circulating tumor cell count dynamics during treatment in metastatic prostate cancer patients. This is an atypical model combining several advanced features in pharmacometrics. We have planned to assess a link with survival.

In conclusion, mathematical modeling could be an efficient tool for the early prediction of treatment efficacy.

Mots-clés

oncologie ; marqueurs tumoraux ; modélisation mathématique ; approche de population ; cinétiques ; CA-125 ; PSA ; CTCs ; développement du médicament

Discipline

Pharmacométrie

Laboratoire

EMR 3738, Ciblage Thérapeutique en Oncologie
Faculté de Médecine et de Maïeutique Lyon-Sud Charles Mérieux
69921 OULLINS, France