



HAL
open science

Modélisation pharmacocinétique/pharmacodynamique par une approche de population de l'effet du G-CSF chez des patients traités avec du carboplatine

Mélanie Pastor

► **To cite this version:**

Mélanie Pastor. Modélisation pharmacocinétique/pharmacodynamique par une approche de population de l'effet du G-CSF chez des patients traités avec du carboplatine. Sciences agricoles. Institut National Polytechnique de Toulouse - INPT, 2013. Français. NNT : 2013INPT0061 . tel-04288655

HAL Id: tel-04288655

<https://theses.hal.science/tel-04288655v1>

Submitted on 16 Nov 2023

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

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



THÈSE

En vue de l'obtention du

DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE TOULOUSE

Délivré par *l'Institut National Polytechnique de Toulouse (INP Toulouse)*
Discipline ou spécialité : *Pathologie, Toxicologie, Génétique et Nutrition*

Présentée et soutenue par *Mélanie PASTOR*
Le *19 Juillet 2013*

Titre :
*Modélisation pharmacocinétique/pharmacodynamique
par une approche de population
de l'effet du G-CSF chez des patients traités avec du carboplatine*

JURY
Dr Emmanuelle COMETS Rapporteur
Dr Saik URIEN Rapporteur
Pr Etienne CHATELUT
Pr Didier CONCORDET
Dr Nadine HOUEDE
Dr Céline LAFFONT

Ecole doctorale : *SEVAB*
Unité de recherche : *UMR 1331 - Toxalim - INRA ENVT /*
EA4553 - Individualisation des traitements des cancers ovariens et ORL - Institut Claudius Regaud
Directeur(s) de Thèse : *Pr Didier CONCORDET / Pr Etienne CHATELUT*

Table des matières

| | |
|---|-----------|
| Introduction..... | 7 |
| 1. L'UTILISATION DU GRANULOCYTE COLONY-STIMULATING FACTOR (G-CSF) EN CANCEROLOGIE | 10 |
| 1.1 Le G-CSF : un facteur de croissance hématopoïétique | 10 |
| 1.2 Indications et recommandations d'utilisation lors de chimiothérapie anticancéreuse | 12 |
| 1.3 Formulations et pharmacocinétique..... | 14 |
| 1.4 Posologie et mode d'administration..... | 18 |
| 1.5 Effets indésirables..... | 19 |
| 2. MODELISATION PHARMACOCINETIQUE/PHARMACODYNAMIQUE (PK/PD) DE LA TOXICITE HEMATOLOGIQUE DES AGENTS ANTICANCEREUX..... | 20 |
| 2.1 Généralités sur l'approche PK/PD..... | 20 |
| 2.1.1 Modèles compartimentaux | 22 |
| 2.1.2 Intérêt de l'approche de population | 24 |
| 2.1.3 Principes de la modélisation par une approche de population | 25 |
| 2.1.3.1 Modélisation..... | 25 |
| 2.1.3.2 Recherche de covariables..... | 28 |
| 2.1.3.3 Estimation des paramètres et choix du modèle..... | 29 |
| 2.1.3.4 Validation du modèle | 31 |
| 2.2 Pharmacocinétique et mode d'action d'un cytotoxique : le carboplatine | 32 |
| 2.3 Modélisation de la toxicité hématologique des cytotoxiques | 36 |
| 2.3.1 Modèles empiriques et modèles mécanistes | 37 |
| 2.3.2 Modèle de Friberg..... | 38 |

| | |
|---|------------|
| 3. MODELISATION PK/PD PAR UNE APPROCHE DE POPULATION DE L'EFFET DU G-CSF LORS DE CHIMIOTHERAPIE ANTICANCEREUSE | 41 |
| 3.1 Intérêts d'un modèle de neutropénie faisant intervenir le G-CSF | 41 |
| 3.2 Limites des modèles avec G-CSF existants | 42 |
| 3.3 Création d'un nouveau modèle physiologique permettant d'expliquer le mode d'action du G-CSF lors de traitement au carboplatine | 45 |
| 3.3.1 Objectifs | 45 |
| 3.3.2 Article 1 | 46 |
| 3.3.3 Résultats complémentaires | 87 |
| 3.3.3.1 Validation du modèle | 87 |
| 3.3.3.2 Autres simulations comparant les formulations de G-CSF | 88 |
| 3.3.4 Discussion et perspectives | 89 |
| | |
| 4. APPORT DE LA MODELISATION DANS LA PREDICTION DE LA REPONSE AU G-CSF LORS DE TRAITEMENT AU CARBOPLATINE | 91 |
| 4.1 Article 2 | 91 |
| 4.2 Résultats complémentaires | 120 |
| 4.3 Discussion et perspectives | 123 |
| | |
| Conclusions et perspectives | 125 |
| | |
| Bibliographie..... | 127 |

Liste des abréviations et notations

ADN : acide désoxyribonucléique

ANC : absolute neutrophil count (numération de neutrophiles)

ASC : aire sous la courbe

Base : niveau basal de la numération des neutrophiles (avant chimiothérapie)

CL : clairance

EBE : empirical Bayes estimates

FO : first order

FOCE : first order conditional estimates

FOCE-I : first order conditional estimate-interaction

G-CSF : granulocyte colony-stimulating factor

G-CSFR : granulocyte colony-stimulating factor receptor

GOF : goodness-of-fit

IV : intra-veineuse

MTT : temps de transit moyen pour la maturation des précurseurs dans la moelle osseuse

NPDE : normalized prediction distribution errors

PK/PD : pharmacocinétique/pharmacodynamique

ROC : receiver-operating characteristic

RSE : relative standard error

SC : sous-cutané

Slope : sensibilité au carboplatine en termes de myélotoxicité

VPC : visual predictive checks

Figures

| | |
|--|-----|
| Figure 1 : Représentation schématique de la granulopoïèse dans le cas particulier des granulocytes neutrophiles | 11 |
| Figure 2 : Arbre décisionnel permettant d'évaluer la justification d'une utilisation prophylactique de G-CSF (d'après les recommandations EORTC ³⁸) | 14 |
| Figure 3 : Structure du pegfilgrastim..... | 15 |
| Figure 4 : Cinétique des concentrations sériques médianes en G-CSF (a) et du nombre de neutrophiles circulants (b) chez des patients atteints de cancer pulmonaire non à petites cellules (pris de ⁴³) | 17 |
| Figure 5 : Principe la modélisation pharmacocinétique/pharmacodynamique (PK/PD) | 22 |
| Figure 6 : Schémas et équations différentielles de modèles compartimentaux classiques | 23 |
| Figure 7 : Modèles d'erreur..... | 27 |
| Figure 8 : Structure du cisplatine (A), du carboplatine (B) et de leur métabolite actif, le di-aquaplatine (C) | 33 |
| Figure 9 : Modèle de Friberg <i>et al.</i> ¹ et ses équations différentielles | 39 |
| Figure 10 : Modèle PK/PD de population de Krzyzanski ⁵⁹ décrivant la cinétique des neutrophiles après une administration de filgrastim (IV ou SC) chez le volontaire sain..... | 44 |
| Figure 11 : Equations différentielles du modèle de Krzyzanski ⁵⁹ | 45 |
| Figure 12 : Q-Q plot (gauche) et histogramme (droite) évaluant la normalité des NPDE (normalized prediction distribution error) pour le modèle PK/PD de population final. | 87 |
| Figure 13 : Effet du temps d'administration du pegfilgrastim (une dose de 6 mg par voie SC) chez un patient moyen ayant reçu du carboplatine..... | 88 |
| Figure 14 : Effet du jour initial d'administration du filgrastim (5 µg/kg/j pendant 11 jours consécutifs) chez un patient moyen ayant reçu du carboplatine. | 89 |
| Figure 15 : Courbes ROC (receiver-operating characteristic) pour les règles de décision permettant l'identification des neutropénies de haut grade (grades 3 et 4, à gauche) et de longue durée (au moins 3 jours) et des neutropénies sévères (grade 4, à droite) de longue durée | 121 |
| Figure 16 : Courbes ROC (receiver-operating characteristic) pour les règles de décision permettant d'identifier les patients pour lesquels une administration de pegfilgrastim au jour 5 permettrait de | |

prévenir une neutropénie de haut grade (grades 3 et 4, à gauche) et de longue durée (au moins 3 jours) et une neutropénie sévère (grade 4, à droite) de longue durée 122

Figure 17 : Courbes ROC (receiver-operating characteristic) pour les règles de décision permettant d'identifier les patients pour lesquels une administration de pegfilgrastim au jour 5 permettrait de prévenir une neutropénie $< 1,5 \cdot 10^9/L$ au jour 21 (début théorique du second cycle) 123

Tableaux

| | |
|--|----|
| Tableau 1 : Classification des neutropénies | 12 |
| Tableau 2 : Comparaison des approches « classique » et « de population » de l'analyse PK ou PK/PD | 25 |

Introduction

Les agents anticancéreux traditionnels que sont les cytotoxiques détruisent les cellules en interagissant avec l'ADN directement ou indirectement et en perturbant une ou plusieurs phases du cycle de division cellulaire. Ces médicaments exercent donc leur action principalement sur les cellules en phase de division, c'est-à-dire non seulement sur les cellules néoplasiques, mais aussi sur certaines cellules saines de l'organisme de manière non spécifique (cellules hématopoïétiques, cellules de l'épithélium gastro-intestinal et phanères essentiellement). Ce mode d'action non spécifique des cytotoxiques explique leur grande toxicité. Or, l'efficacité des cytotoxiques est directement liée à leur dose. Ainsi la stratégie générale des traitements anticancéreux cytotoxiques est d'administrer la dose maximale tolérée.

La principale toxicité dose-limitante des protocoles cytotoxiques est la diminution des granulocytes neutrophiles (neutropénie). Ces neutrophiles, qui appartiennent à la lignée blanche des cellules sanguines (leucocytes), constituent la première ligne de défense du système immunitaire de l'organisme. Une neutropénie sévère et/ou de longue durée pourra donc avoir pour conséquence des infections (neutropénies fébriles) pouvant, au pire, être responsables d'un décès toxique, et, dans les situations moins sévères, d'un report du cycle de chimiothérapie suivant ou d'une diminution de dose du/des cytotoxique(s). Ces diminutions de dose compromettent le devenir des patients, particulièrement dans les protocoles de chimiothérapie à but curatif. La prévention des neutropénies fébriles est donc essentielle. Elle permet ainsi de diminuer le nombre et la durée des hospitalisations, de diminuer l'utilisation d'antibiotiques (et donc le risque de développer des antibiorésistances) et d'éviter les diminutions de dose de cytotoxique ou le report de séance de chimiothérapie.

Plusieurs stratégies sont utilisées afin de prévenir les neutropénies chimio-induites. Des anticancéreux à action ciblée sur les cellules cancéreuses, interagissant avec d'autres éléments que l'ADN, sont de plus en plus développés pour minimiser les effets toxiques non spécifiques. Néanmoins, si leur activité est avérée pour le traitement de certains types tumoraux (ex., leucémies myéloïdes chroniques, ...), ils restent peu efficaces pour les cancers

« solides » tout aussi fréquents que sont les cancers du sein, colorectaux ; ainsi, les cytotoxiques restent les médicaments anticancéreux les plus prescrits.

A l'échelle de l'individu, les stratégies pour limiter les neutropénies chimio-induites sont notamment l'utilisation de stimulants de la production des cellules souches hématopoïétiques (principalement le granulocyte-colony stimulating factor ou G-CSF), et l'optimisation de la dose du cytotoxique. Concernant ce dernier point, l'index thérapeutique des cytotoxiques étant en effet très étroit, la dose pouvant être administrée au patient est limitée par les effets toxiques, en particulier la neutropénie. L'un des outils servant à l'optimisation de dose est la modélisation pharmacocinétique/pharmacodynamique (PK/PD), c'est-à-dire le développement de modèles permettant de décrire la relation entre la dose de cytotoxique, sa concentration circulante (plasmatique ou sérique) et son effet (ici, sa toxicité médullaire). Les modèles PK/PD utilisés en cancérologie s'attachent principalement à décrire la neutropénie en fonction de la dose et des caractéristiques individuelles du patient (variables explicatives ou *covariables*). L'identification de covariables (ex : poids, surface corporelle, créatinine) permet d'ajuster la dose de cytotoxique *a priori*. Cet ajustement peut ensuite être affiné à partir des observations individuelles (numérations de neutrophiles) obtenues au premier cycle permettant de prédire plus précisément la cinétique des neutrophiles suite à une dose donnée de cytotoxique. De nombreux modèles existent, et l'un des plus utilisés est le modèle de Friberg publié en 2002¹. S'il permet de décrire et de prédire les relations entre exposition et toxicité, ce modèle ne prend pas en compte les effets d'une ou plusieurs administrations de G-CSF, notamment les éventuels ajustements de dose, de moment d'administration et/ou de durée de traitement de G-CSF.

Après une revue bibliographique sur le G-CSF et la modélisation PK/PD en cancérologie, les limites des modèles PK/PD existants lors d'utilisation de G-CSF chez des patients traités par chimiothérapie anticancéreuse seront présentées. Nous avons donc développé un nouveau modèle, plus physiologique. Les données utilisées pour le développement de ce modèle sont issues d'une étude clinique qui a bénéficié d'un PHRC (2005), « Optimum Carbo », et dont les résultats ont déjà été exploités dans le cadre d'une optimisation de dose du carboplatine en excluant les patients qui avaient reçu du G-CSF^{2,3}.

Dans un premier temps, nous montrerons que ce modèle décrit bien la cinétique des neutrophiles des patients traités au carboplatine, qu'ils aient ou non reçu du G-CSF. Nous tenterons de mieux expliquer l'effet du G-CSF et les différences entre les formulations de G-CSF (action immédiate vs. « *long action* ») en termes d'efficacité.

Dans un second temps, nous utiliserons ce nouveau modèle pour prédire le risque de neutropénie de haut grade et de longue durée (c'est-à-dire qui pourrait induire une neutropénie fébrile). Puis, parce que le G-CSF semblerait ne pas avoir d'effet protecteur de neutropénie chez tous les patients, nous proposerons des règles de décisions permettant d'identifier précocement les patients pour lesquels le G-CSF peut avoir un effet bénéfique.

1. L'UTILISATION DU GRANULOCYTE COLONY-STIMULATING FACTOR (G-CSF) EN CANCEROLOGIE

1.1 Le G-CSF : un facteur de croissance hématopoïétique

La production et la maintenance des cellules hématopoïétiques sont contrôlées par des hormones, et plus précisément, des cytokines hématopoïétiques endogènes.⁴ On distingue l'érythropoïétine, le macrophage colony-stimulating factor, le granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF), le granulocyte-macrophage colony-stimulating factor et la thrombopoïétine qui stimulent, plus ou moins sélectivement selon la cytokine, les lignées érythrocytaires, leucocytaires et mégacaryocytaires.

Parmi ces cytokines, le G-CSF stimule les cellules granulocytaires de la lignée leucocytaire⁵. Même si la stimulation d'autres cellules est probable, elle est mal connue⁶. L'existence des colony-stimulating factors (CSF) a été suspectée dès 1966, mais la découverte et la purification du G-CSF datent de 1983.^{4, 7} Des études *in vivo* chez la souris ont montré que, parmi les cytokines hématopoïétiques, le G-CSF induisait un plus grand nombre de granulocytes neutrophiles circulants que le GM-CSF ou l'interleukine 3 (IL3).⁸

Bien que les cellules à l'origine de la production des CSF ne soient pas exactement connues, il apparaît clairement que de nombreux types cellulaires peuvent synthétiser ces cytokines.⁴ La stimulation de la granulopoïèse (Figure 1) par le G-CSF se fait par plusieurs mécanismes. Le G-CSF stimule la prolifération des progéniteurs et précurseurs médullaires⁹,¹⁰, réduit leur temps de maturation⁹⁻¹¹, stimule leur passage dans le compartiment sanguin circulant et augmente la durée de vie des neutrophiles matures¹²⁻¹⁵. Cette succession d'évènements conduit à une augmentation du nombre de neutrophiles dans le sang.

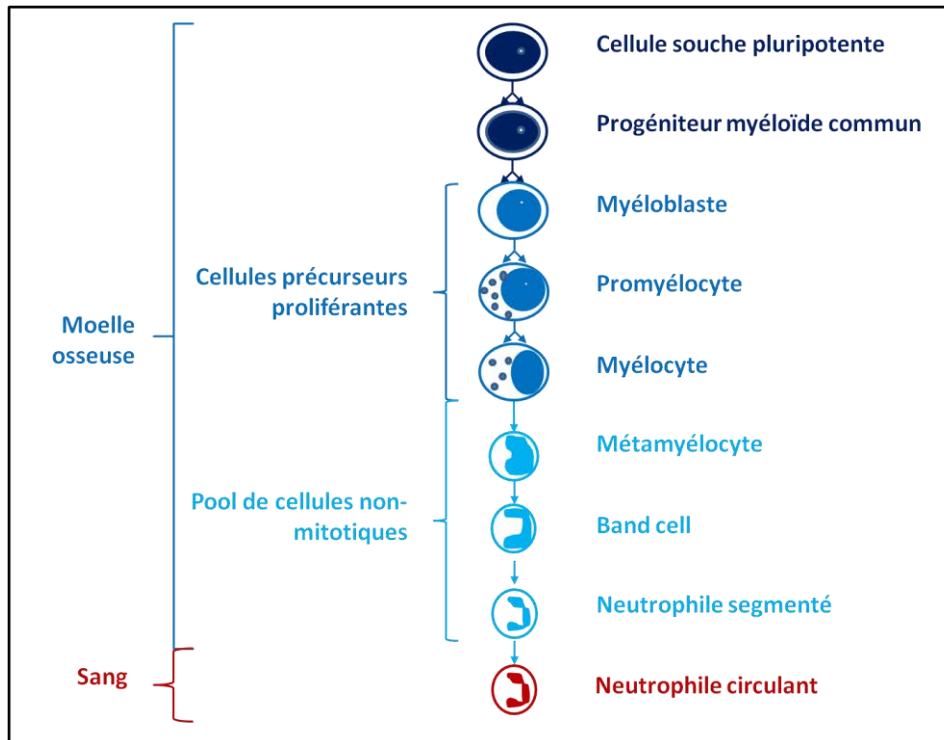


Figure 1 : Représentation schématique de la granulopoïèse dans le cas particulier des granulocytes neutrophiles

Les effets du G-CSF sont rendus possibles par sa liaison à un récepteur spécifique (G-CSFR).¹⁶ Ce récepteur est présent sur toutes les cellules de la lignée granulocytaire, depuis les progéniteurs myéloïdes jusqu'aux neutrophiles matures circulants.¹⁷⁻¹⁹ Il est vraisemblablement présent à la surface d'autres cellules⁶, mais nous ne nous intéresserons ici qu'à la lignée granulocytaire. Le nombre de G-CSFRs augmente avec la maturation et les neutrophiles circulants possèdent le plus grand nombre de G-CSFRs à leur surface, approximativement 200 à 1000 récepteurs par cellule.^{17, 18, 20, 21} La liaison du G-CSF à son récepteur active des tyrosines kinase cytoplasmiques et des facteurs de transcription qui induisent une série d'évènements en cascade.^{5, 6, 18} Il est admis que seule une minorité de G-CSFRs a besoin d'être occupée pour engendrer une réponse biologique optimale.^{6, 18} Le complexe G-CSF-G-CSFR est ensuite internalisé dans un compartiment endosomal puis dégradé.²² La présence d'un nombre important de neutrophiles circulants s'accompagne donc d'une fixation et d'une dégradation (métabolisme) importantes du G-CSF ; cela constitue le mécanisme de rétrocontrôle négatif sur la stimulation de la granulopoïèse par le G-CSF. Plus précisément, si la quantité de neutrophiles circulants augmente, la concentration

de G-CSF libre circulante diminue, induisant une diminution de la stimulation de la granulopoïèse, et *vice versa*.²³⁻²⁵

Des formes recombinantes du G-CSF ont été développées pour augmenter la production de neutrophiles dans différentes indications. Nous nous intéresserons à l'administration de G-CSF dans la lutte des neutropénies lors de chimiothérapie anticancéreuse.

1.2 Indications et recommandations d'utilisation lors de chimiothérapie anticancéreuse

Un des principaux facteurs limitant de l'augmentation de la dose des cytotoxiques est la diminution des granulocytes neutrophiles (neutropénie). Les neutropénies sont habituellement classées en 4 grades (cf. Tableau 1).

| | |
|---|---|
| Absence de neutropénie (grade 0) | $\geq 2.10^9/L$ |
| Neutropénie de grade 1 | $\geq 1,5.10^9/L - < 2.10^9/L$ |
| Neutropénie de grade 2 | $\geq 1.10^9/L - < 1,5.10^9/L$ |
| Neutropénie de grade 3 | $\geq 0,5.10^9/L - < 1.10^9/L$ |
| Neutropénie de grade 4 | $< 0,5.10^9/L$ |

Tableau 1 : Classification des neutropénies

Les neutropénies fébriles chimio-induites sont une complication potentiellement fatale et surviennent le plus souvent pendant les premiers cycles de chimiothérapie²⁶⁻³¹. La neutropénie fébrile est définie par une neutropénie de grade 4, ou par une neutropénie de grade 3 susceptible d'évoluer en grade 4 dans les 48h, accompagnée de fièvre (température axillaire $> 38,5^\circ C$ pendant plus d'une heure) ou de signes cliniques de sepsis³². La prévention

des neutropénies fébriles permet de diminuer le nombre et la durée des hospitalisations, de diminuer l'utilisation d'antibiotiques et d'éviter une diminution de dose de cytotoxique ou le report de séance de chimiothérapie, tous deux étant associés à un plus mauvais pronostic, principalement dans les protocoles à but curatif³³⁻³⁷.

L'utilisation de G-CSF chez des patients traités par chimiothérapie permet de réduire le risque de neutropénie fébrile³⁸⁻⁴¹. Le bénéfice d'une utilisation systématique de G-CSF reste malgré tout controversé à cause de son coût élevé et de ses effets indésirables potentiels (cf. infra). Ainsi, en accord avec les recommandations européennes récentes (European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC)^{38, 42}, mais aussi European Society for Medical Oncology (ESMO)³²), l'utilisation prophylactique de G-CSF n'est recommandée que lorsque le risque de neutropénie fébrile est supérieur à 20% (i.e., 20% des patients avec les caractéristiques détaillées ci-dessous, présentent une neutropénie fébrile). L'évaluation du risque pour un patient prend en compte le type de tumeur, le protocole de chimiothérapie et un certain nombre de facteurs individuels (âge > 65 ans, stade avancé du processus tumoral, neutropénie fébrile à un précédent cycle, présence de maladies intercurrentes, mauvais statut nutritionnel). Les cancers pour lesquels les chimiothérapies sont associées à un risque élevé de neutropénie fébrile sont les cancers du sein, des poumons, colorectaux, de l'ovaire et les lymphomes. La Figure 2 reprend les critères d'évaluation du risque de neutropénie fébrile chez un patient donné, qui doivent être réévalués à chaque nouveau cycle de chimiothérapie.

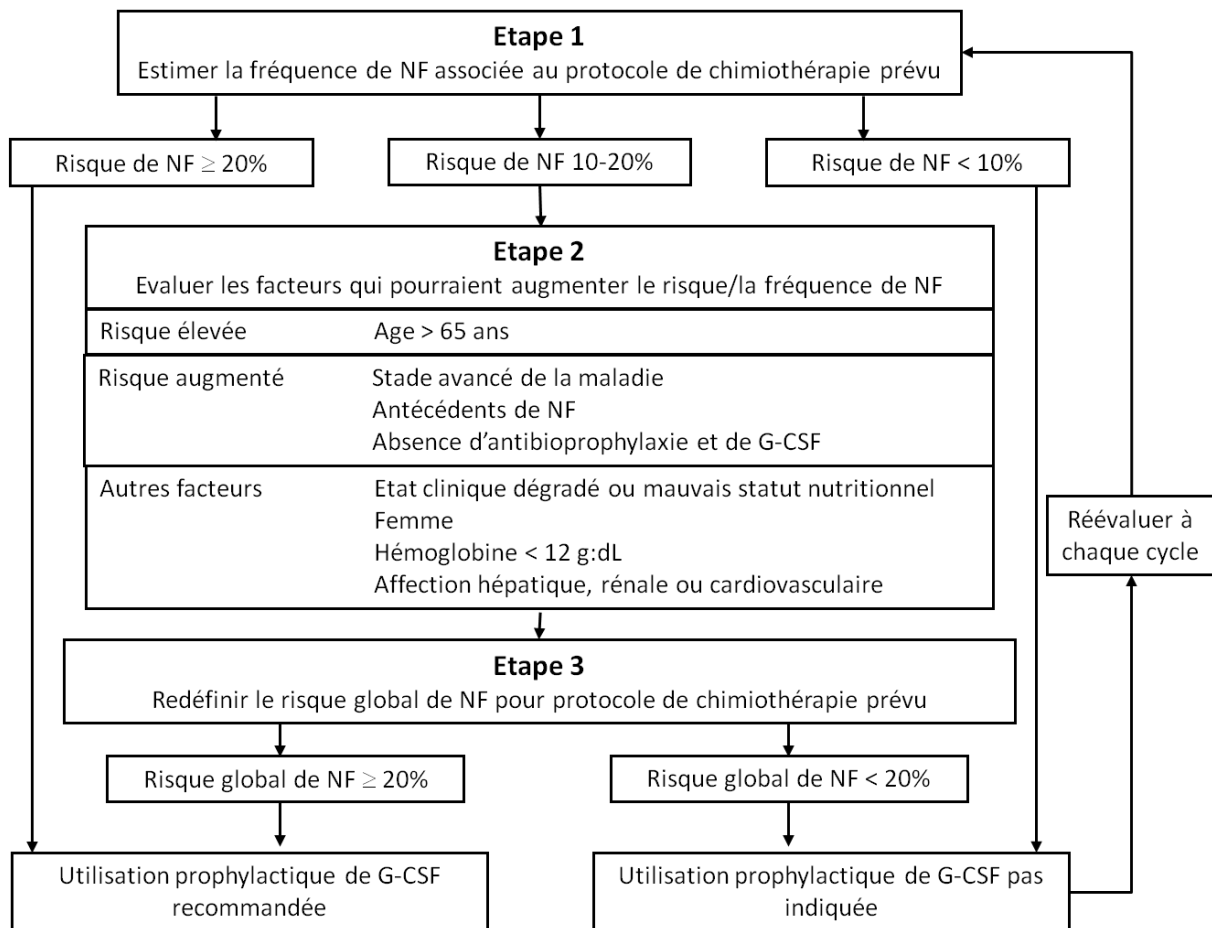


Figure 2 : Arbre décisionnel permettant d'évaluer la justification d'une utilisation prophylactique de G-CSF (d'après les recommandations EORTC³⁸)

1.3 Formulations et pharmacocinétique

Plusieurs formes recombinantes humaines de G-CSF sont disponibles : des formulations nécessitant une administration quotidienne (filgrastim [Neupogène[®], Société Amgen[®]], lénograstim [Granocyte[®], société Chugai[®]]) et une formulation ne nécessitant qu'une administration par cycle de chimiothérapie (pegfilgrastim [Neulasta[®], société Amgen[®]]). Plusieurs formes génériques du filgrastim ont également été développées.

Le filgrastim et le pegfilgrastim sont des facteurs recombinants humains produits par la technique de l'ADN recombinant sur *Escherichia coli* (K12). La forme pégylée (polyéthylène glycol, Figure 3) possède une demi-vie plus longue, autorisant une seule

administration par cycle. Le lénograstim, quant à lui, est produit par la technique de l'ADN recombinant dans des cellules d'ovaire de hamster chinois.

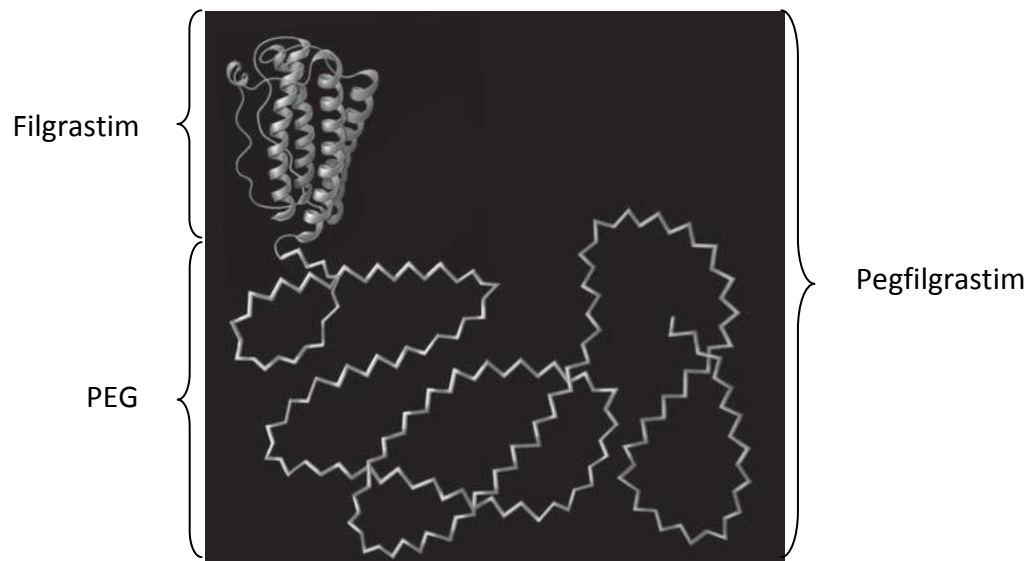


Figure 3 : Structure du pegfilgrastim

Le pegfilgrastim correspond au filgrastim auquel est liée, de manière covalente, une molécule de 20 kDa à la partie N-terminale du filgrastim, le monométhoxy polyéthylène glycol (PEG)⁴³

La pharmacocinétique du filgrastim et du lénograstim, nécessitant tous deux des administrations quotidiennes, est globalement similaire et leur effet pharmacologique semble équivalent⁴⁴. Il a été démontré par modélisation PK que la cinétique de ces molécules est non-linéaire à cause d'un mécanisme de clairance particulier. La clairance possède en effet deux composantes : une composante linéaire (élimination « non spécifique » : élimination rénale par filtration glomérulaire et de façon négligeable par protéolyse) et une composante non-linéaire (dégradation après fixation aux G-CSFRs sur les neutrophiles matures et précurseurs)⁴³. Le G-CSF a pour effet d'augmenter le pool de neutrophiles (donc le pool de récepteurs) et, par voie de conséquence, sa propre élimination médiée par ces récepteurs. L'élimination par l'intermédiaire des récepteurs est saturable aux fortes concentrations. Cette non-linéarité a été mise en évidence pour toutes les formulations, pégylées ou non.

Concernant le pegfilgrastim, la présence de la pégylation augmente le poids moléculaire (38.8kDa vs. 18.8kDa pour le filgrastim) et lui confère un rayon hydrodynamique plus important, ce qui va considérablement limiter la dégradation par protéolyse^{43, 45, 46} et surtout la clairance rénale⁴⁷⁻⁴⁹ par rapport au filgrastim⁴³. Scholz *et al.*⁵⁰ ont rapporté une constante de vitesse d'élimination plus basse de 80% pour la voie non spécifique pour le pegfilgrastim comparé au filgrastim. Une différence du même ordre de grandeur a été observée chez le rat ayant subi une néphrectomie bilatérale : la composante linéaire de la clairance du pegfilgrastim était 90% plus faible que celle du filgrastim⁵¹. Enfin, il a été montré chez des patients atteints d'insuffisance rénale que les valeurs des paramètres PK du pegfilgrastim n'étaient pas corrélés au degré d'insuffisance rénale, confirmant que les reins jouent un rôle mineur dans l'élimination du pegfilgrastim⁵². La clairance neutrophiles-dépendante est donc la principale voie d'élimination du pegfilgrastim⁵¹. Malgré la pégylation, l'identité du filgrastim et du pegfilgrastim ainsi que leur similarité de mécanisme d'action sont admises⁵³. Cette pégylation interfère très peu avec la fixation au G-CSFRs⁵⁴. Il a été montré qu'une injection SC unique de pegfilgrastim était cliniquement et statistiquement équivalente à environ 11 injections successives de filgrastim par cycle de chimiothérapie.^{55, 56} La Figure 4 montre le profil des concentrations sériques de pegfilgrastim pour différentes doses et pour le filgrastim à la dose de 5 µg/kg/jour vs. l'évolution des neutrophiles circulants avant et après chimiothérapie.

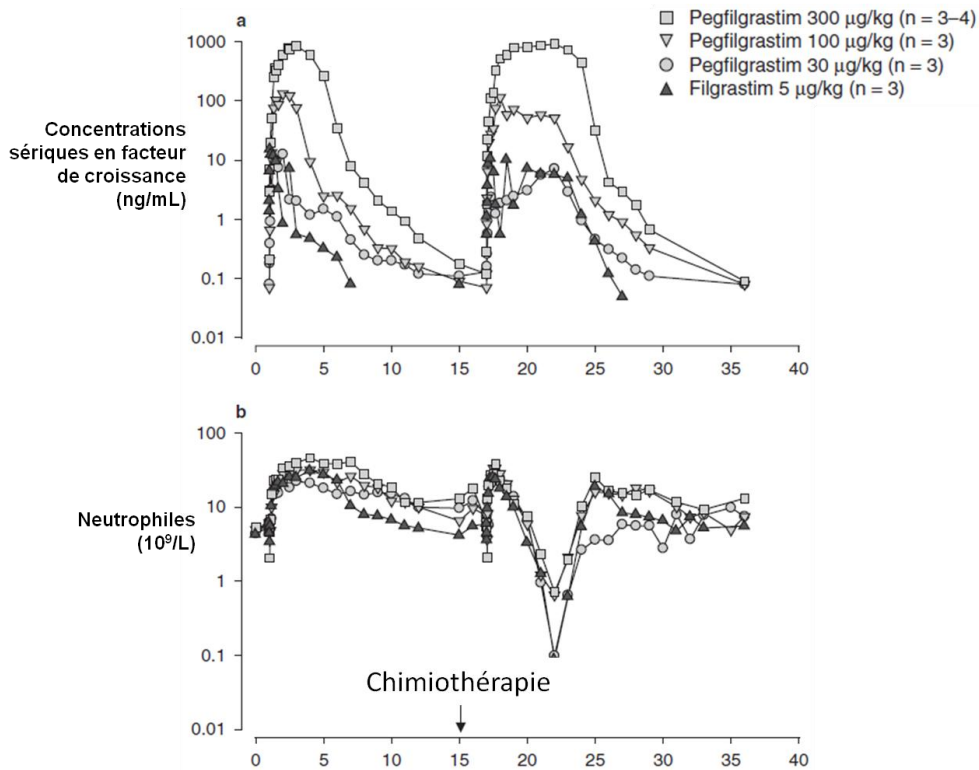


Figure 4 : Cinétique des concentrations sériques médianes en G-CSF (a) et du nombre de neutrophiles circulants (b) chez des patients atteints de cancer pulmonaire non à petites cellules (pris de ⁴³)

Dans cette étude, le filgrastim a été administré quotidiennement pendant 5 jours ou jusqu'à ce que le nombre de neutrophiles soit $\geq 75 \cdot 10^9/L$ avant la chimiothérapie, puis quotidiennement jusqu'à ce que le nombre de neutrophiles soit $\geq 10 \cdot 10^9/L$ après le nadir postchimiothérapie (9 ou 10 jours) ; le pegfilgrastim quant à lui, a été administré une seule fois avant et après chimiothérapie.⁴³ Cette figure illustre bien la non-linéarité de la cinétique du pegfilgrastim aux fortes concentrations.

Le temps de demi-vie pour la phase terminale de décroissance des concentrations sériques est d'environ 2-4 heures pour le filgrastim⁴⁴ et le lénograstim⁵⁷ et est beaucoup plus long pour le pegfilgrastim (42h)⁵⁴. Après administration sous-cutanée aux doses recommandées (cf. *infra*), la biodisponibilité du filgrastim est de 60-70%^{58, 59} et celle du lénograstim de 30%⁵⁷. Le pegfilgrastim semble avoir une biodisponibilité plus faible que le filgrastim après administration SC (biodisponibilité relative de 20 à 50% en fonction des

études)⁴³. Des volumes de distribution apparents (Vd/F) de 60 mL/kg, 240 mL/kg et 70 mL/kg environ ont été respectivement rapportés pour le filgrastim⁵⁹, le lénograstim⁶⁰ et le pegfilgrastim⁶¹.

1.4 Posologie et mode d'administration

Après une chimiothérapie, la dose recommandée de filgrastim et de lénograstim est de 5 µg/kg/jour (soit 0,5 MU/kg/j pour le filgrastim et 150 µg/m² ou 19,2.10⁶ UI/m² pour le lénograstim). La première injection doit être effectuée au plus tôt 24 heures après la fin de la chimiothérapie cytotoxique. Le filgrastim et le lénograstim doivent être administrés de façon quotidienne par voie sous-cutanée ou en perfusion intraveineuse de 30 minutes, la solution de filgrastim étant alors diluée dans une solution de glucose à 5 %. La préférence est donnée à la voie sous-cutanée dans la majorité des cas. L'administration quotidienne de filgrastim et de lénograstim doit être poursuivie jusqu'à ce que le nadir du nombre de neutrophiles soit dépassé et que ce nombre soit revenu à une valeur normale. Après traitement par une chimiothérapie validée dans les tumeurs solides, les lymphomes et les leucémies lymphoïdes, la durée nécessaire de traitement peut aller jusqu'à 14 jours. De manière générale, il n'existe pas de valeur seuil de neutrophiles au-delà de laquelle le filgrastim ou le lénograstim peut être arrêté, probablement parce qu'elle est laissée à l'appréciation du clinicien.

Concernant le pegfilgrastim, une dose de 6 mg (en une seringue unique préremplie) est recommandée pour chaque cycle de chimiothérapie, en administration sous-cutanée environ 24 heures après la fin de la chimiothérapie cytotoxique.

Plusieurs études cliniques sur l'efficacité comparée des différentes formulations sont disponibles. Concernant le lénograstim et le filgrastim, elles suggèrent qu'une moyenne de 11 injections est nécessaire pour obtenir un comptage neutrophilique dans l'intervalle de référence.^{55, 56, 62, 63} Quant au pegfilgrastim, les études ont montré qu'il persistait approximativement 14 jours, ou jusqu'à l'obtention d'un comptage neutrophilique normal.^{64, 65} Les recommandations actuelles ne privilégient pas une formulation par rapport à une autre^{38, 66}, mais de plus en plus d'auteurs suggèrent que le pegfilgrastim pourrait être plus

efficace que les formulations à administration quotidienne, probablement grâce à une meilleure observance.^{39, 41, 67, 68}

1.5 Effets indésirables

Les effets indésirables les plus fréquents suite à l'administration de G-CSF sont une leucocytose sévère ($> 100.10^9/L$), une thrombopénie, des céphalées, une asthénie, des douleurs abdominales, des douleurs osseuses et musculosquelettiques, une élévation de la lactate déshydrogénase (LDH) et des enzymes hépatiques. Certains de ces effets indésirables sont communs avec ceux de la chimiothérapie. Concernant les douleurs osseuses, le risque de leur survenue est augmenté en cas de leucocytose $> 50.10^9/L$, et les analgésiques standards sont généralement suffisants pour les contrôler. Des réactions au site d'injection ont également été rapportées.

Enfin, de rares cas de rupture splénique, d'angiopathies, de chocs anaphylactiques et de processus néoplasiques secondaires ont été observés. Concernant ce dernier point, il est possible qu'une augmentation de la prévalence des processus néoplasiques secondaires soit due à l'augmentation des doses de cytotoxiques permise par l'utilisation de G-CSF, et non au G-CSF lui-même.⁴¹ Néanmoins, le ratio bénéfice/risque penche en faveur de l'utilisation du G-CSF puisqu'il autorise le maintien des doses de cytotoxique et prévient une grande partie des neutropénies fébriles chez les patients à risque.⁶⁹

2. MODELISATION PHARMACOCINETIQUE/PHARMACODYNAMIQUE (PK/PD) DE LA TOXICITE HEMATOLOGIQUE DES AGENTS ANTICANCEREUX

La modélisation PK/PD permet de relier l'exposition à l'effet, que celui-ci soit défini en termes d'efficacité, de biomarqueurs (caractéristiques servant d'indicateurs à la mesure et l'évaluation de processus biologiques physiologiques, pathologiques ou encore de réponses pharmacologiques) ou de toxicité. L'objectif de la modélisation PK/PD est donc de mettre au point une représentation réaliste du devenir et de l'effet d'un médicament dans l'organisme en fonction des modalités d'administration et des caractéristiques individuelles des patients.

« All models are wrong, but some models are useful ! », George Box, 1976.⁷⁰

La modélisation PK/PD est de plus en plus utilisée dans le développement des médicaments. Elle constitue une base scientifique pour l'optimisation de la dose et des schémas d'administration lors des essais cliniques de phase II, à l'aide des caractéristiques des patients, du suivi des concentrations circulantes de médicament et de la quantification des effets observés. Ce type d'approche permet aussi d'évaluer l'efficacité/toxicité d'un traitement lors des essais cliniques de phase III. Enfin, cette approche autorise, en pratique clinique, une meilleure individualisation de dose⁷¹ basée sur le recueil d'observations chez le patient et le calcul de prédictions individuelles.

Nous ne nous intéresserons ici qu'à la modélisation de la toxicité hématologique due aux cytotoxiques.

2.1 Généralités sur l'approche PK/PD

La pharmacocinétique (PK) est l'étude du devenir du médicament dans l'organisme au cours du temps. Elle se compose de quatre grands processus : l'absorption, la distribution, le métabolisme et l'élimination (ADME).

L'absorption, inévitable lors d'administration extravasculaire, peut se faire au travers des différentes membranes par diffusion passive, transport actif ou diffusion facilitée. Lors d'absorption intestinale, la molécule atteint le foie via la veine porte et peut subir une biotransformation avant même d'avoir atteint la circulation générale (effet de premier passage hépatique). L'absorption d'un médicament peut être sujette à une forte variabilité inter- et intra-individuelle.

Lorsque le médicament parvient dans la circulation sanguine, il diffuse généralement passivement hors des systèmes vasculaires et se *distribue* dans les différents organes et compartiments liquidiens de l'organisme. Certains facteurs physiologiques comme la fixation aux protéines plasmatiques, sont susceptibles d'influencer la distribution d'un médicament (seule la fraction libre de la molécule est capable de se distribuer dans l'organisme).

L'élimination d'une substance est quantifiée par sa clairance. Cette dernière est la capacité d'un tissu, organe (clairance rénale, hépatique) ou organisme (clairance totale) à éliminer une substance donnée soit sous forme inchangée (excrétion) ou sous forme de métabolites (suite à son métabolisme). Le *métabolisme* (ou biotransformation) des médicaments se déroule essentiellement dans le foie via des complexes pluri-enzymatiques. Ainsi, tout dysfonctionnement hépatique peut conduire à une diminution des capacités métaboliques. Il existe en outre des polymorphismes concernant les gènes codant pour les enzymes responsables de ces biotransformations. Enfin, des phénomènes d'inhibition enzymatique (compétitive ou non) ou, au contraire, d'induction enzymatique peuvent être responsables d'interactions médicamenteuses. La clairance est soumise à de nombreuses sources de variabilité différentes selon l'organe impliqué.

Alors que la pharmacocinétique (PK) reflète l'action de l'organisme sur le médicament, la pharmacodynamie (PD) reflète l'action du médicament sur l'organisme. Ces deux notions étant intimement liées, des modèles mathématiques ont été développés en vue de maximiser l'efficacité des traitements et/ou de diminuer les effets indésirables. Il s'agit de la modélisation pharmacocinétique/pharmacodynamique (PK/PD) (Figure 5).

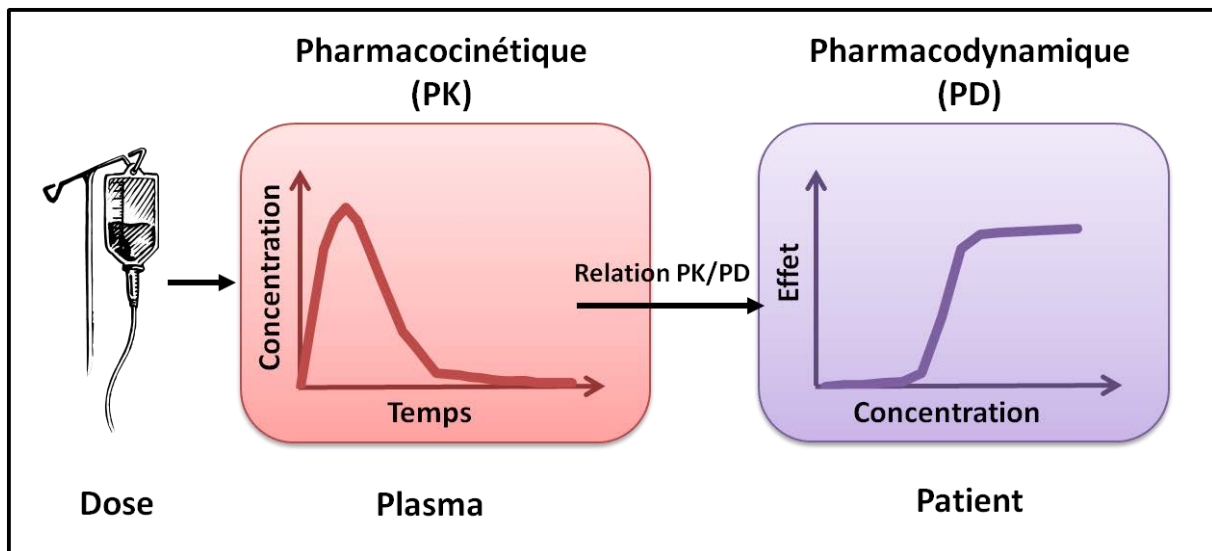


Figure 5 : Principe la modélisation pharmacocinétique/pharmacodynamique (PK/PD)

2.1.1 Modèles compartimentaux

Classiquement, la modélisation pharmacocinétique repose sur une approche dite compartimentale. Le compartiment est un espace dans lequel la molécule se distribue de façon instantanée et homogène et présente en tout point un comportement identique. Il peut être virtuel ou posséder une réalité anatomique (compartiment sanguin). La plupart du temps, le transfert de substance entre deux compartiments suit une cinétique d'ordre 1 : la vitesse de transfert (quantité sortant d'un compartiment par unité de temps) est proportionnelle à chaque instant à la quantité (Q) présente dans le compartiment en amont (processus d'ordre 1 = pharmacocinétique linéaire) :

$$\frac{dQ(t)}{dt} = -kQ(t)$$

avec k : constante de vitesse et Q(t) quantité présente à l'instant t.

Dans certains cas, les vitesses de transfert peuvent être constantes et indépendantes de la concentration en médicament. C'est le processus d'ordre 0. Dans d'autres cas, en particulier pour les complexes enzyme/substrat ou dans les cas de fixation saturable à un récepteur ou à une protéine plasmatique, la cinétique d'élimination ou de fixation peut être modélisée grâce à une équation de Michaelis-Menten (avec deux paramètres : la capacité

maximale de fixation/élimination B_{\max}/V_{\max} et la concentration en médicament permettant d'atteindre la moitié de la capacité maximale de fixation/élimination).

Le nombre de compartiments et leur enchaînement sont choisis de façon à pouvoir décrire au mieux les phénomènes observés (Figure 6). La molécule va s'échanger entre les compartiments suivant une cinétique définie, avec des constantes de vitesse spécifiques pour chacun d'entre eux. La résolution analytique des équations différentielles permet d'estimer, à partir d'observations recueillies chez un individu, les paramètres pharmacocinétiques du médicament chez cet individu (e.g. clairance [CL], volume de distribution).

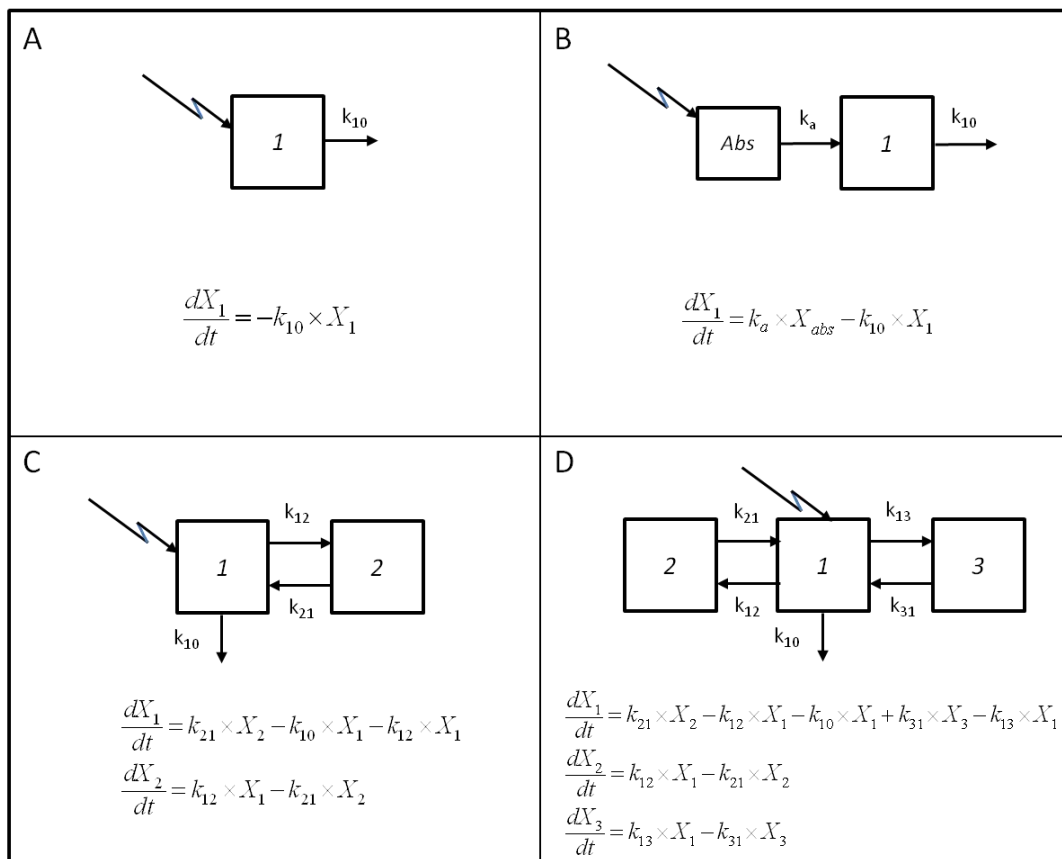


Figure 6 : Schémas et équations différentielles de modèles compartimentaux classiques

A : Modèle mono-compartmental après administration IV ; B : Modèle mono-compartmental après administration extravasculaire avec un processus d'absorption ordre 1 ; C : Modèle bi-compartmental après administration IV ; D : Modèle tri-compartmental mammaire après administration IV

2.1.2 Intérêt de l'approche de population

En pharmacocinétique classique, les données de plusieurs individus peuvent être analysées de deux manières : le pool de données ou l'analyse en deux étapes. La première consiste à rassembler toutes les données individuelles pour obtenir un « super-individu », qui est analysé comme s'il s'agissait d'un seul sujet. Les inconvénients de cette méthode sont l'absence de prise en compte de la corrélation entre les observations d'un même sujet et l'incapacité à distinguer la variabilité intra- et inter-individuelle. Quant à l'approche en deux étapes, elle consiste en l'estimation des paramètres PK de chaque individu, puis d'en faire la moyenne (obtention des paramètres PK moyens) et d'évaluer leur distribution pour la population étudiée. Cette méthode possède également des limites : elle nécessite beaucoup de prélèvements par individus (données « riches ») et peut surestimer la variabilité inter-individuelle (pas de prise en compte de l'erreur d'estimation des paramètres individuels).

L'approche de population, présentée par Sheiner en 1977⁷², permet d'estimer en *une seule étape* les paramètres PK moyens et la variabilité associée. Dans cette approche, tous les individus sont analysés simultanément ce qui permet d'inclure des individus avec des données éparées. L'approche de population est donc parfaitement adaptée à l'analyse de données d'essais cliniques où le nombre de prélèvements par individu est souvent limité avec un schéma d'administration et de prélèvement variables d'un individu à l'autre. Dans l'approche de population, les analyses peuvent être donc réalisées sur un échantillon représentatif de la population cible (futurs patients) et dans des conditions cliniques réalistes. Elle permet en outre des études dans des populations spécifiques (enfants, personnes âgées) pour lesquelles les études PK classiques ne sont pas possibles car nécessitant trop de prélèvements sanguins. L'approche de population permet alors la mise en évidence de caractéristiques individuelles (covariables) capables d'influencer la réponse ou l'effet et d'identifier des sous-populations à risque (sous- ou surexposées) pour lesquels un ajustement posologique serait nécessaire.⁷³ Le Tableau ci-dessous résume les principales différences entre l'analyse classique et de population.

| Analyse PK ou PK/PD classique | Analyse PK ou PK/PD de population |
|---|---|
| Peu d'individus (ex : N= 12) | Beaucoup d'individus (ex : N= 200) |
| Population homogène | Population hétérogène (population cible) |
| Beaucoup de prélèvements par individu | Possibilité d'avoir des prélèvements éparses (ex : 1 ou 2 par individu) |
| Schéma de prélèvements équilibré, identique pour tous, conditions d'étude standardisées | Nombre et temps de prélèvements pouvant varier d'un individu à l'autre |
| Ex : Phase I (volontaires sains) | Ex : Phase II/III (patients) |
| ⇒ Analyse individu par individu et statistiques descriptives | ⇒ Analyse de tous les individus simultanément |

Tableau 2 : Comparaison des approches « classique » et « de population » de l'analyse PK ou PK/PD

2.1.3 Principes de la modélisation par une approche de population

2.1.3.1 Modélisation

Lors d'approches PK/PD de population, les modèles construits sont non linéaires (les paramètres n'interviennent pas linéairement dans le modèle) et à effets mixtes (effets fixes et plus d'un effet aléatoire), ce qui donne son nom au principal logiciel d'analyse de pharmacocinétique de population : Nonmem (NON Linear Mixed Effects Model). Deux types d'approches sont possibles (paramétrique et non-paramétrique) mais ici nous ne considérerons que l'approche paramétrique où la distribution des effets aléatoires est décrite par un nombre fini de paramètres. Cette approche permet d'estimer d'une part des paramètres PK/PD moyens (ou paramètres PK/PD de population) et les effets d'éventuelles covariables (effets fixes), et d'autre part les variances des effets aléatoires qui mesurent la

variabilité inter-individuelle et l'erreur résiduelle (variabilité analytique et écart au modèle). Lors de l'analyse, les paramètres du modèle sont estimés et les effets aléatoires sont prédits.

Un modèle général est le suivant:

$$Y_{ij} = f(D_i, t_{ij}, \beta_i) + \varepsilon_{ij}$$

$$\varepsilon_{ij} \text{ iid} \sim N(0, g(D_i, t_{ij}, \beta_i, \sigma)^2) \quad (\text{iid : indépendants et identiquement distribués})$$

$$\beta_i = h(x_i, \theta, \eta_i) \text{ avec } \eta_i \text{ iid} \sim N(0, \Omega)$$

Où :

- Y_{ij} est l'observation au temps t_{ij} pour l'individu i , $i=1, \dots, N$, $j = 1, \dots, n_i$ avec N le nombre total d'individus et n_i le nombre total d'observations pour l'individu i ,
- $f()$ est le modèle de structure (ex : modèle compartimental),
- ε_{ij} est l'erreur résiduelle,
- D_i est le schéma posologique de l'individu i ,
- β_i est le vecteur des paramètres PK/PD individuels (variables aléatoires),
- $g()$ est le modèle de variance de l'erreur résiduelle,
- σ est le vecteur des paramètres pour le modèle de variance de l'erreur résiduelle,
- $h()$ est une fonction vectorielle,
- x_i est le vecteur de covariables pour l'individu i ,
- θ est le vecteur des effets fixes (paramètres PK moyens et effets des covariables),
- η_i est le vecteur des effets aléatoires représentant la variabilité inter-individuelle (pour un modèle sans covariable) ou la variabilité inter-individuelle non expliquée par les covariables (pour un modèle avec covariables),
- Ω est la matrice de variance-covariance de η_i .

A l'échelle de l'individu

Le modèle de structure est décrit par la fonction f . Elle est identique pour tous les individus. Il décrit l'évolution de la concentration et/ou de l'effet du médicament au cours du temps chez un individu.

L'erreur résiduelle (ε) définit l'écart entre ce qui est prédit par le modèle et l'observation. Cet écart est dû aux erreurs de mesure (par exemple erreur analytique), à l'inadéquation du modèle de structure (qui n'est pas la réalité), à la variabilité inter-occasion (si celle-ci n'est pas modélisée ; cf. infra) et aux erreurs de renseignement (doses, temps d'administration et de mesures). Cette différence est en général supposée assimilable à du « bruit de fond », c'est-à-dire majoritairement attribuable à des erreurs de mesure. Aussi, cette erreur résiduelle est supposée aléatoire et de moyenne nulle. Elle peut se modéliser de différentes façons : erreur résiduelle additive ($g(D_i, t_{ij}, \beta_i, \sigma) = \sigma$) proportionnelle ($g(D_i, t_{ij}, \beta_i, \sigma) = \sigma \times f()$) ou mixte ($g(D_i, t_{ij}, \beta_i, \sigma) = \sigma_1 \times f() + \sigma_2$) (Figure 7). Lors d'erreur additive, la variance de l'erreur est constante et indépendante de la valeur de $f(D_i, t_{ij}, \beta_i)$. Lors d'erreur proportionnelle (multiplicative), la variance de l'erreur est proportionnelle au carré de $f(D_i, t_{ij}, \beta_i)$. La variabilité résiduelle permet d'apprécier l'ajustement du modèle. En effet, si elle est très grande, cela signifie soit que le modèle ajuste mal les données observées soit qu'il existe une forte variabilité résiduelle et/ou inter-occasion (si cette dernière n'a pas été prise en compte dans le modèle).

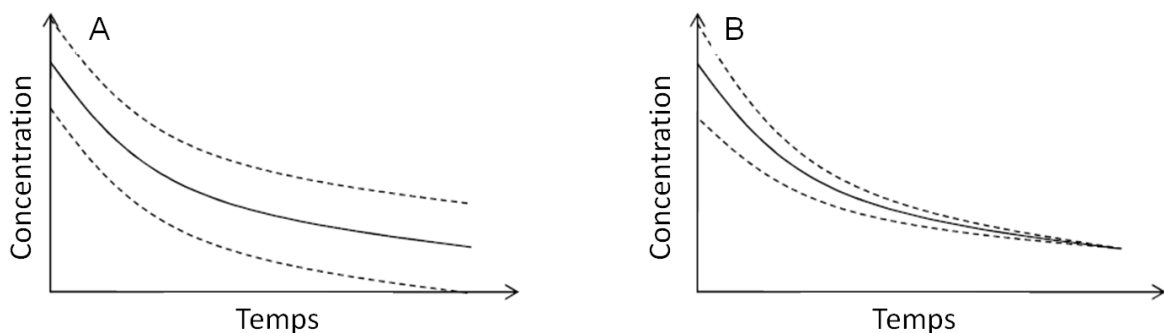


Figure 7 : Modèles d'erreur

A : variabilité résiduelle additive ; B : variabilité résiduelle proportionnelle

A l'échelle de la population

Les paramètres PK/PD individuels β_i sont des variables aléatoires. On fait souvent l'hypothèse que leur distribution est normale ou lognormale.

Pour un modèle sans covariables, nous avons par exemple :

$$\beta_i = \theta + \eta_i \text{ avec } \eta_i \sim N(0, \Omega)$$

Ici θ représente les paramètres PK/PD moyens (ou « paramètres PK/PD de population ») et η_i représente l'écart entre ces paramètres PK/PD moyens et les valeurs des paramètres PK/PD de l'individu i (β_i). Les termes diagonaux de Ω (notés ici ω^2) quantifient la variabilité inter-individuelle. Les variances ω^2 permettent de voir si les valeurs individuelles sont fortement dispersées. En cas de forte dispersion, il conviendra de tenter d'expliquer les sources de cette variabilité à l'aide des covariables disponibles.

Enfin, la modélisation statistique des données peut également prendre en compte une autre source de variabilité, la variabilité inter-occasion. Il est nécessaire alors que les observations s'étalent sur au moins deux occasions pour tout ou partie des individus (ex : la PK du cytotoxique est documentée au cours de 2 ou plusieurs cycles de chimiothérapie). La variabilité inter-occasion est modélisée à l'aide d'effets aléatoires notés ici κ . Par exemple, pour l'individu i à l'occasion k :

$$\beta_{ik} = \theta + \eta_i + \kappa_{ik} \text{ avec } \eta_i \sim N(0, \Omega) \text{ et } \kappa_{ik} \sim N(0, \Gamma)$$

Les termes diagonaux de Ω (ω_{iIV}^2) représentent la variabilité inter-individuelle. Les termes diagonaux de Γ (ω_{iOV}^2) représentent la variabilité inter-occasion.

2.1.3.2 Recherche de covariables

Un certain nombre de facteurs peuvent influencer la PK/PD des médicaments :

- facteurs démographiques : âge, poids ou surface corporelle, sexe, race,
- facteurs génétiques (polymorphismes),
- facteurs environnementaux : tabagisme, régime alimentaire,
- facteurs physiopathologiques : fonction rénale, hépatique, maladie intercurrente,
- co-administration de médicaments, formulation...

La recherche de covariables a pour objectif d'expliquer la variabilité inter-individuelle des paramètres PK/PD et, *in fine*, d'administrer la dose la plus adéquate à chaque patient

(individualisation de dose). Pour choisir les covariables pertinentes, il est nécessaire de s'appuyer sur des hypothèses ayant un fondement physiopathologique et de ne pas prendre des covariables ayant une forte corrélation entre elles. Des outils graphiques sont utilisés pour détecter le lien entre les paramètres PK/PD individuels prédits par le modèle (Empirical Bayes Estimates ou « EBEs ») et chacune des covariables, mais ces prédictions peuvent être associées à une incertitude plus ou moins grande et à un biais potentiel. Il est donc nécessaire au final de tester ces covariables dans le modèle de population. Il existe des covariables continues (clairance de la créatinine par exemple) et des covariables catégorielles (sexe par exemple). La prise en compte des covariables dans le modèle peut se faire de la manière suivante :

- Exemple d'une covariable continue : clairance de la créatinine (CLCr) \Rightarrow

$$CL_i = \theta_1 + \theta_2 \times CLCr_i + \eta_i,$$
- Exemple d'une covariable catégorielle : sexe $\Rightarrow CL_{i,\text{homme}} = \theta_1 + \eta_i, CL_{i,\text{femme}} = \theta_2 + \eta_i.$

2.1.3.3 Estimation des paramètres et choix du modèle

Les paramètres du modèle de population sont : θ , Ω et σ . Ils sont estimés par la méthode du maximum de vraisemblance de telle manière que les valeurs prédites par le modèle soient les plus *vraisemblables*, c'est-à-dire le plus proche possible des valeurs observées. Du fait de la nature non linéaire du modèle, le calcul analytique de la vraisemblance est impossible. Une stratégie consiste donc à linéariser le modèle vis-à-vis des effets aléatoires η et à maximiser la vraisemblance de ce nouveau modèle qui est une approximation du modèle original. Dans ce cas, l'estimation des paramètres utilise des techniques itératives au moyen d'approximations successives. Plusieurs approximations du modèle (équation (1)) ont été proposées et implémentées dans le logiciel Nonmem. Les plus courantes sont:

- La linéarisation du modèle par un développement limité du premier ordre au voisinage de $\eta_i=0$ (méthode FO dans NONMEM, « FO » pour First Order) :

$$f(\theta + \eta_i) \approx f(\theta) + \eta_i f'(\theta)$$

Dans ce cas, l'approximation est grossière et peut induire des biais si la variabilité inter-individuelle est trop grande,

- La linéarisation du modèle par un développement limité du premier ordre au voisinage des effets aléatoires individuels prédits à chaque itération ($\hat{\eta}_i$) (méthode FOCE pour First Order Conditional Estimates) :

$$f(\theta + \eta_i) \approx f(\theta + \hat{\eta}_i) + (\eta_i - \hat{\eta}_i) f'(\theta + \hat{\eta}_i).$$

Le plus souvent, les prédictions $\hat{\eta}_i$ correspondent aux modes des distributions *a posteriori* de η_i pour l'individu i (approche bayésienne qui consiste à trouver la valeur la plus probable de η_i en tenant compte à la fois des paramètres du modèle de population estimés et des observations de l'individu i). Mais lorsque peu d'observations sont disponibles, les $\hat{\eta}_i$ tendent à se rapprocher de 0 (i.e. les prédictions des paramètres PK/PD individuels tendent à se rapprocher des paramètres PK/PD moyens de la population). C'est le phénomène de *shrinkage* (rétrécissement vers la moyenne), ce qui veut dire que ces prédictions sont imprécises et potentiellement biaisées.

- La linéarisation du modèle selon la méthode FOCE-I (FOCE-Interaction) repose sur le même principe que la méthode FOCE, mais la fonction $g()$ (erreur résiduelle) est linéarisée au voisinage de la prédiction courante de η_i ($\hat{\eta}_i$) et non au voisinage de 0 (moyenne des η_i) comme dans les méthodes précédentes.

D'autres méthodes d'estimation ont été développées plus récemment, comme la méthode SAEM (Stochastic Approximation Expectation Maximisation) qui fait intervenir l'algorithme EM (Expectation Maximisation⁷⁴). Cette méthode associe une étape de simulation des paramètres PK/PD individuels suivie d'une étape d'approximation stochastique de la fonction EM. Elle ne repose sur aucune approximation du modèle. Elle est implémentée dans la dernière version de NONMEM (7.2), dans le logiciel Monolix ainsi que dans le logiciel R (package saemix).

Le modèle construit doit décrire les données au mieux en utilisant un minimum de paramètres et de complexité.⁷³ Maximiser la vraisemblance ou Likelihood (L) revient à minimiser le $-2 \times \log(L)$. Pour la plupart des méthodes implémentées dans le logiciel NONMEM (FO, FOCE, FOCE-I, etc), NONMEM donne la « fonction objective » qui est égale à $-2 \times \log(L)$ à une constante près. La comparaison de plusieurs modèles se fait grâce à cette fonction objective, par l'intermédiaire d'un test du χ^2 , à condition que les modèles soient emboîtés, c'est-à-dire que l'un des modèles peut être considéré comme un cas particulier de l'autre en fixant un ou plusieurs paramètres à une constante. La valeur de la fonction objective sert à tester si l'ajout ou le retrait d'un paramètre a un effet significatif sur la qualité de l'ajustement des données. Le nombre de degrés de liberté utilisé pour le test du χ^2 est alors égal à la différence du nombre de paramètres entre les deux modèles. Si les méthodes d'estimation ne sont pas les mêmes (FO vs. FOCE), les fonctions objectives ne sont pas directement comparables.

Des graphiques évaluant l'ajustement des données (goodness-of-fit ou GOF) permettent d'apprécier le choix du modèle de structure et du modèle d'erreur ainsi que les hypothèses émises lors de la construction du modèle concernant la distribution des effets aléatoires. La représentation des valeurs prédites par le modèle ou IPRED en notation NONMEM ($f(t_{ij}, \hat{\beta}_i)$) en fonction des valeurs observées (Y_{ij}) donnent une appréciation du modèle de structure. L'évaluation des résidus standardisés à l'échelle individuelle (IWRES en notation NONMEM) en fonction du temps ou des prédictions individuelles (IPRED) permet de vérifier à la fois le modèle de structure et le modèle d'erreur. Des résidus standardisés peuvent être également calculés à l'échelle de la population (WRES en notation NONMEM) mais ceux-ci restent peu informatifs (sous le bon modèle et lorsqu'ils sont calculés correctement, ils doivent montrer une moyenne nulle à chaque temps et une variance constante égale à 1).

2.1.3.4 Validation du modèle

La dernière étape de la modélisation est l'étape de validation. Plusieurs stratégies sont possibles. La première est l'utilisation d'un nouveau jeu de données, qui n'a pas été

utilisé pour la construction du modèle (*validation externe*). Cette méthode est très robuste, mais pas toujours possible car elle nécessite que ces données soient disponibles. Lorsque l'échantillon est suffisamment grand, un « data splitting » est possible pour définir des sous-groupes d'individus (*learning dataset* pour la construction du modèle et *validation dataset* pour la validation du modèle). Les méthodes de *validation interne* peuvent être basées sur des ré-échantillonnages de la base de données (par exemple « Bootstrap ») suivis d'une re-estimation, ou sur la simulation de données à partir du modèle et la comparaison de ces données simulées avec les données observées (« Visual Predictive Checks » pour la comparaison graphique, « NPDE » (normalized prediction distribution errors⁷⁵) pour la réalisation de tests statistiques et de graphiques diagnostiques.

2.2 Pharmacocinétique et mode d'action d'un cytotoxique : le carboplatine

Le carboplatine, qui sera le cytotoxique d'intérêt de nos travaux, appartient à la classe des dérivés du platine. Cette classe de cytotoxiques, qui comprend également le cisplatine et l'oxiplatine, possède un comportement pharmacocinétique très particulier par rapport aux autres cytotoxiques.

L'action cytotoxique du cisplatine (cis-diamminodichloroplatine) a été découverte fortuitement par Rosenberg en 1965 grâce à l'observation d'une inhibition de la division de bactéries (*Escherichia coli*) lors d'un contact avec une électrode de platine.⁷⁶ Après la démonstration de son activité anticancéreuse chez l'animal⁷⁷ et les premiers essais cliniques chez l'homme dès 1971, le cisplatine a été commercialisé en 1978. Le carboplatine (cyclobutane-dicarboxyloplatine), analogue du platine de deuxième génération, a été par la suite développé comme alternative au cisplatine présentant moins d'effets indésirables. Sa commercialisation date de la fin des années 1980.

La structure des dérivés du platine est basée sur la présence d'un atome de platine tétravalent (II). L'orientation *cis* du platine est primordiale puisque la forme *trans* ne présente aucune activité anti-tumorale.⁷⁸ Les trois dérivés du platine (cisplatine, carboplatine, oxiplatine) ont la particularité de subir une **hydrolyse spontanée** (sans l'intervention d'enzyme) en milieu aqueux. L'hydrolyse du cisplatine et du carboplatine

aboutit à un métabolite commun, le di-aquaplatine (Figure 8), différent de celui de l'oxiplatine. Cisplatine et carboplatine sont donc assimilés à des promédicaments et le di-aquaplatine est leur métabolite actif, responsable à la fois de l'action antitumorale et des effets indésirables. Néanmoins, le carboplatine est plus stable vis-à-vis de l'hydrolyse et la moindre toxicité du carboplatine par rapport au cisplatine s'expliquerait par la lenteur de l'hydrolyse de son groupement carboxylate. La fraction ultrafiltrable du carboplatine qui est mesurée dans le sérum correspond au carboplatine et à son métabolite.

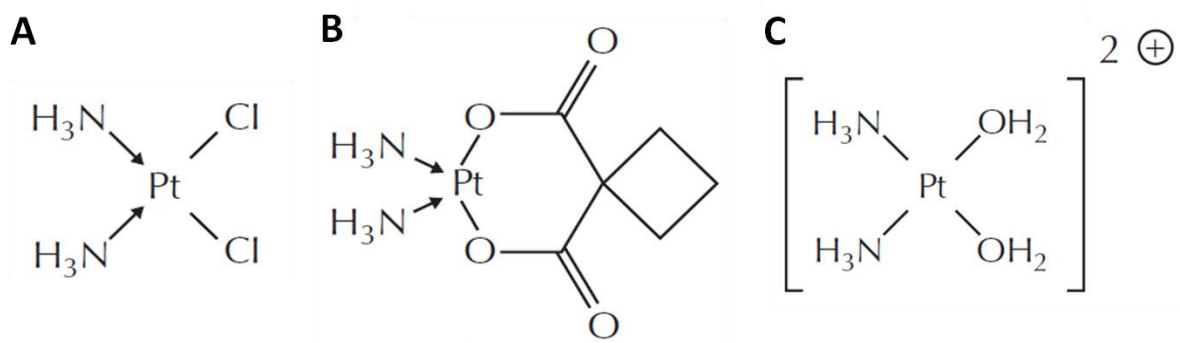


Figure 8 : Structure du cisplatine (A), du carboplatine (B) et de leur métabolite actif, le di-aquaplatine (C)

Les dérivés du platine sont **administrés par voie parentérale** selon des perfusions intraveineuses de 30 à 60 minutes (des administrations intra-péritonéales sont également utilisées). La voie orale possède en effet une mauvaise biodisponibilité et conduit à des effets indésirables digestifs plus importants. La carboplatine est conditionné dans des flacons de différente contenance (5 à 60 mL) mais à la concentration unique de 10 mg/mL. Il peut être directement administré à cette concentration ou dilué avec une solution de glucose 5%. Le carboplatine ne doit pas être dilué dans du chlorure de sodium isotonique qui favoriserait la formation de cisplatine dans la poche de perfusion.^{79, 80}

Après hydrolyse plasmatique, les mono- et **di-aquaplatine se lient de manière covalente aux protéines circulantes** composées principalement d'albumine. Cette liaison étant irréversible, la fraction liée de di-aquaplatine a la même cinétique d'élimination que la

protéine, c'est-à-dire principalement un métabolisme hépatique extrêmement lent. La fixation aux protéines constitue donc une première voie d'élimination des dérivés du platine et leur confère une demi-vie terminale prolongée (environ 6 jours ; concentrations circulantes totales). La fraction non liée aux protéines plasmatiques est la seule à avoir une action cytotoxique et est éliminée par voie rénale. Pour connaître la concentration en carboplatine « actif », les études pharmacocinétiques reposent donc sur la mesure des concentrations plasmatiques ultrafiltrables, proches de celles du carboplatine libre. Dans l'ultrafiltrat, ses demi-vies de distribution et d'élimination sont respectivement de l'ordre de 20 et 120 minutes⁸¹. Le volume de distribution à l'équilibre est de 10 L/m². La clairance totale d'élimination plasmatique ultrafiltrable est de 107 mL/min en moyenne (81 mL/min pour la clairance rénale et 26 mL/min pour la clairance métabolique). Environ 80% de la dose administrée est retrouvée dans les urines au bout de 24 heures chez un patient avec une fonction rénale normale^{81, 82}

Le principe du mécanisme d'action cytotoxique des dérivés du platine est similaire pour les trois molécules (cisplatine, carboplatine, oxiplatine). Extrêmement électrophiles, elles vont former des liaisons covalentes avec différentes bases de l'ADN, en particulier la guanine. Etant bi-fonctionnels (pouvant se lier à deux bases), elles seront responsables de la formation de ponts principalement intrabrins entre deux bases adjacentes, et dans une moindre mesure de ponts interbrins et de liaisons monofonctionnelles (à une seule base).⁸³ Ces ponts vont modifier la structure de l'ADN et perturber les mécanismes de réplication⁸⁴ et de transcription.

Au-delà de cette action cytotoxique directe, d'autres mécanismes sont mis en cause, même si l'ensemble des mécanismes n'est pas encore clairement identifié. Certaines protéines, porteuses de domaines HMG (en particulier la protéine HMGB1) ont la capacité de stabiliser la liaison de adduits de platine avec l'ADN, d'empêcher la synthèse translésionnelle⁸⁵, d'empêcher les phénomènes de réparation par excision de nucléotides (NER)⁸⁶ et de bloquer les facteurs de transcription, à l'origine des signaux qui déclenchent la mort par apoptose⁸⁷ (cytotoxiques cycle-dépendants). Il a été montré que la surexpression de HMGB1 augmentait la sensibilité au carboplatine des cellules lors de cancer du sein.⁸⁸

Plusieurs phénomènes de résistance aux dérivés du platine ont été décrits. Les principaux travaux concernent le cisplatine, mais les mécanismes sont probablement communs au carboplatine étant donné leur métabolite actif commun. Certains phénomènes vont influencer l'accumulation intracellulaire du métabolite actif, par exemple en diminuant l'entrée de celui-ci dans la cellule (diminution de l'expression de certaines protéines de transport du cuivre comme Ctr1^{89, 90}), en séquestrant les dérivés du platine dans des vésicules (par le biais de transporteurs du cuivre comme ATP7A et ATP7B⁹¹⁻⁹³) ou en impliquant une *multi-drug resistant protein* (MRP2)⁹⁴⁻⁹⁷. D'autres mécanismes vont permettre d'inactiver les dérivés du platine qui sont parvenus dans la cellule, ce qui est le cas des molécules possédant un groupement thiol comme le glutathion (par le biais notamment de la glutathion-S-transférase GSTP1^{98, 99}) et les métallothionéines^{100, 101}. Il existe également des possibilités de réparation des adduits de platine : surexpression de la topoisomérase II¹⁰², système de réparation par excision de nucléotides (NER)^{103, 104}, système de réparation des mésappariements (MMR) déclenchant l'apoptose en échouant dans ses tentatives de réparation¹⁰⁵⁻¹⁰⁷. Enfin, des systèmes de synthèse translésionnelle (ignorant les adduits intrabrinés)¹⁰⁸, de résistance par activation d'oncogène (c-Fos)¹⁰⁹ et d'inhibition de l'apoptose (via le gène bcl-2)¹¹⁰ ont été décrits.

Alors que la principale **toxicité** du cisplatine est rénale (nécrose tubulaire aiguë et perturbations glomérulaires), celle du carboplatine est hématologique. La néphrotoxicité du cisplatine est cumulative et nécessite une préhydratation du patient. Le cisplatine est également un puissant émétisant, peut causer une neurotoxicité périphérique cumulative et une ototoxicité. Quant à l'hématotoxicité du carboplatine, elle se manifeste par une thrombopénie lorsqu'il est utilisé en monothérapie ou en association avec la gemcitabine, et par une neutropénie pour les autres associations de cytotoxiques.¹¹¹

Le carboplatine étant cycle-dépendant, l'intensité de son effet est fonction du produit concentration x temps et non de la durée d'exposition seule. **L'aire sous la courbe** des concentrations plasmatiques ultrafiltrables en carboplatine (ASC ou AUC en anglais pour *area under the curve*) a donc été reconnue comme un paramètre pharmacocinétique pertinent. En outre, l'intensité de l'hématotoxicité (thrombopénie ou neutropénie) est corrélée à l'ASC.^{112, 113} La relation exposition/toxicité justifie ainsi de ne pas calculer la dose

IV par rapport à la surface corporelle mais en utilisant l'équation : $Dose = CL \times ASC_{cible}$ où CL est la clairance prédite pour le patient. L' ASC_{cible} se situe généralement entre 5 et 7 mg/mL.min de carboplatine.¹¹³ Quant à la clairance du carboplatine, différentes formules sont disponibles pour la prédire. Calvert *et al.*¹¹⁴ ont décrit une méthode qui repose sur la détermination du débit de filtration glomérulaire (DFG) par méthode isotopique. Cette dernière étant relativement lourde, le DFG est souvent estimé selon l'équation de Cockcroft et Gault à partir de la créatininémie, l'âge, le poids et le sexe du patient. En 1995, Chatelut *et al.*¹¹⁵ ont proposé une méthode basée sur les mêmes caractéristiques du patient, mais qui s'affranchit de l'estimation du DFG. La même équipe a modifié sa formule tout d'abord pour prendre en compte les patients en surpoids¹¹⁶, puis les biais dus aux différentes méthodes de dosage de la créatinine¹¹⁷. Plus récemment, ils ont proposé l'utilisation additionnelle de la cystatine C pour mieux prédire la clairance du carboplatine quel que soit l'indice de masse corporelle du patient.¹¹⁸

Les principales indications de l'utilisation du carboplatine sont le carcinome ovarien et tous les cancers pour lesquels le cisplatine est préconisé (cancers pulmonaires et des voies aéro-digestives essentiellement) mais contre-indiqué chez le patient concerné.

2.3 Modélisation de la toxicité hématologique des cytotoxiques

L'index thérapeutique des cytotoxiques étant très étroit, la dose pouvant être administrée au patient est limitée par leurs effets toxiques. L'un des outils servant à l'optimisation de dose est la modélisation PK/PD, c'est-à-dire le développement de modèles permettant de décrire la relation entre la dose de cytotoxique, sa concentration circulante (plasmatique ou sérique) et son effet. Les modèles PK/PD utilisés en cancérologie s'attachent principalement à décrire la neutropénie et/ou la leucopénie en fonction de la dose de cytotoxique et des caractéristiques individuelles du patient.

2.3.1 Modèles empiriques et modèles mécanistes

L'utilité des modèles PK/PD dans le cadre de l'optimisation des traitements anticancéreux est démontrée depuis au moins une vingtaine d'années.¹¹⁹⁻¹²¹ La possibilité d'anticiper la toxicité hématologique des cytotoxiques peut en effet permettre d'optimiser les traitements et de prédire les complications pouvant survenir suite à une myélosuppression prolongée.¹²² Il existe un décalage dans le temps entre l'observation de la concentration circulante d'un anticancéreux et l'observation de son effet, en l'occurrence la myélotoxicité. Ainsi, certains modèles PK/PD relie une variable résumant l'exposition au médicament (par exemple l'ASC) à une mesure résumant sa toxicité (par exemple le nombre de neutrophiles circulants au moment du nadir, point le plus bas de la cinétique des neutrophiles). Mais la détermination précise du nombre de neutrophiles/leucocytes au moment du nadir est délicate puisque les prélèvements sont réalisés généralement une à deux fois par semaine dans la pratique quotidienne. L'intensité du nadir peut être ainsi sous-estimée et la durée de la neutropénie/leucopénie inconnue. Pour pallier ce manque d'informations précieuses, des modèles plus mécanistes ont été développés afin de prédire la cinétique complète des neutrophiles et/ou des leucocytes.¹²⁰

Il existe deux classes de modèles PK/PD en cancérologie^{123, 124}: les modèles « empiriques », basés sur des relations empiriques entre données d'entrée et observations en sortie^{122, 125, 126} ; et les modèles « mécanistes », dans les lesquels on intègre des données physiopathologiques et qui ont une vocation explicative et prédictive. La différence entre un modèle mécaniste et un modèle empirique est particulièrement nette lorsque le processus à modéliser est la combinaison de plusieurs processus, ce qui est notre cas. Le modèle empirique les représente indistinctement sous la forme d'une équation synthétique regroupant les différents processus, tandis que le modèle mécaniste conservera la représentation de chacun des processus. Ces derniers sont donc préférés aux modèles empiriques, d'une part parce que leur valeur prédictive est supérieure, d'autre part parce qu'ils peuvent être utilisés afin de mieux comprendre les phénomènes physiopathologiques impliqués dans le cadre de l'effet myélotoxique des cytotoxiques.

De nombreux modèles mécanistes ont été développés, mais requièrent d'ajuster de nombreux paramètres lorsque l'on souhaite analyser des données cliniques. L'information

n'étant généralement pas disponible, leur utilisation est limitée. Il a donc été nécessaire de simplifier ces modèles, et de créer des modèles dits semi-mécanistes (semi-physiologiques).¹²⁰ Le degré de complexité de ces modèles semi-mécaniste est plus ou moins important : Alors que le premier modèle semi-mécaniste décrit (bi-compartimental) inclut un *lag-time* pour permettre la modélisation du délai entre l'administration du médicament et le début de la décroissance des granulocytes neutrophiles circulants¹²⁷, les modèles suivants ont incorporé un ou plusieurs compartiments intermédiaires^{1, 128-132}.

2.3.2 Modèle de Friberg

Parmi tous les modèles semi-mécanistes décrits, celui publié par Friberg *et al.* en 2002 reste le plus utilisé et a été validé pour l'utilisation de différents médicaments anticancéreux.¹ Il fut initialement établi chez des rats traités par docétaxel, paclitaxel, étoposide, 2'-deoxy-2'-methylidenecytidine (DMDC), irinotécan ou vinflunine. Il s'agit d'un modèle semi-physiologique ayant pour but de mimer au plus près la neutropoïèse, c'est-à-dire la synthèse des granulocytes neutrophiles. La Figure 9 présente le modèle et ses équations différentielles.

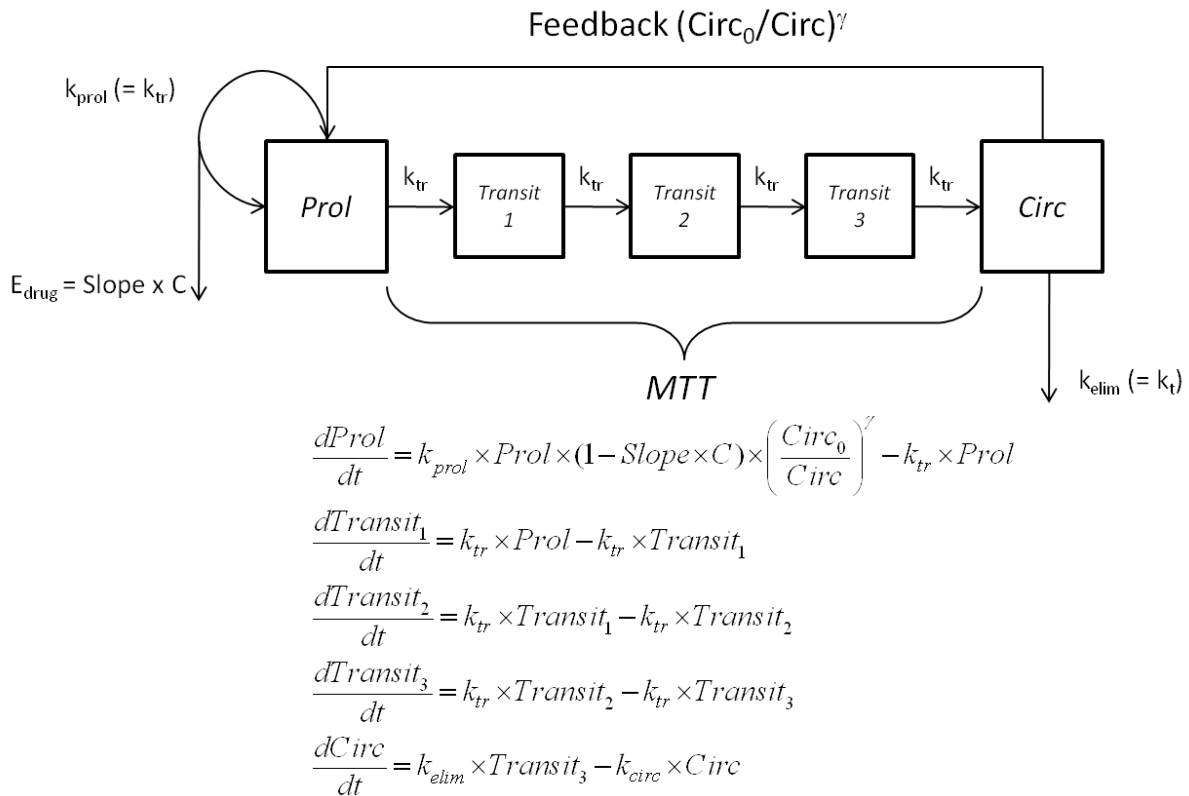


Figure 9 : Modèle de Friberg *et al.*¹ et ses équations différentielles

C représente la concentration plasmatique en cytotoxique à l'instant *t*, *Circ* le comptage de neutrophiles circulants à l'instant *t* et *Circ*₀ le comptage de neutrophiles circulants initial avant toute administration de cytotoxique.

Ce modèle comprend cinq compartiments qui décrivent la prolifération et la maturation des progéniteurs et précurseurs médullaires en présence d'un cytotoxique. Le premier compartiment (*Prol*) représente les cellules souches et les cellules précurseurs proliférantes de la moelle osseuse. Les cellules progressent depuis ce compartiment jusqu'au compartiment sanguin périphérique (*Circ*) à travers trois compartiments de transit (*Transit 1, 2 et 3*), mimant la maturation au sein de la moelle osseuse. La constante de vitesse du transfert des cellules entre les compartiments de transit, k_{tr} , prend la valeur $(n+1)/MTT$ où *n* est le nombre de compartiments de transit et *MTT* est le temps de transit moyen ou temps de maturation moyen. Les cellules sont ensuite éliminées depuis le compartiment sanguin avec une constante de vitesse k_{elim} , représentant les mouvements des neutrophiles jusque dans les tissus. Dans ce modèle, k_{elim} est supposé égal à k_{tr} .

Un mécanisme de rétrocontrôle négatif est incorporé sous la forme d'un facteur de proportionnalité dépendant du nombre de neutrophiles circulants initial et du nombre de neutrophiles circulants à l'instant t ($(Circ_0/Circ)^\gamma$; $Circ_0$ étant le nombre de neutrophiles avant chimiothérapie et $Circ$ le nombre de neutrophiles à un instant t). Cette fonction γ permet la régulation de la prolifération (constante de vitesse k_{prol}) des cellules progénitrices afin de maintenir des niveaux physiologiques en neutrophiles circulants : la prolifération est accélérée si le nombre de neutrophiles circulants diminue et inversement. La fonction γ permet de mimer l'effet des facteurs de croissance, principalement celui du G-CSF. Étant donné que le G-CSF a également un impact sur la vitesse de maturation des précurseurs médullaires, une amélioration de ce modèle a récemment été proposée par la même équipe dans le cas de l'utilisation de docétaxel¹³³. Le rétrocontrôle négatif (par le biais de la fonction γ) agit ainsi au niveau de la prolifération, mais également au niveau de la vitesse de maturation, autorisant une accélération de cette dernière en cas de diminution du nombre de neutrophiles circulants. Dans ce dernier modèle, une augmentation du nombre de compartiments de transit a également permis une amélioration de la description des données.

Le médicament anticancéreux va agir au niveau de prolifération, entraînant une diminution de la vitesse de prolifération voire une diminution du nombre de cellules proliférantes selon un effet E_{drug} . E_{drug} est égal à la concentration en médicament multipliée par un facteur de sensibilité à la neutropénie induite par le médicament (*Slope*). Une récente amélioration de ce modèle a été apportée lors d'utilisation de docétaxel avec l'utilisation d'un modèle E_{max} pour l'action du cytotoxique¹³³.

Ce modèle est depuis utilisé chez l'homme pour modéliser l'effet de diverses thérapies anticancéreuses sur les polynucléaires neutrophiles^{117, 134-137}, et a également été utilisé avec succès pour modéliser la thrombopénie^{3, 138}.

3. MODELISATION PK/PD PAR UNE APPROCHE DE POPULATION DE L'EFFET DU G-CSF LORS DE CHIMIOTHERAPIE ANTICANCEREUSE

3.1 Intérêts d'un modèle de neutropénie faisant intervenir le G-CSF

La modélisation PK/PD par une approche de population peut s'avérer très utile dans la prédiction de la cinétique des neutrophiles après chimiothérapie, et donc dans la prédiction du risque de neutropénie fébrile. Parmi les nombreux modèles proposés, le modèle de Friberg *et al.*¹ est un des plus populaires. Dans ce modèle, récemment amélioré lors d'utilisation de docétaxel¹³³, la vitesse de prolifération des progéniteurs médullaires et la vitesse de maturation des précurseurs médullaires sont contrôlées par un rétrocontrôle négatif fonction du nombre de neutrophiles circulants. Ce rétrocontrôle négatif est décrit à l'aide d'une fonction puissance empirique. Dans les conditions physiologiques ou pathologiques de la granulopoïèse, la prolifération et la vitesse de maturation des cellules de la moelle osseuse médullaires sont régulées par des facteurs de croissance endogènes, principalement le G-CSF, afin de maintenir un nombre de neutrophiles circulants suffisant.

Le problème du modèle proposé par Friberg *et al.* est qu'il n'est pas adapté pour décrire précisément l'effet d'une ou plusieurs administrations SC ou IV de G-CSF. Des adaptations du modèle de Friberg ont été proposées en incorporant l'administration de G-CSF comme une covariable « oui/non ».¹³⁹⁻¹⁴¹ Cependant, l'ajout d'une covariable « oui/non », similaire à un interrupteur « on/off », ne permet pas de prédire les effets d'ajustements de dose, de moment d'administration et/ou de durée de traitement avec du G-CSF.

Par conséquent, les patients recevant du G-CSF exogène sont généralement exclus de l'analyse PK/PD, comme cela a été le cas dans les précédentes études menées par notre équipe.^{2, 3} Cette exclusion peut représenter un biais non négligeable puisque les patients nécessitant une administration de G-CSF constituent vraisemblablement la population la plus à risque de toxicité hématologique.

Le développement de modèles incluant l'administration de G-CSF peut non seulement aider à prévenir la toxicité hématologique des cytotoxiques mais également à appréhender la meilleure façon de la prévenir.¹²⁴

3.2 Limites des modèles avec G-CSF existants

Plusieurs modèles décrivant l'action du G-CSF sur la cinétique des neutrophiles ont été proposés^{50, 58-61, 142-152}, mais beaucoup ont été validés chez le volontaire sain^{58-61, 142, 148} ou uniquement chez un petit nombre de patients atteints de cancer¹⁴⁶.

Certains modèles se sont intéressés essentiellement à la modélisation PK et PK/PD du G-CSF mais sans modéliser la granulopoïèse (c'est-à-dire la relation PK-neutrophiles circulants)^{58, 146}. D'autres décrivent la cinétique des leucocytes, et en déduisent les neutrophiles, avec des modèles plus ou moins compliqués impliquant ou non le GM-CSF^{50, 145, 147}.

La modélisation de la pharmacocinétique du G-CSF possède de nombreux points communs dans tous ces articles. Elle est généralement décrite à l'aide d'un modèle mono-compartmental (compartiment unique représentant l'organisme) avec un compartiment d'absorption lors d'administration de G-CSF exogène par voie sous-cutanée : l'absorption est modélisée grâce à une constante de vitesse de premier ordre (k_a). Dans de rares cas, un modèle bi-compartmental (compartiment central et compartiment périphérique) est utilisé^{50, 58}, toujours avec un compartiment d'absorption lors d'administration de G-CSF exogène par voie sous-cutanée. Enfin, l'absorption de G-CSF exogène peut être modélisée de façon plus complexe avec l'utilisation de compartiments de transit permettant de mimer une absorption différée (cas du pegfilgrastim⁶¹).

La plupart des modèles prennent en compte la production de G-CSF endogène, décrite par une constante de vitesse d'ordre zéro. Certains^{58, 61} négligent le G-CSF endogène par rapport au G-CSF exogène.

Dans la grande majorité des modèles, deux mécanismes d'élimination du G-CSF sont retrouvés : (i) une élimination linéaire dite « non-spécifique » et (ii) une élimination « spécifique ».

- (i) : l'élimination linéaire dite « non-spécifique » est modélisée grâce à une constante de vitesse de premier ordre et correspond à la clairance rénale (filtration glomérulaire). Lorsque la formulation quotidienne et la formulation pégylée sont

analysées simultanément, deux constantes de vitesse sont utilisées afin de prendre en compte les différences d'élimination rénale entre le G-CSF pégylé et non pégylé⁵⁰.

- (ii) : l'élimination « spécifique » représente l'internalisation après fixation à un récepteur spécifique (G-CSFR). Certains auteurs^{50, 58, 59, 61} ont décrit cette élimination de manière non linéaire à l'aide d'une équation de type Michaelis Menten (mécanisme d'élimination saturable de type V_{\max}/K_{\max} ou B_{\max}/K_D). La modélisation de l'élimination spécifique du G-CSF est alors plus physiologique. Selon les modèles, les récepteurs G-CSFR sont présents soit uniquement à la surface des neutrophiles circulants^{58, 61}, soit à la surface des neutrophiles circulants **et** des précurseurs médullaires (soit de tous les précurseurs⁵⁹, soit les stades les plus matures uniquement⁵⁰).

Enfin, certains modèles ont également modélisé la démargination induite par le G-CSF^{61, 151, 152}.

Pour résumer, certains modèles ont parfois un niveau de détail très élevé^{144, 148-151}, incluant par exemple les phases du cycle cellulaire¹⁴⁸ et/ou utilisant des équations différentielles avec délai^{144, 149-151}. Mais plus un modèle est complexe (avec de nombreux paramètres), plus il nécessite des données riches et/ou beaucoup d'*a priori*, avec au final peu de patients étudiés. Notre objectif ici est d'utiliser une approche de population permettant de décrire la variabilité interindividuelle (beaucoup de patients mais relativement peu de données individuelles) et donc un modèle semi-mécaniste est plus indiqué. Le modèle PK/PD de population de Kzryzanski et al.⁵⁹ (cf. Figure 10 et Figure 11) nous est apparu intéressant car, même s'il a été validé chez des volontaires sains, il associe :

- un modèle mono-compartmental pour le G-CSF endogène et le filgrastim avec un compartiment d'absorption pour l'administration du filgrastim par voie sous-cutanée,
- une production endogène de G-CSF,
- deux mécanismes d'élimination pour l'élimination rénale et l'élimination par l'internalisation après fixation aux récepteurs spécifiques du G-CSF,

- un modèle PK/PD avec deux modèles Emax pour l'action du G-CSF libre circulant sur la prolifération et la maturation des précurseurs des neutrophiles dans la moelle osseuse.

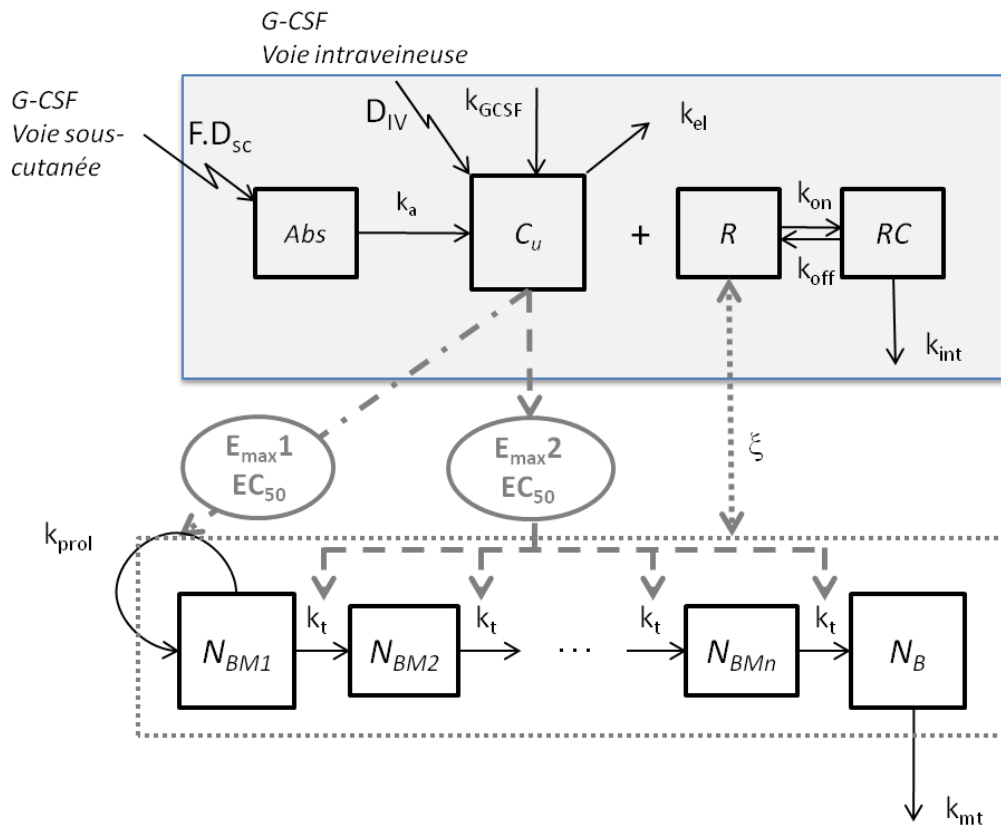


Figure 10 : Modèle PK/PD de population de Krzyzanski⁵⁹ décrivant la cinétique des neutrophiles après une administration de filgrastim (IV ou SC) chez le volontaire sain

N_{BMi} : précurseurs de la moelle osseuse dans le compartiment i ; N_B : neutrophiles matures circulants ; k_{prol} : constante de vitesse de prolifération ; k_t : constante de vitesse de maturation ; k_{mt} : constante de vitesse d'élimination des neutrophiles depuis le sang ; $Input$: administration intraveineuse ou sous-cutanée de filgrastim ; Abs : compartiment d'absorption pour le filgrastim administré par voie sous-cutanée ; C_u : concentration en G-CSF libre circulant ; R : récepteurs spécifiques du G-CSF ; RC : G-CSF fixé aux récepteurs (quantité totale de récepteurs : $R_{tot} = R + RC$) ; k_{on}/k_{off} : constantes de vitesse on/off avec constante de dissociation $K_D = k_{off}/k_{on}$; ξ : constante de proportionnalité pour la quantité de récepteurs par cellules (neutrophiles et précurseurs médullaires) ; k_a : constante de vitesse d'absorption du G-CSF par voie sous-cutanée ; F : biodisponibilité absolue du G-CSF par voie sous-cutanée ; k_{GCSF} : constante de vitesse de la production de G-CSF endogène ; k_{el} : constante de vitesse de l'élimination rénale du G-CSF ; k_{int} : constante de vitesse de l'élimination du G-CSF par les neutrophiles circulants (fixation au récepteur puis internalisation). $E_{max1}(E_{max2})$: effet maximal du G-CSF sur la prolifération (maturation) ; EC_{50} : concentration de G-CSF libre circulant permettant 50% de l'effet maximal (identique pour l'effet sur la prolifération et la maturation).

$$\frac{dC_{tot}}{dt} = Input + k_{GCSF} - k_{el} \times C_u - k_{int} \times R_{tot} \times C_u / (K_D + C_u)$$

$$Input = \begin{cases} Dose / V_D / t_{inf}, & \text{pour } t \leq t_{inf}; IV \\ 0, & \text{pour } t > t_{inf}; IV \\ k_a \times Dose / (V_D / F) \times e^{-k_a t}, & SC \end{cases}$$

$$C_{tot} = C_u + RC \quad R_{tot} = \xi \times (N_{BM} + N_B) \quad N_{BM} = \sum_{i=1}^n N_{BMi}$$

$$H_1 = 1 + \frac{E_{max} 1 \times C_u}{EC_{50} + C_u} \quad H_2 = 1 + \frac{E_{max} 2 \times C_u}{EC_{50} + C_u}$$

$$\frac{dN_{BM1}}{dt} = k_{prod} \times H_1 \times N_{BM1} - k_t \times H_2 \times N_{BM1}$$

$$\frac{dN_{BMi}}{dt} = k_t \times H_2 \times N_{BMi-1} - k_t \times H_2 \times N_{BMi} \quad \text{pour } i \neq 1$$

$$\frac{dN_B}{dt} = k_t \times H_2 \times N_{BMn} - k_{mt} \times N_B$$

Figure 11 : Equations différentielles du modèle de Krzyzanski⁵⁹

N_{BMi} : précurseurs de la moelle osseuse dans le compartiment i ; N_B : neutrophiles matures circulants

3.3 Création d'un nouveau modèle physiologique permettant d'expliquer le mode d'action du G-CSF lors de traitement au carboplatine

3.3.1 Objectifs

Le modèle de Friberg¹ étant très utilisé pour prédire la cinétique des neutrophiles lors de chimiothérapie, nous avons voulu adapter ce modèle en remplaçant la fonction empirique γ par l'action du G-CSF endogène et exogène. L'objectif était donc d'obtenir un modèle plus physiologique et applicable à tous les patients atteints de cancer et traités par

chimiothérapie, qu'ils reçoivent ou non du G-CSF exogène. Un tel modèle pourrait permettre de mieux comprendre les effets du G-CSF chez les patients atteints de cancer.

Les données utilisées pour la construction de ce modèle avaient déjà été décrites avec le modèle de Friberg dans un travail précédent³, mais après avoir exclu les patients recevant du G-CSF. Ici, nous avons utilisé l'ensemble des données, quelle que soit la formulation de G-CSF administrée aux patients de l'étude: formulations quotidiennes (filgrastim, lenograstim) ou formulation pégylée (pegfilgrastim). Un deuxième objectif était d'identifier d'éventuelles différences entre les formulations quotidiennes et pégylée en termes d'efficacité.

3.3.2 Article 1

Le premier travail a été décrit dans l'article suivant accepté pour publication dans *Pharmaceutical Research*.

Model-based approach to describe G-CSF effects in carboplatin-treated cancer patients

Mélanie L. PASTOR^{a*}, Céline M. LAFFONT^a, Laurence GLADIEFF^b, Antonin SCHMITT^c, Etienne CHATELUT^b, Didier CONCORDET^a

^a Université de Toulouse, INP, ENVT, F-31076 Toulouse, France. INRA/ENVT, UMR1331, Toxalim, F-31027 Toulouse, France

^b Université de Toulouse, Institut Claudius-Regaud, EA4553, 20, rue du Pont-Saint-Pierre, 31052 Toulouse, France.

^c Université de Bourgogne, UFR Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, 7 Bd Jeanne d'Arc, 21079 Dijon, France

* Corresponding author: Unité de Médecine, Urgences Soins Intensifs, Université de Toulouse, INP, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, F-31076 Toulouse, France. Tel: +33 561 192 315; fax: +33 561 193 203. E-mail address: m.pastor@envt.fr

ABSTRACT

PURPOSE

Granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) is often used in cancer patients receiving cytotoxic drugs to prevent or reduce high grade neutropenia. We propose a pharmacokinetic/pharmacodynamic model to describe myelotoxicity in both G-CSF treated and non-treated patients that shall increase our understanding of G-CSF effects.

METHODS

The model was built from absolute neutrophil counts (ANC) obtained in 375 carboplatin-treated patients, 47 of whom received G-CSF. It includes some prior information on G-CSF taken from the literature. Simulations were performed to understand differences in G-CSF effects and explore the impact of G-CSF formulation.

RESULTS

Our model well described the data in all patients. Model simulations showed that G-CSF was not as beneficial as expected in some patients. Furthermore, a longer and stronger effect was observed for the pegylated formulation in comparison with the daily standard formulation even if the latter was given for 11 consecutive days.

CONCLUSIONS

The proposed model allows a mechanistic interpretation of G-CSF effects on ANC and raises the question of a systematic beneficial effect of G-CSF treatment. Other studies are needed to confirm these findings and help identifying patients for whom G-CSF is beneficial.

KEY WORDS

Myelotoxicity, neutropenia, G-CSF, chemotherapy, pharmacokinetic/pharmacodynamic (PK/PD) modeling.

ABBREVIATIONS

ANC: Absolute neutrophil counts

G-CSF: Granulocyte colony-stimulating factor

PK: Pharmacokinetic(s)

PK/PD: Pharmacokinetic(s)/pharmacodynamic(s)

INTRODUCTION

Because of the risk of infection, chemotherapy-induced high grade neutropenia is a major concern and requires dose reduction, delays or discontinuation in anticancer drug administration, which may compromise clinical outcome especially in curative regimens (1). In this respect, granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) is often administered to patients receiving cytotoxic drugs in order to prevent or reduce high grade neutropenia which is closely related to febrile neutropenia (2-5).

Exogenous G-CSF reproduces the physiological effect of its endogenous counterpart, that is to say it increases the proliferation of granulocyte progenitors, reduces their maturation time, stimulates the release of precursors from the bone marrow and enhances the survival and function of mature neutrophils, resulting in an increase in absolute neutrophil counts (ANC) (6, 7). However, it must be noted that G-CSF only reduces the occurrence of chemotherapy-associated febrile neutropenia (3-5, 8) and cannot prevent febrile neutropenia or infections in all patients. Different formulations of G-CSF are available on the market, i.e., daily formulations (e.g. filgrastim, lenograstim) as well as a pegylated once-per-cycle formulation (pegfilgrastim). The current guidelines do not recommend to use one formulation versus another (8, 9) but more and more authors suggest that pegfilgrastim would be more effective than the daily forms, most likely due to a better compliance (4, 5, 10, 11). Pegfilgrastim is a sustained-duration form of filgrastim to which a 20 kDa polyethylene glycol molecule is covalently bound to the N-terminal methionine residue. It results that pegfilgrastim has a higher molecular weight (38.8 kDa) than filgrastim (18.8 kDa) and a much higher hydrodynamic radius (12). This leads to a dramatically lower renal

clearance of pegfilgrastim compared to filgrastim, with an enhanced serum terminal half-life explaining the sustained duration of effect and the once-per-cycle administration (13). These two proteins share the same binding domain for G-CSF receptor and therefore initiate the same signaling, resulting in the identical mechanism of action.

Pharmacokinetic-pharmacodynamic (PK/PD) modeling has proved very useful to describe the neutrophil time-course during chemotherapy and predict at-risk neutropenia. Several PK/PD models have been proposed in the past decades (see (14-16) for reviews) but the most popular stays the one of Friberg *et al.* (17) proposed in 2002. This semi-mechanistic model uses five compartments to describe the proliferation and maturation of progenitor and precursor cells in the bone marrow as well as the myelotoxicity of anticancer drugs. In this model, the negative feedback mechanism regulating the proliferation of progenitor cells to maintain physiological ANC levels is described using an empirical power function of ANC (i.e. baseline ANC before the start of chemotherapy divided by the current ANC value, the whole raised to a power γ). Actually, this negative feedback is described as corresponding to the effect of endogenous growth hormones, mainly G-CSF. Since G-CSF has also an impact on the maturation of precursors, a recent improvement of Friberg's model has been proposed in the case of docetaxel administration (18). More precisely, the power function of ANC ratio has been incorporated not only at the proliferation level but also at the maturation level, allowing an acceleration of maturation rate when ANC are too low.

Such empirical models are not adapted to describe the effect of exogenous G-CSF and patients receiving exogenous G-CSF are generally excluded from the PK/PD analysis. Because G-CSF is given to patients that are potentially more sensitive to anticancer drugs, the exclusion of such patients may introduce a selection bias, and a model capable to describe neutrophil time-course in case of G-CSF administration is thus highly desirable. Some rough adaptations of Friberg's model have been proposed that incorporate G-CSF treatment as a covariate in the model (19-21). However, the adjunction of G-CSF as a "yes/no" covariate only provides an on/off switch and does not allow the prediction of more subtle adjustments in dose, dosing time and duration of G-CSF treatment. Other, more mechanistic models have been developed for that purpose (15, 22-33) but some have been

validated in very few cancer patients (26) or in healthy subjects only (22-24, 28, 29, 31, 32) or were not very physiological (15, 30).

The objective of our work was thus to adapt the widely used Friberg's model to include G-CSF as the driving force for the negative feedback, making the model more physiological and widening its application to every cancer patient irrespective of potential G-CSF treatment during their chemotherapy. Furthermore, such a model shall allow a better understanding of G-CSF effects in cancer patients. Indeed, in our data set, some patients showed unexpectedly low nadir despite G-CSF administration and a relatively high ANC baseline (Figure 1). Recall that G-CSF has two main effects: it stimulates stem cell proliferation and accelerates maturation time. It is thus possible that an acceleration in maturation time by G-CSF concomitant with a depletion of progenitor cell compartment due to anticancer drug toxicity is not beneficial for the patient: in other terms, G-CSF treatment may not result in a lower and/or shorter neutropenia compared to the absence of G-CSF treatment. The data set used for analysis has been previously analyzed with the Friberg's model after removing the data of patients receiving G-CSF (34). Here, we analyze all data together, accounting for differences in G-CSF formulations (pegylated and daily forms). The model was used to explore the differences between formulations of G-CSF in terms of efficacy.

PATIENTS AND METHODS

Study design

Three hundred and seventy-five cancer patients with various malignant tumors, receiving carboplatin as part of established regimens as monochemotherapy or in combination with different other cytotoxic drugs were recruited in thirteen centers (Appendix 1, online only). Further details are given in (34). Among these patients, 47 were given G-CSF subcutaneously either as a daily formulation (filgrastim (Neupogen®) or lenograstim (Granocyte®) at 5µg/kg/day; N=31) or as pegfilgrastim (Neulasta® at 6 mg; N=17). G-CSF could be administered on cycle 1 and/or on cycle 2. All patients who received

G-CSF at cycle 2 had experienced a 3/4-grade neutropenia at cycle 1. The rationale for G-CSF administration at cycle 1 was more variable and depended on the clinician's expertise (age, previous chemotherapy, pathological status...). In all 47 patients receiving G-CSF, G-CSF was given at least one day after the administration of carboplatin, except for three patients (G-CSF administered the same day). Regarding other cytotoxic drug, G-CSF was given before the end of the etoposide treatment for three additional patients. The protocol was approved by the ethical committee of Toulouse and informed written consent was obtained from each patient. The clinical and biological characteristics of individuals receiving or not G-CSF are displayed in Table I and were not significantly different between the two groups.

Carboplatin was given as a single intravenous infusion over 30 or 60 minutes at the beginning of each cycle with a theoretical intercycle period of three weeks. The intravenous doses of carboplatin were adjusted according to the body surface area of the patient or his/her predicted carboplatin clearance, depending on the centers and the regimen. Four blood samples were taken to measure carboplatin-ultrafiltrable plasma concentrations during the first two cycles: before the start of carboplatin infusion, 5 minutes before the end of the infusion and at 1 and 4 hours after the end of the infusion. Cell blood counts were scheduled before chemotherapy and then weekly during the intercycle period.

Population PK/PD model

The population PK/PD model was built from the ANC data obtained over the first two cycles in all patients receiving or not G-CSF. Predictions of carboplatin individual PK parameters (POSTHOC values in NONMEM) were obtained from a previous population PK analysis using the model described in (35) for carboplatin-ultrafiltrable plasma concentrations.

Our population PK/PD model comprises two parts. The first part describes the proliferation and maturation of progenitor and precursor cells in the bone marrow and was adapted from Friberg's model (17). The other part describes the pharmacokinetics of G-CSF and its effect on bone marrow progenitors and precursors and was adapted from a previous model developed by Krzyzanski *et al.* (32) for endogenous and exogenous G-CSF. Figure 2

gives a schematic representation of the resulting PK/PD model, including further modifications that will be presented in the Results section. As in Friberg *et al.* (17), five compartments were used for the first part of the model. One proliferation compartment represents the stem cells and the proliferating precursor cells in the bone marrow. From this compartment, the cells move through three transit compartments, mimicking the maturation in bone marrow, to the blood circulation compartment. Cells are then eliminated from the systemic blood circulation compartment with a rate constant, k_{circ} , representing the random movement of cells into the tissue (15). In Friberg's model, the rate constant of transfer between the transit compartments, k , was defined as $(n+1)/MTT$ where n is the number of transit compartments and MTT is the mean transit time or mean maturation time; also, k_{circ} was assumed equal to k (17).

The only difference with Friberg's model lies in the way the regulation of the system by endogenous growth factors, i.e., G-CSF, is modeled. In Friberg's model (15) and its variants (18), the negative feedback on proliferation/maturation rates from the circulating neutrophil counts was described using an empirical function of ANC related to baseline levels. In the present case, we chose a more physiological approach based on circulating G-CSF concentrations. Since no measurements of G-CSF concentrations were available in our study, we used prior information contained in the model developed by Krzyzanski *et al.* (32) for the disposition of endogenous G-CSF and filgrastim and their effects on bone marrow progenitors and precursors in healthy volunteers. In the model of Krzyzanski *et al.* (32), the pharmacokinetics of free circulating endogenous G-CSF was described by a one-compartment model with zero-order input k_{GCSF} (to mimic the endogenous production of G-CSF) and two mechanisms of elimination: a linear and a non-linear elimination. More precisely, free G-CSF could either be eliminated by the kidneys (with first-order rate constant k_{el}) or could bind to receptors R present on circulating neutrophils and bone marrow precursors (with dissociation constant K_D), followed by an internalization and degradation (rate constant k_{int}). In that model, it was assumed that the G-CSF receptor complex, denoted RC , was pharmacologically inactive and that the circulating free G-CSF concentration was the driving force for the effects on stem cells proliferation and maturation. Standard E_{max} models were used for these effects, with two different E_{max} parameters for proliferation and maturation, noted respectively E_{max1} and E_{max2} , and a single (common) potency parameter

EC_{50} . In the case of filgrastim administration by the subcutaneous route, an absorption compartment was used with a first-order absorption rate constant k_a .

In our clinical studies, patients not only received filgrastim but could also receive lenograstim or pegfilgrastim. Identical pharmacokinetic parameters were assumed for filgrastim and lenograstim which are both recombinant forms of endogenous G-CSF and immediate-release daily formulations. Note that filgrastim and lenograstim show the same clinical efficacy at the same dosage (8). Concerning pegfilgrastim, the pegylation results in major differences in the pharmacokinetics with a different absorption rate constant, a different apparent volume of distribution (VD_a) and, more importantly, a much reduced renal elimination (12, 29, 33). To account for these differences in pharmacokinetics, different sets of pharmacokinetic parameters were used for pegfilgrastim and filgrastim/lenograstim with separate absorption and central compartments. In both cases, values of k_a , VD_a and k_{el} were taken from the literature. Concerning filgrastim/lenograstim, they were denoted k_{a1} , VD_{a1} and k_{el1} and fixed to the previously published values in Krzyzanski *et al.* (32). In the case of pegfilgrastim, they were denoted k_{a2} , VD_{a2} and k_{el2} . The values of k_{a2} and VD_{a2} were taken from Roskos *et al.* (29) while k_{el2} was fixed to 20% of k_{el1} based on the modeling work of Scholz *et al.* in man (33).

With respect to the neutrophil-mediated elimination, the same binding and internalization parameters were used for pegylated and non-pegylated G-CSF. Indeed, although the binding to G-CSF receptor is weaker for filgrastim than for pegfilgrastim, this difference is claimed to be marginal (36). We also had to assume similar EC_{50} and E_{max} for pegylated and non-pegylated G-CSF. Thus, in our model, the effects on the bone marrow were mediated by the sum of unbound circulating concentrations of non-pegylated G-CSF (corresponding to filgrastim, lenograstim and endogenously produced G-CSF) and pegylated G-CSF (corresponding to pegfilgrastim).

Different models were tested to describe the cytotoxic effect of carboplatin on proliferative cells, assuming a linear drug effect with a *Slope* parameter. The observed neutrophil data were log-transformed before the analysis, and an additive error model was used to model residual variability. A log-normal distribution of individual PK/PD parameters was assumed. The first-order conditional estimation (FOCE) method in NONMEM 7.2 was

used for the estimation of the model parameters. Model development was guided by the objective function value, precision in parameter estimates, graphical assessment and visual predictive checks. The likelihood ratio test was applied to differentiate between two nested models at a significance level $\alpha = 0.05$.

Clinical knowledge about the factors that could impact G-CSF prescription (EORTC guidelines (4, 8, 37)) was used to preselect covariates: age, sex, corticosteroid multiple (> 4 days) administration, monochemotherapy *versus* polychemotherapy, monochemotherapy *versus* association with other cytotoxic drugs (paclitaxel, etoposide, gemcitabine, or others), previous chemotherapy, performance status, and comorbidities. The relationship between preselected covariates and the predictions of individual PK/PD parameters were investigated graphically. The covariates for which a relationship was found were then tested in NONMEM using a forward/backward strategy (p-values < 0.05 and 0.001, respectively).

Evaluation of the final PK/PD model

Standard goodness-of-fit plots were performed at each step of the model building. The final model was evaluated through visual predictive checks which compare observations with their predictive distribution under the model. Five hundred replicates of the study design were simulated with the final model to produce visual predictive checks. Times of ANC measurements were categorized into 15 bins, and medians and 90% prediction intervals were calculated from the observations and each of the simulated data set within each bin. From the 500 simulated data sets, 95% confidence intervals were then derived from the computed medians and 90% prediction intervals within each bin. These 95% confidence intervals were plotted against time and superimposed on the observations and the percentiles derived from these observations. Finally, normalized prediction distribution errors (NPDE (38)) were computed and their normality assessed through a Quantile-Quantile plot and a histogram.

Simulation-based evaluation of the individual response to G-CSF

A series of simulations were performed at the individual level to understand the effect of G-CSF administration upon ANC-time profile compared to the absence of G-CSF treatment. More precisely, the model was applied to patients that received G-CSF in our study to predict what would have been their ANC time profile in the absence of G-CSF treatment (based on their Empirical Bayes Estimates, i.e., the predictions of individual PK/PD parameters).

In a second time, the influence of G-CSF formulation was investigated. More specifically, we compared the effect of filgrastim given subcutaneously on day 1 for 11 days (5 µg/kg/day) with a single administration of pegfilgrastim (6 mg) given subcutaneously on day 1. All these simulations were performed in a mean patient, that is to say model parameters were set to the population mean estimates. Carboplatin was given on the first day of the first cycle and the dose of carboplatin administered was set to the average dose given to the patients in our study (545 mg). Carboplatin individual PK parameters were set to the average of individual PK parameter predictions.

RESULTS

Final Population PK/PD Model

When the model for G-CSF taken from Krzyzanski *et al.* (32) was implemented as is, our PK/PD model did not provide a very good description of the data. This is the reason why we brought two modifications. The first modification, which led to a considerable improvement in data fitting, was to set the amount of G-CSF receptors involved in the specific elimination of G-CSF (R_{max}) proportional to ANC and not to the sum of ANC plus the amount of bone marrow precursors as in the original model (32). This modification of the model was supported by previous work showing that ANC drive free G-CSF elimination from the bloodstream and, more generally, drive G-CSF pharmacokinetics during the chemotherapy (39-41). The rationale for this new model is discussed in details in the discussion part of the article.

The second modification brought to the model was to estimate distinct EC_{501} and EC_{502} parameters instead of a single potency parameter. Regarding carboplatin toxicity, carboplatin was assumed to induce a cell loss from the stem cell compartment. The drug effect was proportional to the ultrafiltrable-plasma concentration C_{carbo} with the *Slope* parameter representing the sensitivity to carboplatin myelotoxicity.

To summarize, fixed effect parameters were estimated for *Base*, θ_{MTT_0} , *Slope*, E_{max2} , EC_{501} and EC_{502} . As detailed in Appendix 2, we called MTT_0 the MTT at baseline, i.e., before any treatment, and MTT_0 was expressed as $\theta_{MTT_0} / (1 + E_{max2} \times C_{u0} / (EC_{502} + C_{u0}))$ where C_{u0} is the free circulating G-CSF concentration at baseline. Note that E_{max1} (maximal effect of G-CSF on proliferation) was difficult to estimate from the data and was fixed to the previous estimate from Krzyzanski's (32) model. Other model parameters were fixed to the previously published values as detailed in Table II. The system of differential equations corresponding to our final model with the specification of initial conditions is available in Appendix 2. Moderate interindividual variability was estimated for *Base* (30%), θ_{MTT_0} (21%), and *Slope* (22%). The intra-patient variability between cycle 1 and cycle 2, also called inter-occasion variability, could also be estimated for *Slope*. Only one significant covariate was identified for baseline ANC (*Base*): multiple corticosteroid administration (yes/no), with an average increase in baseline ANC of 25% in case of multiple corticosteroid administration. Final model parameter estimates are given in Table II.

The final model was evaluated with standard goodness-of-fit plots (observed vs. individual predicted ANC and observed vs. population ANC plots) and visual predictive checks, all displayed in Figure 3. Standard goodness-of-fit plots look adequate despite a tendency of the model to overestimate low ANC values or, in other terms, underestimate the cytotoxicity of carboplatin. Visual predictive checks show, however, that the model was able to capture the median time-course of the ANC for the two subgroups of patients (with or without G-CSF) even though one median observation was slightly below its 95% confidence interval for patients off G-CSF around the nadir of the second cycle. Note that model-based confidence intervals were larger for patients on G-CSF due to the lower number of patients in that group (N=47). Overall, the interindividual variability was well

described by the model. Indeed, although some of the 5th percentiles for observations were above their 95% confidence interval for patients off G-CSF between 17 and 27 days, the visual predicted checks show the ability of the model to describe and predict the nadir value of neutrophils in both groups of patients, which is of major interest from a clinical point of view. The plots of normalized prediction distribution errors, NPDE, indicated no major departure from the standard normal distribution, showing that the model looked reasonable (plots not shown).

Individual predicted time-profiles of free circulating G-CSF concentrations are presented in Figure 4 for patients off G-CSF. Indeed, although there is no interindividual variability for G-CSF PK parameters, the clearance of G-CSF depends on ANC and that introduces the variability to the individual free G-CSF concentrations. Individual predictions of ANC-time profiles are also displayed in Figure 4 to highlight how free circulating G-CSF concentrations are inversely correlated with ANC.

Simulation-based evaluation of individual response to G-CSF

For the comparison of pegylated and daily formulations, the simulations reveal a longer and stronger effect for pegfilgrastim than for filgrastim even when the latter is given for 11 consecutive days (Figure 5B and C). Remind that G-CSF increases proliferation rate and transit rate and it is important to assess the difference over time between these rates to understand the difference in neutrophil time-course between the two formulations. As can be seen on Figure 5F, the difference in profiles between proliferation and transit rates is very small for filgrastim: they reach immediately the same plateau level and, when treatment is stopped, they both decrease very rapidly to baseline levels because of the very high clearance of free G-CSF. On the contrary, when pegfilgrastim is administered, the decrease in free circulating G-CSF concentration is much slower due to a much lower renal clearance resulting from the pegylation. Given the lower EC_{50} for proliferation (EC_{501}) than for maturation (EC_{502}), it follows that the rate of proliferation exceeds the rate of transit time during the terminal phase of pegfilgrastim pharmacokinetics (Figure 5E). This difference

would explain the stronger and faster rebound after pegfilgrastim administration than after filgrastim treatment.

Finally, the simulations predicting what would have been the ANC time-profile without G-CSF for patients receiving G-CSF in our study support the idea that G-CSF was not beneficial in all situations. Three chosen patients are shown in Figure 6, illustrating three possible scenarios. For one patient, G-CSF shows some clear benefit, preventing high grade neutropenia at the second cycle. In the second and third patients, G-CSF treatment does not allow any improvement in ANC time-profile with respect to low ANC values and the nadir can even be slightly worse.

DISCUSSION

The population PK/PD model presented here was able to correctly describe ANC time course in 375 patients with various tumors treated with carboplatin, whether or not they received G-CSF during their chemotherapy. This model appears more physiological than previously published conventional models (see (14-16) for reviews) because it allows a description of both endogenous and exogenous G-CSF and its effect on the proliferation and maturation of progenitors and precursors in the bone marrow. The power function (γ) in Friberg's model (17), representing the negative feedback on the production of mature neutrophils, was replaced by a more physiological representation of endogenous and exogenous G-CSF effects on the proliferation and maturation rates.

The model of Krzyzanski *et al.* (32) was used as prior information for the disposition and PK/PD of endogenous and exogenous G-CSF. However, a major modification was brought to this model driven by a much better data fitting. This modification was to set the nonlinear component of G-CSF clearance proportional to ANC and not to the sum of ANC and precursor cell counts as in (32). The time course of ANC under chemotherapy was not the same as the time course of precursor cell counts in the bone marrow compartments, and this difference was certainly discriminating in the selection of such a model. The work of

Quartino *et al.* showed indeed mirror patterns for the variations of ANC and endogenous G-CSF serum concentrations over time for cancer patients off G-CSF therapy (18).

Note that the assumption of proportionality between ANC and the nonlinear component of G-CSF clearance has also been made by others (24, 29, 31). However, the rationale for such proportionality is unclear. It has been shown that the amount of G-CSF receptors per cell increases with the maturation and is the highest in circulating neutrophils (42-44). On the other hand, the total pool of G-CSF receptors in the bone marrow needs to be considered. By setting R_{\max} (pool of receptors involved in G-CSF elimination) proportional to ANC only, the risk is thus to underestimate G-CSF nonlinear clearance. We therefore tried to compensate for this possible underestimation by re-estimating ξ (the amount of G-CSF receptors per cell) and obtained a higher value (5.91 fg/cell) than in Krzyzanski *et al.* (32), i.e., 0.181 fg/cell. The problem is that the resulting model led to predictions that were not very plausible: especially, it predicted an abnormally high proportion of neutropenia events in patients off G-CSF and almost no prophylactic effect of (peg)filgrastim. These unexpected results shed light on the potential limitations of the structural model of G-CSF itself. In this model, the effect of G-CSF on the bone marrow is driven by the unbound G-CSF concentration C_u . In other terms, what is eliminated by internalization after binding to G-CSF receptors has no effect. While this is true for blood (receptors on ANC are considered as pharmacologically inactive), this is not true for the bone marrow. A more relevant model would be to model the effect as a function of the fraction bound to bone marrow receptors and not as a function of C_u as in classical PK/PD models. We did not have the data to build such a model and thus kept the original value of ξ (0.181 fg/cell) given by Krzyzanski *et al.* (32). As discussed by the authors themselves, this value (equivalent to 5824 molecules/cell) is higher than the number of receptors per neutrophil found in the literature (30).

Clearly, the main limitation of our work is the lack of G-CSF concentration data and the assumption that G-CSF pharmacokinetic parameters were identical in healthy volunteers and cancer patients. It is likely that cancer patients receiving carboplatin may suffer from renal insufficiency since carboplatin is administered in place of cisplatin which cannot be administered to renally impaired patients. Thus, a smaller renal clearance may be encountered in cancer patients treated with carboplatin, resulting in higher G-CSF circulating

concentrations and possibly in different nadir values. On the other hand, a sensitivity analysis (not shown) showed the little influence of the first-order rate constant for renal elimination (k_{el}) on nadir values. It is noteworthy that for pegfilgrastim, the renal elimination is very minor, with no change in serum concentration-time profiles among subjects with various degrees of renal impairment (45).

The model of Krzyzanski *et al.* (32) was originally built for endogenous G-CSF and filgrastim. In the present work, it was extended to describe the effect of pegfilgrastim which was administered to some of the patients in our clinical study. Different sets of pharmacokinetic parameters were used for pegfilgrastim to account for the difference in pharmacokinetics between pegylated and non-pegylated G-CSF. Pegfilgrastim pharmacokinetic parameters were taken from the literature (29, 33). Especially, the first-order rate constant for unspecific renal elimination (k_{el2}) was fixed to 20% of the one for filgrastim (k_{el1}) based on the modeling work of Scholz *et al.* in man (33). A difference of the same order of magnitude was observed in the rat: the linear component of pegfilgrastim clearance was 90% lower than for filgrastim (12).

Despite these limitations, our final model gave reasonable predictions in terms of neutropenia events and (peg)filgrastim effects and well described our clinical data. Efficacy and potency parameters were re-estimated, except for E_{max1} (maximal effect on proliferation rate) due to estimability issues. In contrast to the original model for G-CSF (32), two distinct EC_{501} and EC_{502} parameters were estimated.

Simulation studies were then performed to understand the differences in G-CSF effects and explore the impact of G-CSF formulation. The most surprising finding in these simulation studies was that G-CSF was not as beneficial as expected in some patients with respect to nadir values. It is well established that G-CSF reduces the maturation time of bone marrow precursors (6, 7) and that cytotoxic drugs like carboplatin induce a cell loss from the proliferation compartment (see review (46)). Consequently, it is possible that a temporary depletion of stem cell pool occurs after administration of anticancer drug concomitant with or followed by G-CSF administration. Such depletion might be problematic in some patients. Additionally, our simulation studies suggest that one administration of pegfilgrastim would be more effective than 11 consecutive administrations of filgrastim. This is consistent with

recent publications (4, 5, 10, 11), even if other publications did not evidence any difference between the formulations. A large interindividual variability, leading to low powerful studies, could explain such discrepancies.

Even if our model appears more physiological for the reasons explained above, the increase in model complexity was limited by the available data. Especially, it would have been of interest to include an additional compartment for quiescent cells among progenitor cells (cells in G0 phase). For some patients, this compartment could act as a storage pool of mitotic cells that would limit the depletion of the bone marrow due to the acceleration of the transit time under G-CSF treatment. For other patients, this pool would not be sufficient enough to avoid this depletion. Unfortunately, the available data did not allow such model to be implemented and estimated.

CONCLUSION

The proposed model allows a mechanistic interpretation of G-CSF effects on ANC in carboplatin-treated cancer patients. Especially, it raises the question of a systematic beneficial effect of G-CSF treatment (pegfilgrastim, filgrastim). In other words, some cancer patients do not appear to benefit from G-CSF treatment and this could explain why G-CSF does not prevent febrile neutropenia in all patients. Obviously, other studies are needed to confirm these findings and help identifying the patients for whom G-CSF would be beneficial. Finally, our model suggests that pegfilgrastim gives a shorter and weaker neutropenia than the daily formulations, and should probably be preferred. It is clear that our model relies on previous knowledge and assumptions that need to be further documented. However, we believe that such physiological model is the way to go to better understand and predict G-CSF treatment effects in various situations.

We have no competing interest to declare.

REFERENCES

1. Cameron D. Management of chemotherapy-associated febrile neutropenia. *Br J Cancer*. 2009 (suppl 1);101:S18-S22.
2. Segal BH, Freifeld AG, Baden LR, Brown AE, Casper C, Dubberke E, et al. Prevention and treatment of cancer-related infections. *J Natl Compr Canc Netw*. 2008;6:122-174.
3. Kelly S and Wheatley D. Prevention of febrile neutropenia: use of granulocyte colony-stimulating factors. *Br J Cancer*. 2009 (suppl 1);101:S6-S10.
4. Aapro M, Crawford J, and Kamioner D. Prophylaxis of chemotherapy-induced febrile neutropenia with granulocyte colony-stimulating factors: where are we now? *Support Care Cancer*. 2010;18:529-541.
5. Cooper KL, Madan J, Whyte S, Stevenson MD, and Akehurst RL. Granulocyte colony-stimulating factors for febrile neutropenia prophylaxis following chemotherapy: systematic review and meta-analysis. *BMC Cancer*. 2011;11:404.
6. Lord BI, Bronchud MH, Owens S, Chang J, Howell A, Souza L, and Dexter TM. The kinetics of human granulopoiesis following treatment with granulocyte colony-stimulating factor in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1989;86:9499-9503.
7. Price TH, Chatta GS, and Dale DC. Effect of recombinant granulocyte colony-stimulating factor on neutrophil kinetics in normal young and elderly humans. *Blood*. 1996;88:335-340.
8. Aapro MS, Bohlius J, Cameron DA, Dal Lago L, Donnelly JP, Kearney N, et al. 2010 update of EORTC guidelines for the use of granulocyte-colony stimulating factor to reduce the incidence of chemotherapy-induced febrile neutropenia in adult patients with lymphoproliferative disorders and solid tumours. *Eur J Cancer*. 2011;47:8-32.
9. Crawford J, Caserta C, and Roila F. Hematopoietic growth factors: ESMO recommendations for the applications. *Ann Oncol*. 2009;20 Suppl 4:162-165.

10. Tan H, Tomic K, Hurley D, Daniel G, Barron R, and Malin J. Comparative effectiveness of colony-stimulating factors for febrile neutropenia: a retrospective study. *Curr Med Res Opin.* 2011;27:79-86.
11. Weycker D, Malin J, Barron R, Edelsberg J, Kartashov A, and Oster G. Comparative effectiveness of filgrastim, pegfilgrastim, and sargramostim as prophylaxis against hospitalization for neutropenic complications in patients with cancer receiving chemotherapy. *Am J Clin Oncol.* 2012;35:267-274.
12. Yang BB, Lum PK, Hayashi MM, and Roskos LK. Polyethylene glycol modification of filgrastim results in decreased renal clearance of the protein in rats. *J Pharm Sci.* 2004;93:1367-1373.
13. Yang BB and Kido A. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of pegfilgrastim. *Clin Pharmacokinet.* 2011;50:295-306.
14. Friberg LE and Karlsson MO. Mechanistic models for myelosuppression. *Invest New Drugs.* 2003;21:183-194.
15. Shochat E, Rom-Kedar V, and Segel LA. G-CSF control of neutrophils dynamics in the blood. *Bull Math Biol.* 2007;69:2299-2338.
16. Testart-Paillet D, Girard P, You B, Freyer G, Pobel C, and Tranchand B. Contribution of modelling chemotherapy-induced hematological toxicity for clinical practice. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2007;63:1-11.
17. Friberg LE, Henningsson A, Maas H, Nguyen L, and Karlsson MO. Model of chemotherapy-induced myelosuppression with parameter consistency across drugs. *J Clin Oncol.* 2002;20:4713-4721.
18. Quartino AL, Friberg LE, and Karlsson MO. A simultaneous analysis of the time-course of leukocytes and neutrophils following docetaxel administration using a semi-mechanistic myelosuppression model. *Invest New Drugs.* 2012;30:833-845.
19. Sandstrom M, Lindman H, Nygren P, Johansson M, Bergh J, and Karlsson MO. Population analysis of the pharmacokinetics and the haematological toxicity of the

- fluorouracil-epirubicin-cyclophosphamide regimen in breast cancer patients. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2006;58:143-156.
20. Ramon-Lopez A, Nalda-Molina R, Valenzuela B, and Perez-Ruixo JJ. Semi-mechanistic model for neutropenia after high dose of chemotherapy in breast cancer patients. *Pharm Res.* 2009;26:1952-1962.
 21. Zandvliet AS, Schellens JH, Copalu W, Beijnen JH, and Huitema AD. Covariate-based dose individualization of the cytotoxic drug indisulam to reduce the risk of severe myelosuppression. *J Pharmacokinet Pharmacodyn.* 2009;36:39-62.
 22. Sugiura M, Yamamoto K, Sawada Y, and Iga T. Pharmacokinetic/pharmacodynamic analysis of neutrophil proliferation induced by recombinant granulocyte colony-stimulating factor (rhG-CSF): comparison between intravenous and subcutaneous administration. *Biol Pharm Bull.* 1997;20:684-689.
 23. Hayashi N, Kinoshita H, Yukawa E, and Higuchi S. Pharmacokinetic and pharmacodynamic analysis of subcutaneous recombinant human granulocyte colony stimulating factor (lenograstim) administration. *J Clin Pharmacol.* 1999;39:583-592.
 24. Wang B, Ludden TM, Cheung EN, Schwab GG, and Roskos LK. Population pharmacokinetic-pharmacodynamic modeling of filgrastim (r-metHuG-CSF) in healthy volunteers. *J Pharmacokinet Pharmacodyn.* 2001;28:321-342.
 25. Engel C, Scholz M, and Loeffler M. A computational model of human granulopoiesis to simulate the hematotoxic effects of multicycle polychemotherapy. *Blood.* 2004;104:2323-2331.
 26. Sugiura M, Ohno Y, Yamada Y, Suzuki H, and Iga T. Pharmacokinetic/pharmacodynamic analysis of neutrophil proliferation induced by rhG-CSF in patients receiving antineoplastic drugs. *Yakugaku Zasshi.* 2004;124:599-604.
 27. Scholz M, Engel C, and Loeffler M. Modelling human granulopoiesis under polychemotherapy with G-CSF support. *J Math Biol.* 2005;50:397-439.

28. Vainstein V, Ginosar Y, Shoham M, Ranmar DO, Ianovski A, and Agur Z. The complex effect of granulocyte colony-stimulating factor on human granulopoiesis analyzed by a new physiologically-based mathematical model. *J Theor Biol.* 2005;234:311-327.
29. Roskos LK, Lum P, Lockbaum P, Schwab G, and Yang BB. Pharmacokinetic/pharmacodynamic modeling of pegfilgrastim in healthy subjects. *J Clin Pharmacol.* 2006;46:747-757.
30. Shochat E and Rom-Kedar V. Novel strategies for granulocyte colony-stimulating factor treatment of severe prolonged neutropenia suggested by mathematical modeling. *Clin Cancer Res.* 2008;14:6354-6363.
31. Foley C and Mackey MC. Mathematical model for G-CSF administration after chemotherapy. *J Theor Biol.* 2009;257:27-44.
32. Krzyzanski W, Wiczling P, Lowe P, Pigeolet E, Fink M, Berghout A, and Balsler S. Population modeling of filgrastim PK-PD in healthy adults following intravenous and subcutaneous administrations. *J Clin Pharmacol.* 2010;50:101S-112S.
33. Scholz M, Schirm S, Wetzler M, Engel C, and Loeffler M. Pharmacokinetic and -dynamic modelling of G-CSF derivatives in humans. *Theor Biol Med Model.* 2012;9:32.
34. Schmitt A, Gladieff L, Laffont CM, Evrard A, Boyer JC, Lansiaux A, et al. Factors for hematopoietic toxicity of carboplatin: refining the targeting of carboplatin systemic exposure. *J Clin Oncol.* 2010;28:4568-4574.
35. Schmitt A, Gladieff L, Lansiaux A, Bobin-Dubigeon C, Etienne-Grimaldi MC, Boisdron-Celle M, et al. A universal formula based on cystatin C to perform individual dosing of carboplatin in normal weight, underweight, and obese patients. *Clin Cancer Res.* 2009;15:3633-3639.
36. Molineux G. The design and development of pegfilgrastim (PEG-rmetHuG-CSF, Neulasta). *Curr Pharm Des.* 2004;10:1235-1244.

37. Aapro MS, Cameron DA, Pettengell R, Bohlius J, Crawford J, Ellis M, et al. EORTC guidelines for the use of granulocyte-colony stimulating factor to reduce the incidence of chemotherapy-induced febrile neutropenia in adult patients with lymphomas and solid tumours. *Eur J Cancer*. 2006;42:2433-2453.
38. Brendel K, Comets E, Laffont C, Laveille C, and Mentre F. Metrics for external model evaluation with an application to the population pharmacokinetics of gliclazide. *Pharm Res*. 2006;23:2036-2049.
39. Layton JE, Hockman H, Sheridan WP, and Morstyn G. Evidence for a novel in vivo control mechanism of granulopoiesis: mature cell-related control of a regulatory growth factor. *Blood*. 1989;74:1303-1307.
40. Takatani H, Soda H, Fukuda M, Watanabe M, Kinoshita A, Nakamura T, and Oka M. Levels of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor in serum are inversely correlated with circulating neutrophil counts. *Antimicrob Agents Chemother*. 1996;40:988-991.
41. Quartino LQ, Karlsson MO, Lindman H, and Friberg LE. An integrated G-CSF-myelosuppression model characterizing the target mediated disposition of endogenous G-CSF in breast cancer patients following chemotherapy. PAGE 20 (Athens, 2011) abstr 2255.
42. Avalos BR, Gasson JC, Hedvat C, Quan SG, Baldwin GC, Weisbart RH, et al. Human granulocyte colony-stimulating factor: biologic activities and receptor characterization on hematopoietic cells and small cell lung cancer cell lines. *Blood*. 1990;75:851-857.
43. Hanazono Y, Hosoi T, Kuwaki T, Matsuki S, Miyazono K, Miyagawa K, and Takaku F. Structural analysis of the receptors for granulocyte colony-stimulating factor on neutrophils. *Exp Hematol*. 1990;18:1097-1103.
44. Avalos BR. Molecular analysis of the granulocyte colony-stimulating factor receptor. *Blood*. 1996;88:761-777.

45. Yang BB, Kido A, Salfi M, Swan S, and Sullivan JT. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of pegfilgrastim in subjects with various degrees of renal function. *J Clin Pharmacol.* 2008;48:1025-1031.
46. Todd RC and Lippard SJ. Inhibition of transcription by platinum antitumor compounds. *Metallomics.* 2009;1:280-291.

NOTATION SECTION

Abs_1 : absorption compartment for filgrastim/lenograstim

Abs_2 : absorption compartment for pegfilgrastim;

ANC : absolute neutrophil count

$Base$: baseline level of absolute neutrophil count

C_{carbo} : ultrafiltrable circulating (plasma) concentration of carboplatin

C_u : free circulating concentration controlling G-CSF effects on bone marrow, calculated as the sum of non-pegylated and pegylated G-CSF free circulating (serum) concentrations

$Circ$: circulating mature neutrophil count (=ANC)

E_{max1} : maximal effect of non-pegylated or pegylated G-CSF on proliferation

E_{max2} : maximal effect of non-pegylated or pegylated G-CSF on maturation

EC_{501} : value of C_u eliciting 50% of the maximal effect on proliferation

EC_{502} : value of C_u eliciting 50% of the maximal effect on maturation

$F1(F2)$: absolute bioavailability of filgrastim/lenograstim(pegfilgrastim) after subcutaneous administration (which, in the model, is taking into account via the apparent volume of distribution)

k : transit rate constant between compartments of granulopoiesis (function of C_u)

$$\left(k = k_{tr} \times \left(1 + \frac{E_{max} 2 \times C_u}{EC_{50} 2 + C_u} \right) \right)$$

$k_a1(2)$: absorption rate constant for filgrastim/lenograstim(pegfilgrastim)

k_{circ} : rate constant of elimination of neutrophils from the systemic blood circulation

K_D : dissociation constant of RC complex (= k_{off}/k_{on})

k_{el1} : rate constant for the linear, non-specific elimination of endogenous G-CSF and filgrastim/lenograstim

k_{el2} : rate constant for the linear, non-specific elimination of pegfilgrastim

k_{GCSF} : rate constant of endogenous G-CSF production

k_{int} : rate constant for non-pegylated or pegylated G-CSF elimination after binding to receptors and internalization

k_{prol} : proliferation rate constant

k_{tr} : "virtual" transit rate constant when $C_u=0$ (cf. k)

MTT: mean transit time for maturing precursors in bone marrow

$$(MTT = 4 / k_{tr} \times \left(1 + \frac{E_{max} 2 \times C_u}{EC_{50} 2 + C_u} \right))$$

Prol: stem cell and progenitor cell count (i.e. proliferative cells) in bone marrow

R: concentration in G-CSF receptors present on circulating neutrophils

RC: concentration in bound G-CSF complex (pegylated and non-pegylated G-CSF)

R_{max}: maximal amount of receptors involved in nonlinear, specific clearance of pegylated and on-pegylated G-CSF (= *R* + *RC*)

RSE: relative standard error

Slope: Sensitivity to carboplatin myelotoxicity

Transit_{1,2,3}: maturing granulocyte precursor count in transit compartments 1, 2 and 3, respectively

VD_{a1(2)}: apparent volume of distribution of G-CSF (pegylated G-CSF) after subcutaneous administration of filgrastim/lenograstim (pegfilgrastim) ($VD_{1(2)}/F_{1(2)}$)

ξ : proportionality constant for the amount of G-CSF receptors per cell

Table I: Characteristics of the 375 patients

| Characteristic | Mean [Minimum – Maximum] for continuous variables | |
|---|---|------------------------|
| | Number (percentage) for categorical variables | |
| | Patients without G-CSF | Patients with G-CSF |
| Total no. of patients | 328 | 47 |
| Sex | | |
| No. Females | 247 (75.3%) | 27 (57.4%) |
| No. Males | 81 (24.7%) | 20 (42.6%) |
| Dose of carboplatin (mg) | 547 [170 - 1200] | 531 [210 - 955] |
| Body Surface Area* (m²) | 1.7 [1.3 - 2.3] | 1.7 [1.4 - 2.4] |
| Weight (kg) | 65 [40 - 137] | 65 [40 - 123] |
| Height (cm) | 164 [146 - 187] | 165 [150 - 183] |
| Age (years) | 60 [21 - 87] | 60 [24 - 83] |
| Neutrophil baseline (x 10⁹/L) | 5.542 [1.357 - 25.370] | 6.069 [1.750 - 13.120] |
| Primary tumor site | | |
| Ovary | 146 (44.5%) | 17 (36.2%) |
| Uterus | 44 (13.4%) | 1 (2.0%) |
| Lung | 36 (11.0%) | 6 (12.8%) |
| Soft tissues | 24 (7.3%) | 6 (12.8%) |
| Others | 62 (18.9%) | 17 (36.2%) |
| Unknown | 16 (4.9%) | 0 |
| Previous chemotherapy | | |
| Yes | 117 (35.7%) | 21 (44.7%) |
| No | 208 (63.4%) | 26 (55.3%) |
| Unknown | 3 (0.9%) | 0 |
| Corticosteroids | | |
| Yes | 64 (19.5%) | 15 (31.9%) |
| No | 263 (80.2%) | 32 (68.1%) |
| Unknown | 1 (0.3%) | 0 |
| Concomitant chemotherapy | | |
| None | 68 (20.7%) | 4 (8.5%) |
| Paclitaxel 175 mg/m²† | 188 (57.3%) | 13 (27.7%) |
| Etoposide 120 mg/m² on days 1, 2, 3† | 14 (4.3%) | 14 (29.8%) |
| Gemcitabine 1,000 mg/m² on days 1, 8† | 19 (5.8%) | 1 (2.1%) |
| Others (fluorouracil, docetaxel, vinorelbine, trastuzumab, doxorubicin, topotecan, fotemustine, vinblastine) | 39 (11.9%) | 15 (31.9%) |
| Performance status | | |
| 0 | 129 (39.4%) | 21 (44.7%) |
| 1 | 147 (44.8%) | 16 (34.0%) |
| 2 | 34 (10.4%) | 5 (10.6%) |
| 3 | 9 (2.7%) | 3 (6.4%) |
| Unknown | 9 (2.7%) | 2 (4.3%) |

*Calculated according to the Dubois equation; †Median dose

Table II: Final Covariate Model

| | Model Parameters | Value [RSE%] | IIV [RSE%] |
|---|--|--|--------------|
| PK-PD estimated parameters | Base = $\theta_1 \times (1 - \text{CORT}) + \theta_2 \times \text{CORT}$ CORT = 0 or 1 | $\theta_1 = 4.88 \times 10^9 / \text{L}$ [2.6%] $\theta_2 = 6.13 \times 10^9 / \text{L}$ [4.3%] | 30% [12%] |
| | $\theta_{\text{MTT}_0} = \theta_3$ | $\theta_3 = 185 \text{ h}$ [4.2%] | 21% [20%] |
| | Slope = θ_5 | $\theta_5 = 0.0161$ [3.9%] L/(mg.h) | 22% [56%] |
| | | IOV = 34% [19%] | |
| | $E_{\text{max}2} = \theta_6$ | $\theta_6 = 3.73$ [17%] | - |
| | $EC_{501} = \theta_7$ | $\theta_7 = 0.0763 \text{ ng/mL}$ [14%] | - |
| | $EC_{502} = \theta_8$ | $\theta_8 = 0.402 \text{ ng/mL}$ [15%] | - |
| | | Residual variability | 52.1% [2.1%] |
| PK parameters of G-CSF (fixed as in (29), (32) and (33)) | k_{a1} | 0.0228 h^{-1} | - |
| | k_{a2} | 0.651 h^{-1} | - |
| | VD_{a1} | 5.07 L | - |
| | VD_{a2} | 4.02 L | - |
| | k_{int} | 0.105 h^{-1} | - |
| | $k_{\text{el}1}$ | 0.152 h^{-1} | - |
| | $k_{\text{el}2}$ | $0.2 \times k_{\text{el}1} \text{ h}^{-1}$ | - |
| | k_D | 1.44 ng/mL | - |
| | ξ | 0.181 fg/cell | - |
| | $E_{\text{max}1}$ | 34.7 | - |

Abbreviations: *RSE*: Relative Standard Error expressed in %; *IIV*: interindividual variability; *IOV*: intraindividual (interoccasion) variability; *Base*: baseline level of absolute neutrophil count; *CORT* = 1 means that the patients received multiple administration of corticosteroids (> 4 days) (*CORT* = 0 otherwise); θ_{MTT_0} : population parameter for mean transit time at baseline (MTT_0) such that $\text{MTT}_0 = \theta_{\text{MTT}_0} / H_{20}$ where H_{20} is the Hill function for the effect of free G-CSF on maturation rate (see Appendix 2 for more details); *Slope*: sensitivity to carboplatin cytotoxicity; $E_{\text{max}1(2)}$: maximal effect of G-CSF on proliferation (maturation); $EC_{501(2)}$: free G-CSF concentration eliciting 50% of the maximal effect on proliferation (maturation); $k_{a1(2)}$: absorption rate constant for the daily (pegylated) formulation; $VD_{a1(2)}$: apparent volume of distribution for the daily (pegylated) formulation; k_{int} : rate constant for

non-pegylated and pegylated G-CSF elimination after binding to receptors and internalization; k_{el1} : rate constant for the linear, non-specific elimination of endogenous G-CSF and filgrastim/lenograstim; k_{el2} : rate constant for the linear, non-specific elimination of pegfilgrastim; K_D : dissociation constant of RC complex; ξ : proportionality constant for the amount of G-CSF receptors per cell.

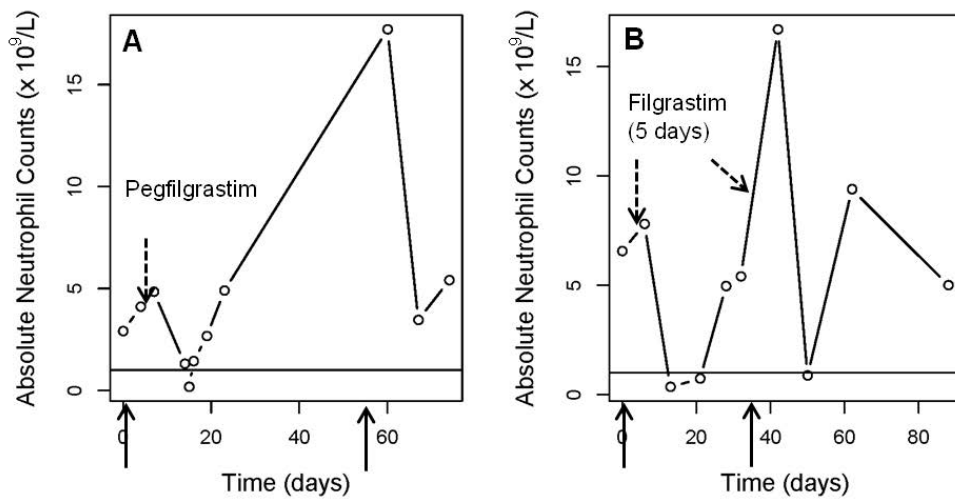


Figure 1: Observed data for two patients who experienced high grade neutropenia despite G-CSF treatment during their chemotherapy. Carboplatin administrations are indicated by vertical arrows (at day 0 and 54 for patient A, at day 0 and day 35 for patient B). Pegfilgrastim was given subcutaneously to patient A at day 4 (6 mg), and filgrastim was given subcutaneously to patient B at day 5 during 5 days (5 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{d}$) and at day 40 during 5 days (5 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{d}$).

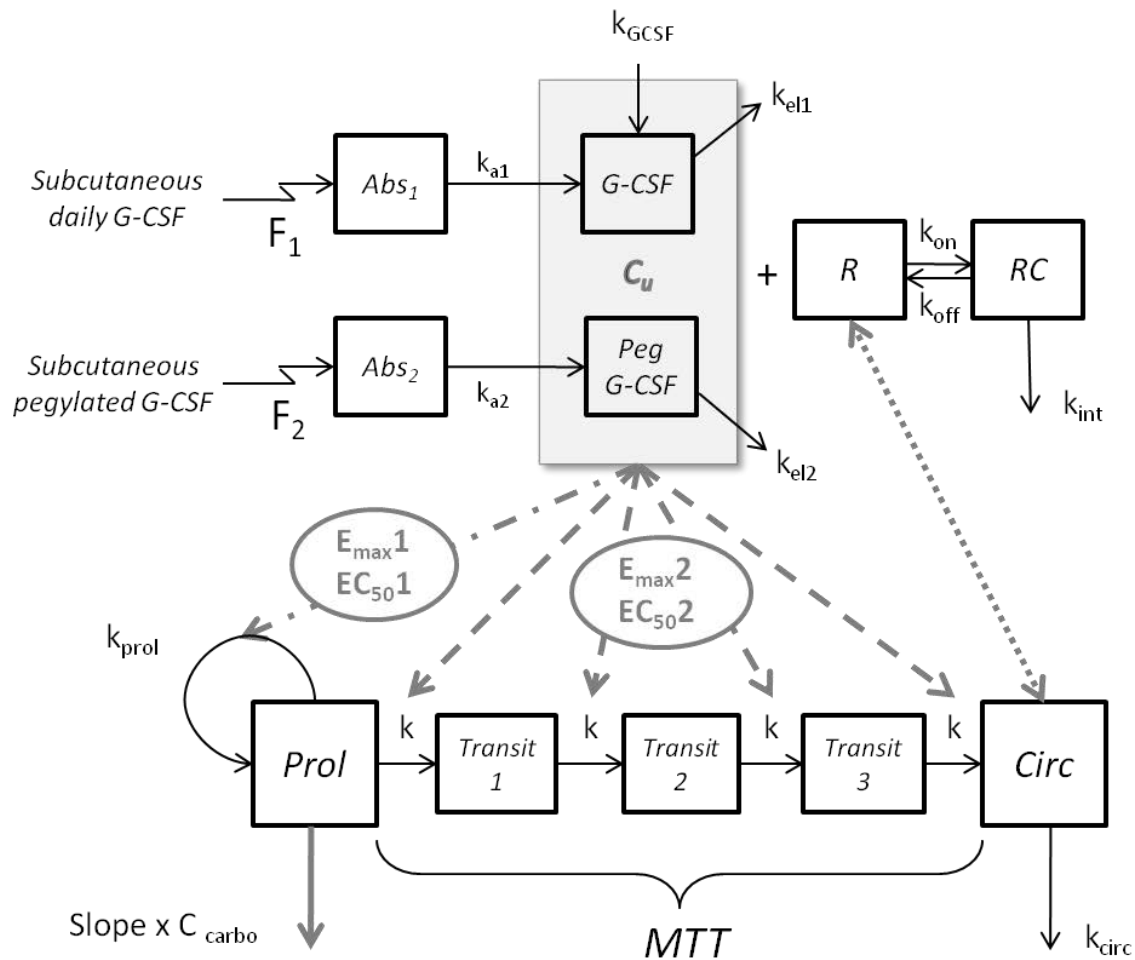


Figure 2: PK/PD model describing the neutropenic effect of carboplatin with G-CSF-based feedback mechanism. The effect of G-CSF (pegylated or non-pegylated form) on proliferation and maturation processes in bone marrow were assumed to be driven by the free circulating G-CSF concentration. Standard E_{max} models were used for that purpose (see Appendix 2 for more details). The G-CSF receptor complex RC in blood was assumed to be pharmacologically inactive.

Prol: proliferative cells in bone marrow; *Transit*: maturing granulocyte precursors in bone marrow; *Circ*: circulating mature neutrophils; *MTT*: mean transit time for maturing precursors in bone marrow; *Slope*: sensitivity to carboplatin myelotoxicity; C_{carbo} : ultrafiltrable plasma concentration of carboplatin; k_{prol} : proliferation rate constant; k : transit rate constant; k_{circ} : rate constant of elimination of neutrophils from the systemic circulation; Abs_1 : absorption compartment for filgrastim/lenograstim; Abs_2 : absorption compartment for pegfilgrastim; $F_1(F_2)$: bioavailability of filgrastim/lenograstim(pegfilgrastim); C_u : free circulating concentration controlling G-CSF effects on bone marrow, calculated as the sum of non-pegylated and pegylated G-CSF free circulating (serum)

concentrations; R : G-CSF receptors on circulating neutrophils; $G\text{-CSF}$: free circulating G-CSF concentration resulting from endogenous production or from an administration of filgrastim/lenograstim; $peg\text{-GCSF}$: free circulating G-CSF concentration resulting from an administration of pegfilgrastim; RC : bound non-pegylated and pegylated G-CSF assumed here to be pharmacologically inactive; k_{on}/k_{off} : on/off-rate constants with dissociation constant $K_D=k_{off}/k_{on}$; $k_a1(2)$: absorption rate constant for filgrastim/lenograstim (pegfilgrastim); k_{GCSF} : zero-order rate constant of endogenous G-CSF production; k_{el1} : rate constant for the linear, non-specific elimination of endogenous G-CSF and filgrastim/lenograstim; k_{el2} : rate constant for the linear, non-specific elimination of pegfilgrastim; k_{int} : rate constant for non-pegylated or pegylated G-CSF elimination after binding to receptors and internalization; $E_{max1}(E_{max2})$: maximal effect of non-pegylated or pegylated G-CSF on progenitor proliferation (precursor maturation); $EC_{501}(EC_{502})$: free non-pegylated or pegylated G-CSF concentration eliciting 50% of the maximal effect.

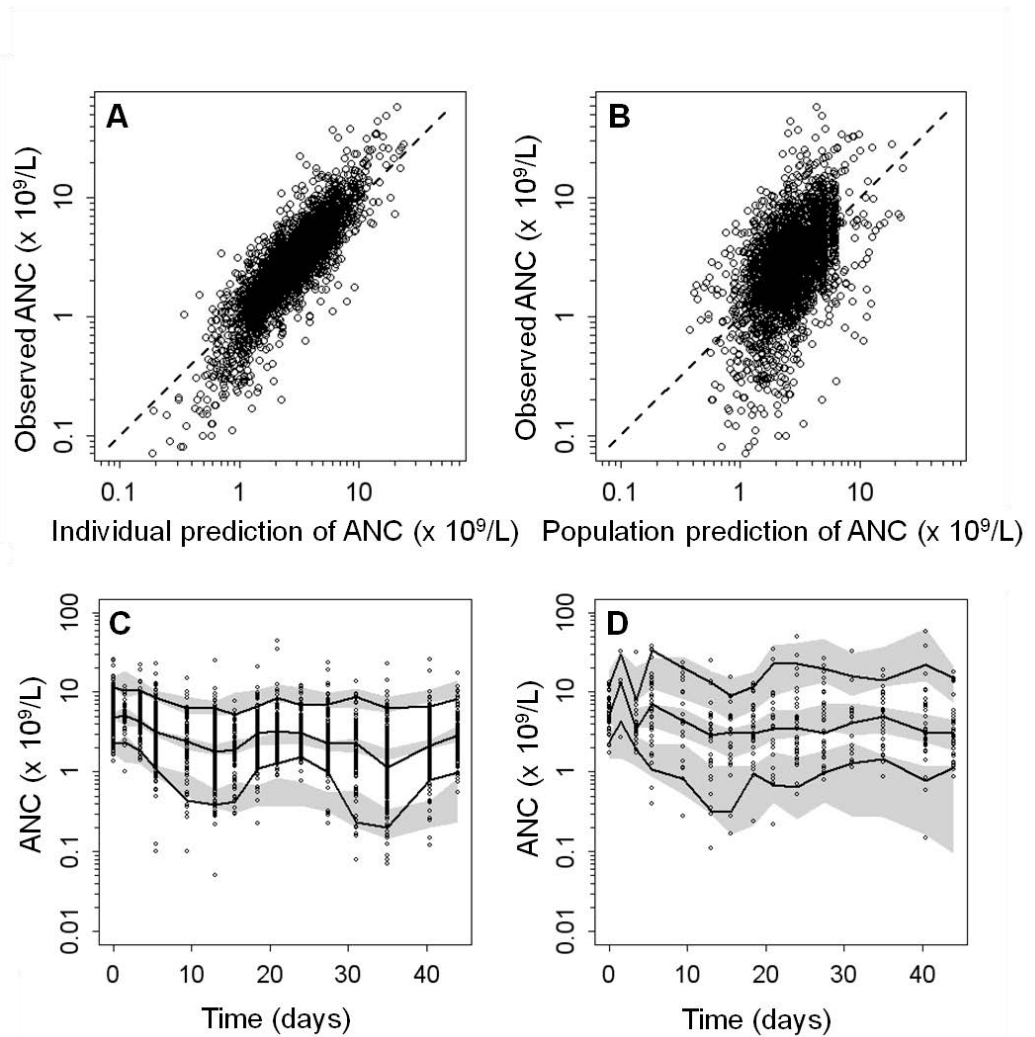


Figure 3: Top: Goodness-of-fit plots for observations vs. A) individual predictions and B) population predictions of absolute neutrophil counts (ANC). Bottom: Visual predictive checks for ANC ($\times 10^9/L$) for the final model based on 500 simulations of the study design in C) patients off G-CSF and D) patients receiving G-CSF at least once. The *circles* represent the observed data. The *solid lines* refer to the median, 5th and 95th percentiles of the observed data. *Shaded areas* are the 95% confidence intervals for the median and percentiles 5th and 95th under the model.

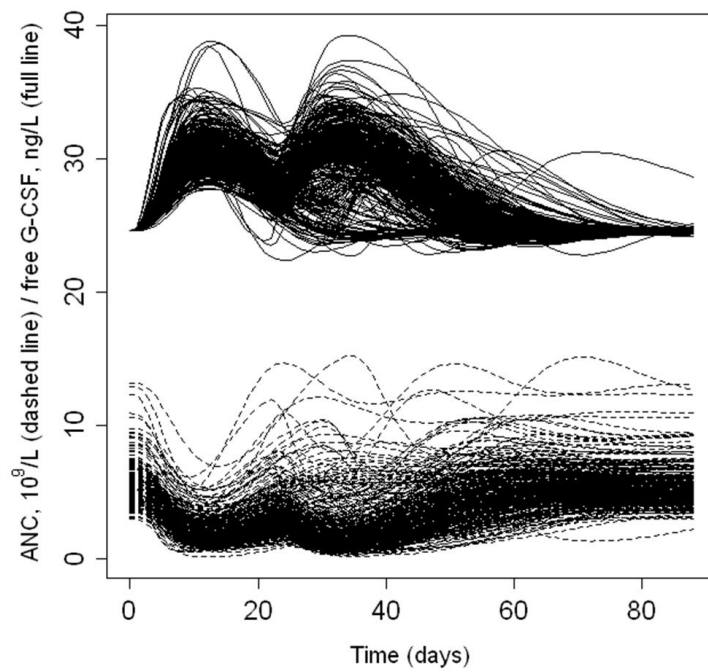


Figure 4: Individual predicted time-profiles of free circulating G-CSF concentrations and ANC for patients off G-CSF. Note that free circulating G-CSF concentrations are inversely correlated with ANC.

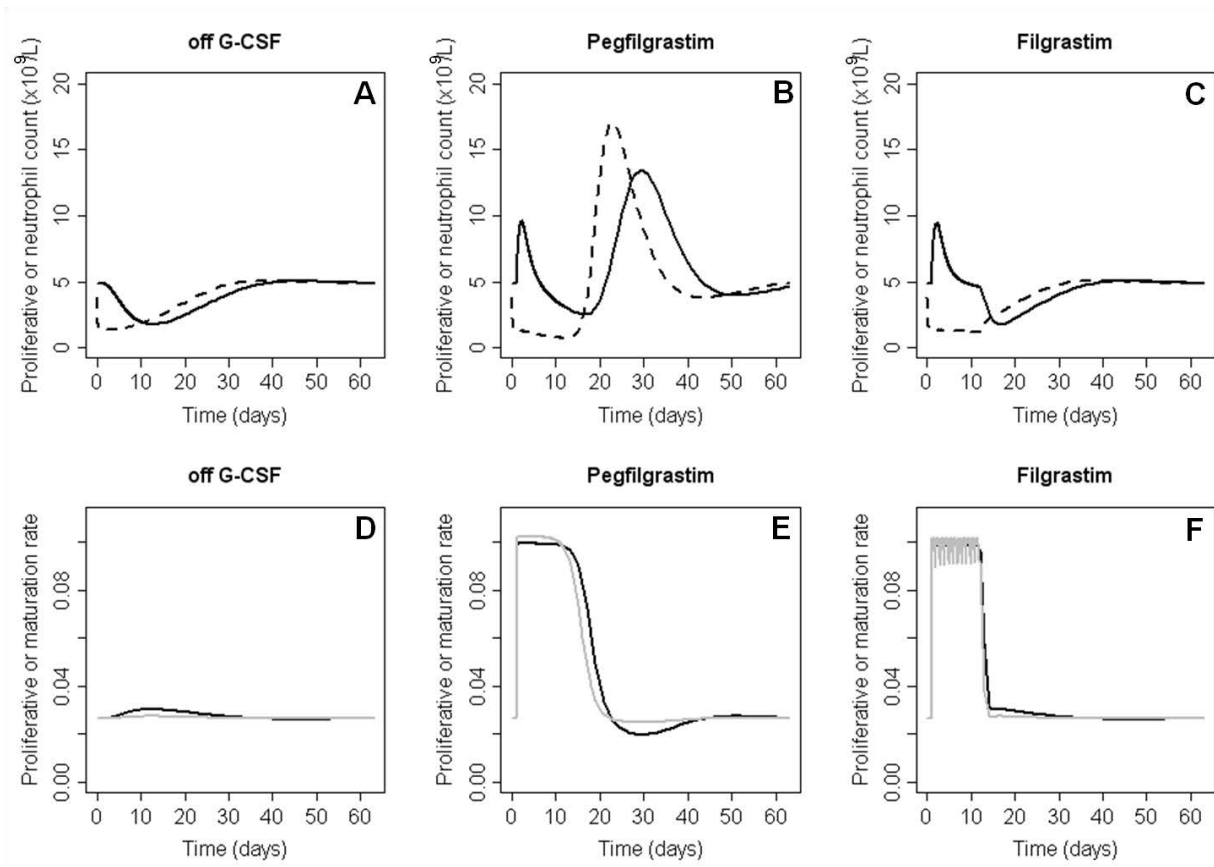


Figure 5: Effects of subcutaneous pegylated (**B**, **E** [6 mg at day 1]) and daily formulations (**C**, **F** [5 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ at day 1 for 11 days]) compared to the absence of G-CSF (**A**, **D**) administration in a mean patient. More precisely, we compared the effect of G-CSF formulation (i) on the time-course of proliferative cells (compartment *ProI*) and circulating neutrophils (compartment *Circ*) and (ii) on the time-course of proliferation rate (calculated as $k_{proI} \times \left(1 + \frac{E_{max} 1 \times C_u}{EC_{50} 1 + C_u}\right)$) and maturation rate (calculated as $k_r \times \left(1 + \frac{E_{max} 2 \times C_u}{EC_{50} 2 + C_u}\right)$ and corresponding to *k*.)” In each case, 545 mg of carboplatin were administered at day 0. **A**, **B** and **C**: the dashed lines correspond to proliferative cell count in bone marrow (compartment *ProI*) and the solid lines to the ANC. **D**, **E** and **F**: the black lines correspond to the effect of G-CSF (endogenous and exogenous) on proliferation rate and the grey lines to the effect on maturation (transit) rate.

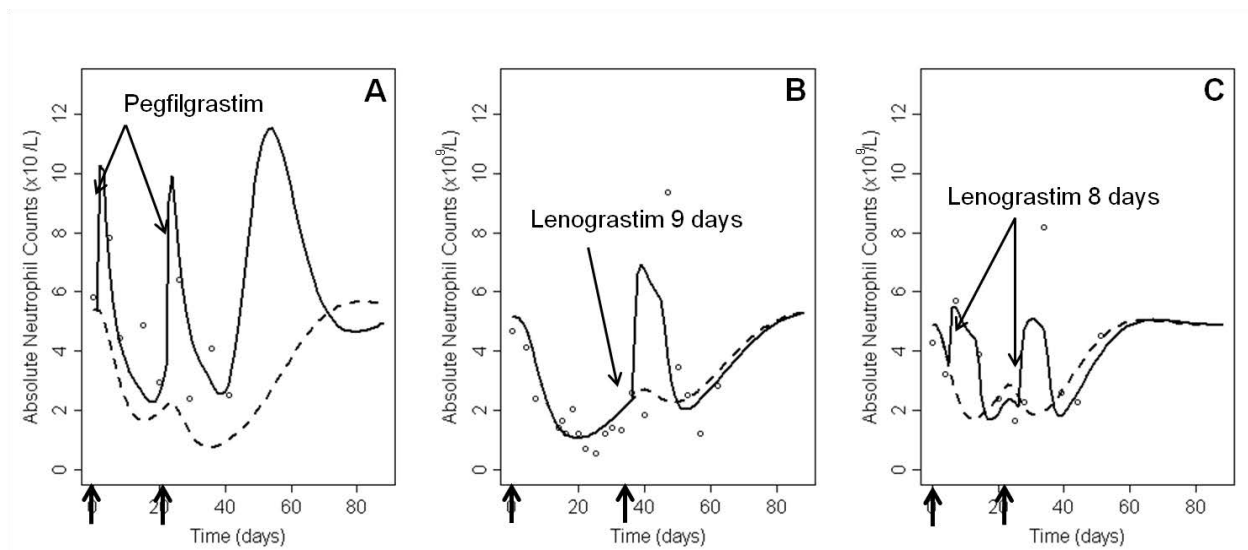


Figure 6: Prediction of the ANC time-profile without G-CSF for 3 patients who received G-CSF treatment in our data set. The circles correspond to the observations, the solid line to the individual predictions *under* G-CSF treatment and the dashed line to the individual predictions *off* G-CSF treatment. Carboplatin administrations are indicated by vertical arrows on the x-axis. **A:** Patient who clearly shows benefit from G-CSF treatment. Carboplatin was given at day 0 (583 mg) and day 21 (555 mg), while pegfilgrastim (6 mg) was given subcutaneously at day 1 and day 22. **B and C:** Patients for whom G-CSF treatment does not allow any improvement in the nadir. For patient **B**, carboplatin was given at day 0 (660 mg) and day 36 (520 mg); lenograstim ($5 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$) was administered subcutaneously at day 36 for 9 consecutive days. For patient **C**, carboplatin was given at day 0 (608 mg) and day 21 (506 mg); lenograstim ($5 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$) was administered subcutaneously at day 5 and day 26 for 8 consecutive days.

Appendix 1: Study Centers and Investigators

N. Caunes, C. Chevreau, F. Dalenc, J.-P. Delord, L. Gladiéff, L. Mourey, Institut Claudius-Regaud, Toulouse; N. Penel, Centre Oscar Lambret, Lille; M. Campone, E. Bourbouloux, Centre René-Gauducheau, Nantes; R. Largillier, Centre Antoine-Lacassagne, Nice; P. Soulié, E. Gamelin, Centre Paul Papin, Angers; M. Mousseau, Centre Hospitalo-Universitaire de Grenoble; M. Fabbro, Centre Val d'Aurelle, Montpellier; A. Floquet, N. Houede, Institut Bergonié, Bordeaux; J. Medioni, C. Durdux, S. Oudard, Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris; P. Bougnoux, B. Narciso, M.-B. Orgerie, Centre Hospitalo-Universitaire de Tours; J. Mazières, Centre Hospitalo-Universitaire de Toulouse; B. Richard, Centre Hospitalo-Universitaire de Nîmes.

Appendix 2: System of differential equations corresponding to the final model

The pharmacokinetics of free circulating endogenous G-CSF ($C_{u,GCSF}$) was described by using a one-compartment model with zero-order input k_{GCSF} (to mimic the endogenous production of G-CSF) and two mechanisms of elimination: a linear and a non-linear elimination. More precisely, free G-CSF could either be eliminated by the kidneys (with first-order rate constant k_{el}) or could bind to receptors R at a second-order rate constant k_{on} to form the drug receptor complex RC_{GCSF} . This complex could either dissociate (rate constant k_{off}) or be internalized at a rate k_{int} . The internalized complex was supposed to be degraded in the endosomes and not to recycle. Because of the quasi-equilibrium assumption, we could write:

$$\frac{C_{u,GCSF} \times R}{RC_{GCSF}} = \frac{k_{off}}{k_{on}} = K_D \quad (1)$$

In the case of daily G-CSF administration (filgrastim/lenograstim) by the subcutaneous route, an absorption compartment was used with a first-order absorption rate constant k_{a1} . We thus obtained the following differential equation for total G-CSF concentration

$$C_{tot,GCSF} = C_{u,GCSF} + RC_{GCSF} :$$

$$\frac{dC_{tot,GCSF}}{dt} = Input + k_{GCSF} - k_{el1} \times C_{u,GCSF} - k_{int} \times R_{max} \times C_{u,GCSF} / (K_D + C_{u,GCSF}) \quad (2)$$

where R_{max} is the maximal amount of receptors involved in G-CSF clearance.

Input equals 0 for patients off-G-CSF and has the following expression when filgrastim or lenograstim is given (subcutaneous administration):

$$Input = k_{a1} \times \frac{Dose}{VD_{a1}} \times e^{-k_{a1} \times t}$$

k_{a1} was the first-order absorption rate constant, VD_{a1} the apparent volume of distribution.

To account for the differences in pharmacokinetics between G-CSF and pegylated G-CSF, different absorption and central compartments were used for pegfilgrastim with a different set of pharmacokinetic parameters. The differential equation for total pegylated G-CSF concentration $C_{tot,pegGCSF} = C_{u,pegGCSF} + RC_{pegGCSF}$ was:

$$\frac{dC_{tot,pegGCSF}}{dt} = Input_{peg} - k_{el2} \times C_{u,pegGCSF} - k_{int} \times R_{max} \times C_{u,pegGCSF} / (K_D + C_{u,pegGCSF}) \quad (3)$$

Where $Input_{peg} = k_a \times \frac{Dose}{VD_a} \times e^{-ka \times t}$, k_a being the first-order absorption rate constant for pegfilgrastim and VD_a its apparent volume of distribution.

Note that we assumed similar binding of G-CSF and pegylated G-CSF to receptors R (with the same dissociation K_D and quasi-equilibrium assumption) and identical internalization rate constant k_{int} .

Thus, $R_{max} = R + RC_{GCSF} + RC_{pegGCSF}$ with the assumption that, following administration of pegfilgrastim, the RC_{GCSF} complex corresponding to endogenous G-CSF is negligible compared to $RC_{pegGCSF}$.

In our model, R_{max} was set proportional to the ANC as follows:

$$R_{max} = \xi \times Circ \quad (4)$$

where $Circ$ is the circulating neutrophil count (ANC) and ξ the proportionality constant representing the amount of receptors per cell. In that context, the G-CSF receptor complex was assumed to be pharmacologically inactive and the effect of G-CSF on proliferation and maturation processes in bone marrow was assumed to be driven by the total free circulating G-CSF concentration C_u :

$$C_u = C_{u,GCSF} + C_{u,pegGCSF} \quad (5)$$

We therefore assumed similar effects for G-CSF and pegylated G-CSF.

Standard E_{max} models H_1 et H_2 were used for that purpose:

$$H_1 = 1 + \frac{E_{max1} \times C_u}{EC_{501} + C_u}$$

$$H_2 = 1 + \frac{E_{max2} \times C_u}{EC_{502} + C_u}$$

where E_{max1} is the maximal effect for proliferation, E_{max2} is the maximal effect for maturation and EC_{501} and EC_{502} their respective potency parameters.

The concentration of free-G-CSF was calculated as follows:

$$C_{u,GCSF} = 0.5 \times \left((C_{tot,GCSF} - R_{max} - K_D) + \sqrt{(C_{tot,GCSF} - R_{max} - K_D)^2 + 4 \times K_D \times C_{tot,GCSF}} \right) \quad (6)$$

$$C_{u,pegGCSF} = 0.5 \times \left((C_{tot,pegGCSF} - R_{max} - K_D) + \sqrt{(C_{tot,pegGCSF} - R_{max} - K_D)^2 + 4 \times K_D \times C_{tot,pegGCSF}} \right) \quad (7)$$

Five compartments were used to describe the production and maturation of granulocytic cell lineage. The first compartment represented the proliferating cells (*Prol*), then three compartments were used to model the transit of the maturing cells (*Transit_{1,2,3}*) and the last compartment represented the circulating neutrophils (*Circ*). Regarding carboplatin toxicity, carboplatin was assumed to induce cell loss from the proliferation compartment (*Prol*). The drug effect, was proportional to the ultrafiltrable-plasma concentration C_{carbo} (with *Slope* = sensitivity to carboplatin myelotoxicity). The differential equations describing the system were:

$$\frac{dProl}{dt} = k_{prol} \times Prol \times H_1 - Slope \times C_{carbo} \times Prol - k_{tr} \times H_2 \times Prol \quad (8)$$

$$\frac{dTransit_1}{dt} = k_{tr} \times H_2 \times Prol - k_{tr} \times H_2 \times Transit_1 \quad (9)$$

$$\frac{dTransit_2}{dt} = k_{tr} \times H_2 \times Transit_1 - k_{tr} \times H_2 \times Transit_2 \quad (10)$$

$$\frac{dTransit_3}{dt} = k_{tr} \times H_2 \times Transit_2 - k_{tr} \times H_2 \times Transit_3 \quad (11)$$

$$\frac{dCirc}{dt} = k_{tr} \times H_2 \times Transit_3 - k_{circ} \times Circ \quad (12)$$

Where $k_{prol} \times H_1$ is the rate constant for proliferation and $k = k_{tr} \times H_2$ is the rate constant for the transit between compartments. Both are a function of time since they depend on C_u through H_1 and H_2 . k_{circ} is the rate constant for the elimination of neutrophils from the circulation.

The mean transit time (MTT) was defined as:

$$MTT = \frac{4}{k_{tr} \times H_2} = \frac{4}{k} \quad (13)$$

Prior to any treatment, the system was supposed to be at a steady-state. Therefore, derived from equation (8):

$$\frac{dProl_0}{dt} = k_{prol} \times Prol_0 \times H_{10} - k_{tr} \times H_{20} \times Prol_0 = 0$$

Where $H_{10} = 1 + \frac{E_{\max} 1 \times C_{u0}}{EC_{50} 1 + C_{u0}}$ and $H_{20} = 1 + \frac{E_{\max} 2 \times C_{u0}}{EC_{50} 2 + C_{u0}}$

We deduced that: $k_{\text{prol}} = \frac{k_{\text{tr}} \times H_{20}}{H_{10}}$ (14)

We fixed k_{circ} equal to the value of k at baseline, that is to say $k_{\text{tr}} \times H_{20}$. Thus, the baseline equations derived from equations (9), (10), (11) and (12) were:

$$\frac{d\text{Transit}_{10}}{dt} = \frac{d\text{Transit}_{20}}{dt} = \frac{d\text{Transit}_{30}}{dt} = \frac{d\text{Base}}{dt} = 0$$

$$\text{Prol}_0 = \text{Transit}_{10} = \text{Transit}_{20} = \text{Transit}_{30} = \text{Base}$$

Steady-state at the initial conditions for equations (2), (3), (4), (5) and (13) allows the following parameters to be calculated:

$$\text{MTT}_0 = \frac{4}{k_{\text{tr}} \times H_{20}} = \frac{4}{k_0} \quad (15)$$

$$R_{\text{max}0} = \xi \times \text{Base} \quad (16)$$

$$C_{\text{tot}0} = C_{u0} + R_{\text{max}0} \times \frac{C_{u0}}{(K_D + C_{u0})} \quad (17)$$

$$k_{\text{GCSF}} = k_{\text{el}1} \times C_{u0} + k_{\text{int}} \times R_{\text{max}0} \times \frac{C_{u0}}{K_D + C_{u0}} \quad (18)$$

Where C_{u0} is equal to $C_{u0,\text{GCSF}}$, corresponding to the endogenous molecule since there is no exogenous G-CSF administration at baseline. Free circulating G-CSF concentration at baseline, was not estimated but taken from Krzyzanski et al. (32) ($C_{u0} = 0.0246$ ng/mL or 24.6 ng/L).

A two-compartment model was used to describe the pharmacokinetics of carboplatin after intravenous administration. This model was parameterized in clearance of elimination (Cl), clearance of distribution (Q), volume of distribution of the central compartment (V_c) and volume of distribution of the peripheral compartment (V_p). Carboplatin concentrations in the central (C_c) and peripheral (C_p) compartments were described with the following equations:

$$\frac{dC_c}{dt} = \frac{1}{V_c} [Q \times C_p - (Cl + Q) \times C_c] \quad (19)$$

$$\frac{dC_p}{dt} = \frac{Q}{V_p} (C_c - C_p) \quad (20)$$

3.3.3 Résultats complémentaires

3.3.3.1 Validation du modèle

La normalité des NPDE (normalized prediction distribution errors) a été évaluée au moyen d'un Quantile-Quantile (Q-Q) plot et d'un histogramme (Figure 12). Ces graphiques ne montrent pas d'écart majeur par rapport à la distribution normale standard ($N(0,1)$), indiquant que le modèle semble raisonnable.

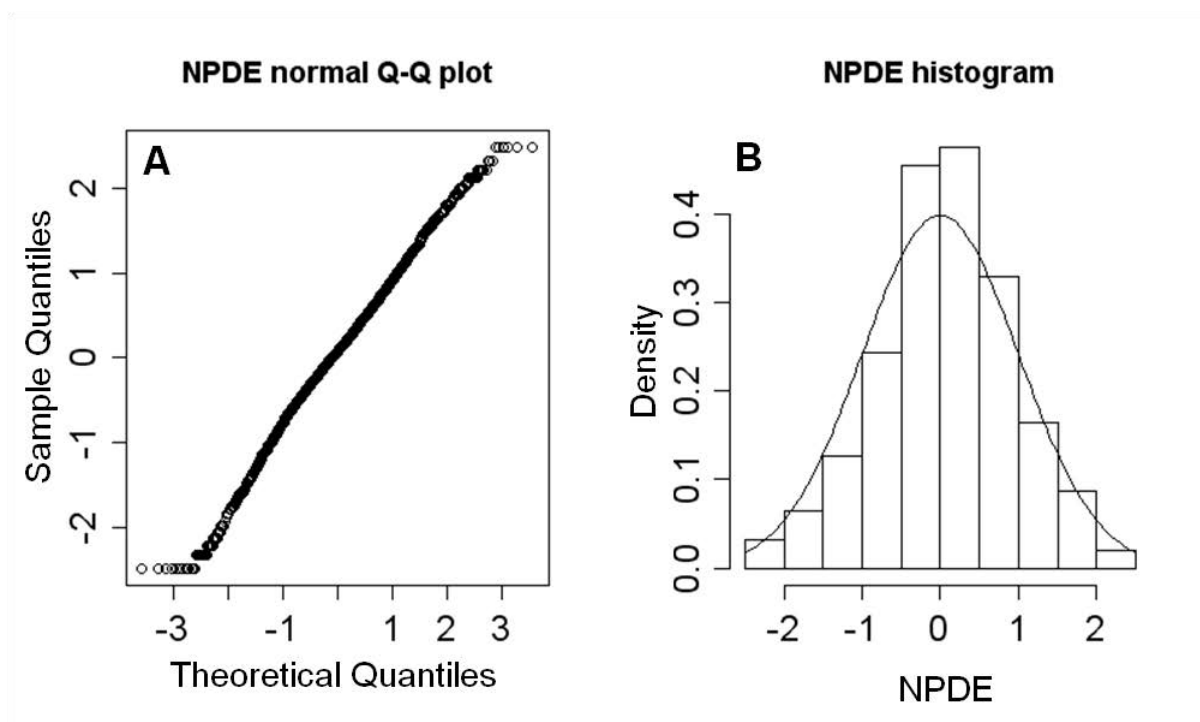


Figure 12 : Q-Q plot (gauche) et histogramme (droite) évaluant la normalité des NPDE (normalized prediction distribution error) pour le modèle PK/PD de population final. La courbe noire sur le graphique de droite représente la fonction densité de probabilité de la distribution normale standard.

3.3.3.2 Autres simulations comparant les formulations de G-CSF

Le G-CSF est classiquement initié 24 heures minimum après la fin de la chimiothérapie. Nous avons étudié l'influence du temps d'administration du G-CSF sur l'efficacité de celui-ci sur la neutropénie. Pour ceci, des simulations ont été effectuées chez un patient moyen (tel que défini dans l'Article 1, c'est-à-dire en utilisant les paramètres PK/PD moyens estimés) recevant au jour 0 (J0) une administration de carboplatine à la dose moyenne et la durée de perfusion moyenne de notre étude clinique. Le pegfilgrastim (cf. Figure 13) a été administré à différents temps et le filgrastim a été démarré à différents temps (cf. Figure 14).

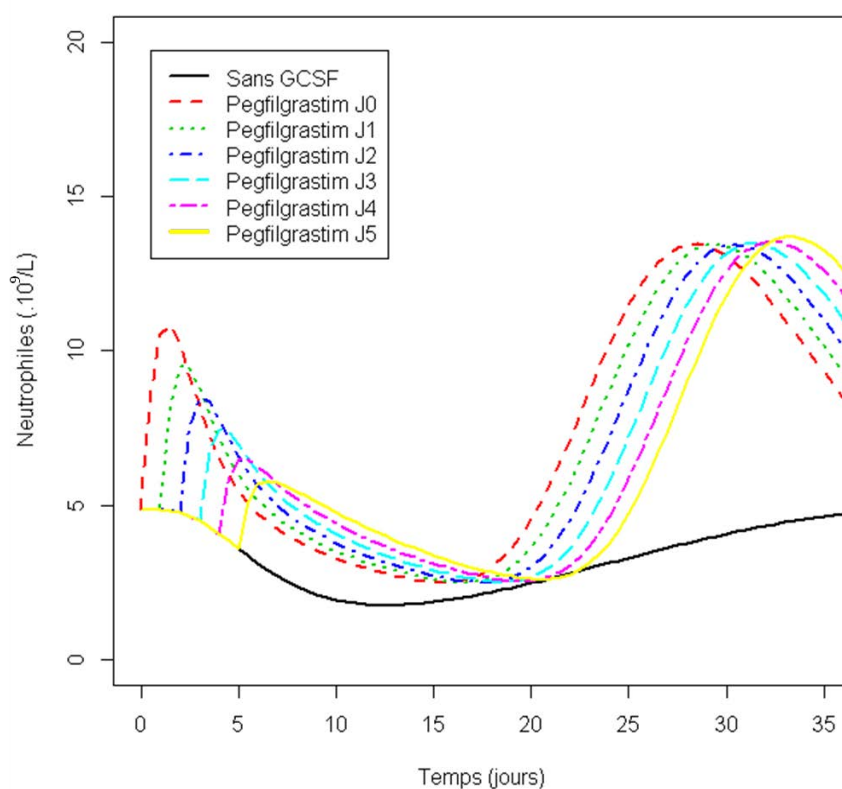


Figure 13 : Effet du temps d'administration du pegfilgrastim (une dose de 6 mg par voie SC) chez un patient moyen ayant reçu du carboplatine.

Le carboplatine a été administré au jour 0 (J0) à la dose moyenne et pendant la durée de perfusion moyenne de notre étude clinique.

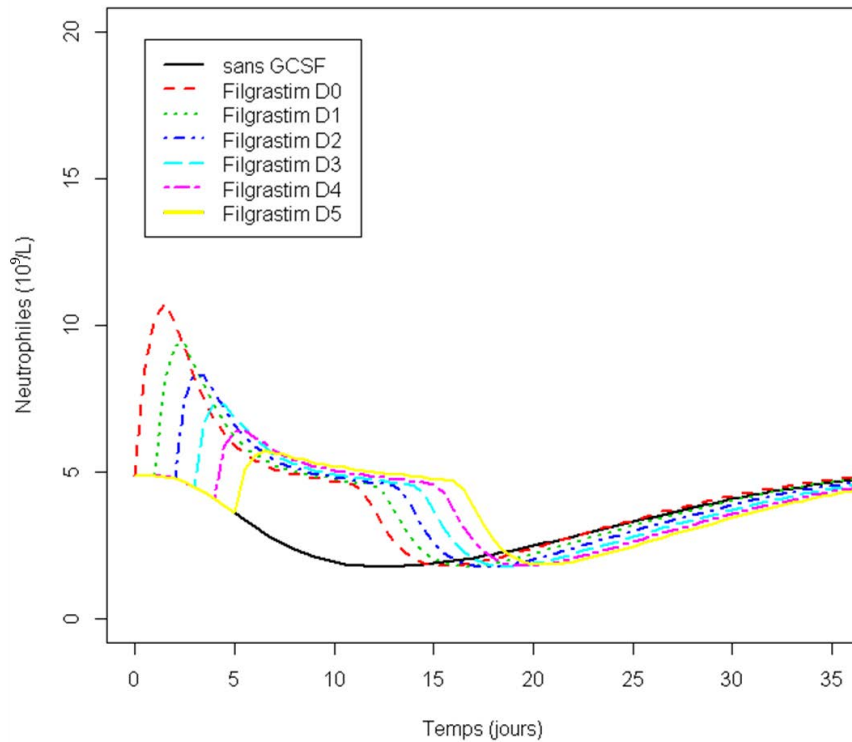


Figure 14 : Effet du jour initial d'administration du filgrastim (5 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{j}$ pendant 11 jours consécutifs) chez un patient moyen ayant reçu du carboplatine.

Le carboplatine a été administré au jour 0 (J0) à la dose moyenne et pendant la durée de perfusion moyenne de notre étude clinique.

Ces différentes simulations suggèrent que le jour d'administration du pegfilgrastim ou du filgrastim n'influence ni la valeur du nadir ni la durée de la neutropénie, mais retarde uniquement le moment du nadir.

3.3.4 Discussion et perspectives

Le modèle proposé, même s'il apparaît plus physiologique que le modèle de Friberg¹, possède une limite importante qui est l'absence de mesure des concentrations de G-CSF sériques. Ceci nous a amené à fixer un certain nombre de paramètres en se basant sur les travaux de Krzyzanski *et al.*⁵⁹ pour le G-CSF endogène et le filgrastim et sur d'autres travaux concernant la cinétique du pegfilgrastim^{50, 61}.

Néanmoins, les prédictions obtenues grâce à ce modèle semblent raisonnables et les outils d'évaluation montrent des résultats tout à fait acceptables (GOF, VPC, NPDE). Le modèle que nous avons développé permet une interprétation mécaniste de l'effet du G-CSF sur les granulocytes neutrophiles des patients atteints de cancer et traités avec du carboplatine. Il amène surtout à s'interroger sur l'effet bénéfique systématique d'un traitement au G-CSF, quelle que soit la formulation (pégylée ou non). En effet, certains patients ne semblent pas bénéficier d'un traitement au G-CSF en termes de prévention d'une neutropénie importante. Ceci pourrait en partie expliquer pourquoi le G-CSF ne prévient pas la survenue d'une neutropénie fébrile chez tous les patients. Les simulations obtenues avec notre modèle montrent par ailleurs que le pegfilgrastim permettrait une neutropénie moins longue et moins intense que les formulations nécessitant une administration quotidienne. Le pegfilgrastim serait ainsi supérieur aux autres formulations.

D'autres études sont bien évidemment nécessaires afin de confirmer nos résultats parce qu'ils reposent sur des données de la littérature et sur certaines hypothèses qui méritent d'être étayées. Nous pensons toutefois que cette modélisation de l'effet des cytotoxiques sur les granulocytes neutrophiles est plus adaptée que le modèle de Friberg classique car elle tient compte de l'effet du G-CSF et autorise l'inclusion de sujets ayant reçu du G-CSF exogène.

Enfin, d'autres travaux sont nécessaires afin d'identifier les patients pour lesquels un traitement à base de G-CSF serait bénéfique et c'est ce que nous nous proposons de faire dans le deuxième article.

4. APPORT DE LA MODELISATION DANS LA PREDICTION DE LA REPONSE AU G-CSF LORS DE TRAITEMENT AU CARBOPLATINE

4.1 Article 2

Ce second article est présenté dans la version qui sera soumise dès la publication en ligne de l'Article 1.

How to early predict prolonged high grade neutropenia in carboplatin-treated patients and guide G-CFS prophylactic treatment

Mélanie L. PASTOR^a, Céline M. LAFFONT^a, Laurence GLADIEFF^b, Etienne CHATELUT^b, Didier CONCORDET^a

^a Université de Toulouse, INP, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, F-31076 Toulouse, France. INRA, UMR1331, Toxalim, F-31027 Toulouse, France

^b Université de Toulouse, Institut Claudius-Regaud, EA4553, 20, rue du Pont-Saint-Pierre, 31052Toulouse, France.

Corresponding author: ML Pastor, INP-Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, 23, chemin des capelles – BP 87614 – 31076 Toulouse Cedex 3 – France ;

Tel: +33 561 192 315; fax: +33 561 193 203

E-mail address: m.pastor@envt.fr

SUMMARY

PURPOSE

Neutropenia is a major dose-limiting side effect of chemotherapy and is closely related to febrile neutropenia which mainly occurs in the first treatment cycle. Our objectives were to build model-based decision rules from early absolute neutrophil counts (ANC) to anticipate prolonged high grade neutropenia at cycle 1 and prevent it through delayed granulocyte colony stimulating factor (G-CSF) administration in carboplatin-treated patients.

METHODS

Monte Carlo simulations were performed using a previous semi-mechanistic model for ANC in carboplatin-treated patients with or without G-CSF therapy. Different scenarios were simulated (no G-CSF, pegfilgrastim at day 1 or 5) to build the aforementioned decision rules.

RESULTS

ANC measured at days 0 (baseline), 4 and 5 were good predictors of prolonged high grade neutropenia at cycle 1. Pegfilgrastim administration at day 5 was as effective as the conventional pegfilgrastim administration at day 1 but none avoided prolonged high grade neutropenia in all patients. Additional decision rules were thus derived, using the same ANC combination, to identify patients for whom G-CSF was beneficial. All decision rules showed good performances (sensitivity/specificity).

CONCLUSION

Although our findings need to be further validated with prospective studies, we propose an innovating model-based approach to guide oncologists in their clinical practice.

KEY WORDS

Neutropenia, G-CSF, chemotherapy, semi-mechanistic model, decision rule.

ABBREVIATIONS

ANC: Absolute neutrophil counts

FOCE: first order conditional estimate

G-CSF: Granulocyte colony-stimulating factor

ROC: Receiver-Operating Characteristic

INTRODUCTION

Neutropenia is one of the most common dose-limiting side effects of cytotoxic drugs, including carboplatin. Because of the risk of infection, chemotherapy-induced neutropenia is a major concern and requires dose adjustments or delays in anticancer drug administration which may compromise clinical outcome, especially in curative regimens (1). Febrile neutropenia is defined as fever or clinical signs of sepsis associated with high grade neutropenia corresponding to absolute neutrophil count (ANC) below $1 \times 10^9/L$ i.e. grades 3 and 4 (2, 3). The occurrence of febrile neutropenia is associated with the severity and duration of neutropenia, particularly high grade neutropenia lasting for more than 3 days (2, 4, 5). Thus, with regards to adverse events of anticancer drugs, one objective of oncologists is to avoid prolonged high grade neutropenia to prevent febrile neutropenia.

In order to reduce the severity and duration of neutropenia, granulocyte colony stimulating factor (G-CSF) is often administered to patients considered to be at risk (6-9). Exogenous G-CSF reproduces the physiological effect of its endogenous counterpart, that is to say it increases the proliferation of granulocytes progenitors, reduces their maturation time and stimulates their release from the bone marrow storage pool (10, 11). The actual benefit of systematic G-CSF use remains however controversial because of its cost and potential side effects (bone pain, headache, secondary malignancies,...(7)). To target the patients who would benefit from G-CSF treatment, it is recommended that the risk of febrile neutropenia be assessed before each chemotherapeutic agent administration. As recently stated by the European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC) (3, 12, 13), this risk depends on tumor type (breast, lung, colorectal, lymphoma, and ovarian),

chemotherapy regimen and patient-related risk factors such as elderly age (≥ 65 years), female gender, advanced-disease stage, previous episode of febrile neutropenia, presence of comorbidities and poor performance/nutritional status. Oncologists have to evaluate the risk of febrile neutropenia at the beginning of each cycle, taking all these factors into consideration. If the overall risk is above 20%, prophylactic G-CSF administration is then recommended (3, 7, 12).

To refine the evaluation of the risk of febrile neutropenia and/or high grade neutropenia, model-based approaches have been proposed. More precisely, semi-mechanistic myelosuppression models (population pharmacokinetic/pharmacodynamic models) have been developed to describe ANC-time profiles in cancer patients under various chemotherapy regimens (see (14-16) for reviews). The advantage of such models is that they capture the whole time course of ANC, account for interpatient variability and provide individual predictions despite sparse data. For docetaxel, it has been shown that model-based individual predictions were superior predictors over descriptive values (nadir, neutropenia duration) for the probability of experiencing febrile neutropenia (17). Individual predictions derived from ANC at early cycles have been also used to guide dose adaptation in chemotherapy to prevent high grade neutropenia in further cycles (18, 19). All these methods require to run a professional software (e.g. NONMEM) or to implement model-related differential equations in an Excel file following Wallin *et al.* (18), which may restrict the use of such approaches in clinical practice.

In the present work, we propose to derive simple model-based decision rules that predict prolonged high grade neutropenia and guide G-CSF prophylactic treatment in carboplatin-treated patients. These decision rules shall only be based on a combination of sparse ANC without requiring complex manipulations of the data to compute individual predictions. Furthermore, we focus on the first treatment cycle since most episodes of febrile neutropenia occur at that time (17, 20, 21). Our goal was thus to identify, from early ANC, patients who have a high risk to experience prolonged high grade neutropenia at cycle 1 and who would benefit from an administration of G-CSF. To achieve this objective, we perform Monte Carlo simulations using a previously published semi-mechanistic model for ANC that integrates the effect of endogenous and exogenous G-CSF. This model was

developed from 375 patients receiving carboplatin as mono or polychemotherapy over 2 cycles, among whom 47 received G-CSF as a once-per-cycle formulation (pegfilgrastim) or as a daily formulation (filgrastim, lenograstim). Conventionally, G-CSF is given on the first day following anticancer drug administration, i.e. on day 1 (D1). With the proposed approach, we consider a delayed G-CSF (pegfilgrastim) administration at D5 of cycle 1. We show through Monte Carlo simulations that these two dosing times are equally effective in limiting prolonged high grade neutropenia in carboplatin-treated patients.

MATERIAL AND METHODS

Semi-mechanistic myelosuppression model used for simulations

In a previous work (cf. Article I), we developed a population pharmacokinetic/ pharmacodynamic model that describes neutrophil-time course in 375 cancer patients with various malignant tumors, receiving carboplatin as part of established regimens as monochemotherapy or in combination with different other cytotoxic drugs. Carboplatin was given as a single intravenous infusion over 30 or 60 minutes at the beginning of each cycle with a theoretical intercycle period of 21 days. Four blood samples were taken to measure carboplatin-ultrafiltrable plasma concentrations during the first two cycles: before the start of carboplatin infusion, 5 minutes before the end of the infusion and at 1 and 4 hours after the end of the infusion. Among the 375 patients, 47 had G-CSF administration given subcutaneously as a daily formulation (N=31; filgrastim (Neupogen®) or lenograstim (Granocyte®) at 5µg/kg/day) or a pegylated once-per cycle formulation (N=17; pegfilgrastim (Neulasta®) at 6 mg/kg). Details about G-CSF administration schedule and the reasons of G-CSF administration in those particular patients are given in the previous published article (cf. Article I). Cell blood counts were scheduled before chemotherapy and then weekly during the intercycle period. The protocol was approved by the ethical committee of Toulouse, and informed written consent was obtained from each patient.

In total, 2991 ANC values were available from the first two cycles to build the model. Predictions of carboplatin individual PK parameters were obtained using a previous

population PK model for carboplatin-ultrafiltrable plasma concentrations (22). No measurements of G-CSF concentrations were available in the clinical study. We therefore used prior information for G-CSF pharmacokinetics and effects on bone marrow progenitors and precursors in healthy volunteers (23, 24) with some model refinements supported by our data. Our model was developed with NONMEM software (FOCE method) and validated according to up-to-date model evaluation techniques.

A schematic representation of the model is displayed in Figure 1. The model comprises two parts. The first part mimics the granulopoiesis and consists of a compartment representing proliferative cells in the bone marrow, three maturation compartments and one compartment for circulating neutrophils in the blood. As in Friberg's model (25), the rate constant for the physiological elimination of circulating neutrophils from blood, k_{circ} , was assumed to be equal to the rate constant for the transit between all five compartments, k , under steady-state conditions (i.e. at baseline). Under no steady-state conditions (i.e. following chemotherapy and possible co-administration(s) of exogenous G-CSF), the rate constant k was not constant anymore but varied over time as the result of the effect of G-CSF on the maturation rate of precursors in the bone marrow). The mean transit time (MTT), or mean maturation time of granulopoiesis, was defined as $(n+1)/k$ where n was the number of transit compartments. The carboplatin plasma concentration (corresponding to the ultrafiltrable concentration) was assumed to induce cell loss from the proliferative cell compartment by increasing apoptosis. Carboplatin effect was proportional to carboplatin plasma concentration, $Slope$ being the coefficient of proportionality.

The second part of our model describes the pharmacokinetics of endogenous and exogenous G-CSF and its effects on the proliferation and maturation of progenitors in the bone marrow. The free G-CSF concentration in blood was described by a one-compartment model with zero-order input k_{GCSF} to mimic the endogenous production of G-CSF. Free circulating G-CSF could be eliminated by two mechanisms: a linear and a non-linear elimination. More precisely, free G-CSF could either be eliminated by the kidneys (with first-order rate constant k_{el}) or could bind to receptors R present on circulating neutrophils and bone marrow precursors (with dissociation constant K_D), followed by an internalization and degradation (rate constant k_{int}). In our clinical studies, patients not only received filgrastim

but could also receive lenograstim or pegfilgrastim. Identical pharmacokinetic parameters were assumed for filgrastim and lenograstim which are both recombinant forms of endogenous G-CSF and immediate-release daily formulations. Note that filgrastim and lenograstim show the same clinical efficacy at the same dosage (3). Concerning pegfilgrastim, the pegylation results in major differences in the pharmacokinetics with a different absorption rate constant, a different apparent volume of distribution (VD_a) and, more importantly, a much reduced rate of renal elimination (24, 26, 27). To account for these differences in pharmacokinetics, different sets of pharmacokinetic parameters were used for pegfilgrastim and filgrastim/lenograstim with separate absorption and central compartments. In both cases, values of k_a , VD_a and k_{el} were taken from the literature. Concerning filgrastim/lenograstim, they were denoted k_{a1} , VD_{a1} and k_{el1} and fixed to the previously published values in Krzyzanski *et al.* (23). In the case of pegfilgrastim, they were denoted k_{a2} , VD_{a2} and k_{el2} . The values of k_{a2} and VD_{a2} were taken from Roskos *et al.* (24) while k_{el2} was fixed to 20% of k_{el1} based on the modeling work of Scholz *et al.* in man (27). As in physiological conditions, G-CSF could stimulate stem cells proliferation and accelerate maturation time in the bone marrow. These effects were assumed to be driven by the free circulating G-CSF concentration using two standard E_{max} models, each defined by two parameters: a maximal effect (E_{max1} and E_{max2} , respectively) and a potency parameter (EC_{501} and EC_{502} , respectively). All modeling details and differential equations are provided in the Appendix (*cf. Appendix 2 of Article 1*).

Model parameters are given in Table I.. Interindividual variability was set on baseline ANC (*Base*), mean maturation time (*MTT*), and carboplatin myelotoxicity (*Slope*), assuming a log-normal distribution. Interoccasion variability (IOV) was set on *Slope*. Corticosteroid multiple administration at the beginning of the cycle increased *Base* by 25%. An exponential additive error model was used to model the residual variability.

Monte Carlo simulation and derived decision rules

Our objectives were to build decision rules from early ANC between day 0 (baseline) and day 5 to detect patients that are at risk for prolonged high grade neutropenia, with the

possibility to prevent this event by a delayed G-CSF administration at day 5. By G-CSF administration, we mean pegfilgrastim administration by the subcutaneous route at the single recommended dose of 6 mg. A patient was considered to have a prolonged high grade neutropenia when the ANC was lower than $1 \times 10^9/L$ (grade 3 to 4) for at least 3 consecutive days. Prolonged severe neutropenia was also investigated, corresponding to ANC below $0.5 \times 10^9/L$ (grade 4 only) for at least 3 days.

We proceeded in a stepwise manner. The first step was to confirm the relevance of a delayed G-CSF administration at day 5 compared to the conventional day 1 administration with respect to prolonged high grade/severe neutropenia. The second step was to find the best combination of ANC between day 0 and day 5 predicting the occurrence of prolonged high grade/severe neutropenia during the first treatment cycle. The final step was to target patients for whom G-CSF administration prevented this event. Indeed, G-CSF administration at day 1 or day 5 did not avoid neutropenia in all patients as will be shown in the results section and as will be further discussed.

To achieve these objectives, simulation studies were performed under the model for the first treatment cycle. A large number of patients were simulated using the carboplatin dosing regimen (dose, infusion rate) and pharmacokinetic parameters of the 375 patients of the clinical study at cycle 1. More precisely, we performed 28 replications of the study design with respect to carboplatin pharmacokinetics leading to 10500 virtual patients. Three different scenarios were then tested for each simulated patient: scenario (1), no G-CSF therapy; scenario (2), pegfilgrastim administration at day 1 (i.e. on the day after carboplatin administration); scenario (3), pegfilgrastim administration at day 5 (i.e. five days after carboplatin administration). For each patient and each scenario, ANC were simulated every 24 hours over 21 days corresponding to one theoretical cycle. Scenarios (2) and (3) were used to compare dosing times of pegfilgrastim in terms of efficacy in the prevention of prolonged high grade neutropenia. Based on scenario (1), logistic regression analyses were performed to identify, from the first ever ANC, the best predictors of prolonged high grade/severe neutropenia when no G-CSF was given. Grade 3-4 and grade 4 neutropenia were successively addressed and decision rules were derived to minimize the global risk (sensitivity equal to specificity). Finally, the same approach was applied based on scenarios

(1) and (3) to identify patients from whom G-CSF is beneficial, i.e. patients who would experience neutropenia in the absence of G-CSF treatment and none when G-CSF is given. Again, decision rules were derived to minimize the global risk (sensitivity equal to specificity).

RESULTS

Relevance of pegfilgrastim administration at day 5 with respect to prolonged high grade neutropenia at cycle 1

The percentage of patients experiencing prolonged grade 3-4 neutropenia during the first treatment cycle was 11.4% when pegfilgrastim was administered at day 1 and 9.6% when pegfilgrastim was administered at day 5. This percentage was increased to 18.2% when no G-CSF was administered. Regarding severe neutropenia, the percentage of patients experiencing prolonged grade 4 neutropenia was 3.5% when pegfilgrastim was administered at day 1 and 3.0% when pegfilgrastim was administered at day 5 *versus* 5.8% in the absence of G-CSF treatment. To summarize, the simulation studies showed that pegfilgrastim administration at day 5 was as effective as the conventional administration at day 1 and that, for both dosing times, pegfilgrastim did not avoid neutropenia in all patients.

Decision rules to identify at-risk patients for neutropenia at cycle 1

From the logistic regression analyses, the best predictors to detect prolonged high grade (grade 3-4) and prolonged severe (grade 4) neutropenia were ANC at day 0 (ANC_0), day 4 (ANC_4) and day 5 (ANC_5). Corresponding receiver-operating characteristic (ROC) curves are shown in Figure 2. The area under the ROC curve was 99.2% for the prediction of prolonged high grade neutropenia and 99.4% for the prediction of prolonged severe neutropenia.

Decision rules were derived from these logistic regression equations to achieve similar values for sensitivity and specificity. These decision rules are displayed in Table 2: equations based on the natural logarithm of ANC_0 , ANC_4 and ANC_5 are provided and the

patient is considered at risk when the equation gives a positive result (i.e. > 0). Sensitivity/specificity values were 95% / 95% for prolonged high grade neutropenia, and 96% / 96% for prolonged severe neutropenia.

Decision rules to identify patients for whom G-CSF administration at day 5 would prevent prolonged high grade neutropenia

Contingency tables were built from simulation studies under scenario (1), no G-CSF therapy, and scenario (3), pegfilgrastim administration at day 5, both studied in the same patients. These contingency tables are displayed in Table 3. They show that G-CSF did not prevent prolonged high grade in all patients. Given the cost and side effects of G-CSF treatment (7), it thus appears important to target patients for whom G-CSF administration is beneficial, i.e. patients who would experience prolonged high grade/severe neutropenia in the absence of G-CSF treatment and none when G-CSF is given. Logistic regression analyses were performed and the best predictors to identify these patients were found to be the same as previously (ANC_0 , ANC_4 and ANC_5) whatever the grade. The corresponding ROC curves are shown in Figure 3, with an area under the curve of 94.3% for grade 3-4 and 98.5% for grade 4 only.

As previously, decision rules were derived from these logistic regression equations to achieve similar values for sensitivity and specificity. These decision rules are given in Table 4: equations based on the natural logarithm of ANC_0 , ANC_4 and ANC_5 are provided and the patient is considered to benefit from pegfilgrastim administration at day 5 when the equation gives a positive result (i.e. > 0). Sensitivity/specificity values were 82% / 83% in the case of prolonged high grade neutropenia and 92% / 92 % in the case of prolonged severe neutropenia.

DISCUSSION

Using a previously published population pharmacokinetic/pharmacodynamic model (cf. Article I), we have derived decision rules to predict prolonged high grade neutropenia for cycle 1 and guide G-CSF administration at day 5 to prevent this event in patients treated with carboplatin. These decision rules rely on a small number of early ANC: at days 0, 4 and 5. They all achieve very good performances as evaluated by the percentage of true positives (sensitivity) and true negatives (specificity).

The first decision rules evaluate the risk of experiencing high grade/severe neutropenia from early ANC at days 0, 4 and 5. Then, a delayed G-CSF administration at day 5 is considered for at-risk patients to prevent this event from occurring. Classic dosing times of G-CSF are 24 hours or 24 to 72 hours after the last day of chemotherapy for pegylated and daily formulations, respectively (3, 28). Other schedules have been studied in humans and laboratory animals, and a delayed administration is suggested in some studies (29-31). However, the proof of the efficacy of a delayed G-CSF treatment is not well established. Here our Monte Carlo simulations suggest that an administration of pegfilgrastim at day 5 is as efficient as the conventional administration of pegfilgrastim at day 1. Pegfilgrastim was chosen over filgrastim for the Monte Carlo simulation studies because previous clinical studies have reported equivalent or better efficacy for the pegylated formulation (32-34).

Clearly, the routine use of prophylactic G-CSF therapy is controversial given its cost and potential side effects (7). In our simulation studies, we also found that pegfilgrastim did not prevent prolonged high grade/severe neutropenia in all patients. More precisely, about half of the patients experiencing high grade neutropenia without G-CSF would not benefit from G-CSF administration on day 5. Although surprising, this finding is not inconsistent with the literature: several studies (3, 6, 7, 9) reported that G-CSF only reduced the occurrence of chemotherapy-associated febrile neutropenia but did not prevent febrile neutropenia or infections in all the patients. In this respect, we derived a second set of decision rules to guide G-CSF therapy for patients considered to be at risk for prolonged high grade neutropenia and hence febrile neutropenia.

Arbitrarily, we have chosen to establish decision rules that achieve similar sensitivity and specificity, but from a clinical point of view, predictive positive/negative values are the sole criteria of interest. Recall that the predictive positive value is the probability to experience the event that the decision rule aims to predict when the decision rule gives a positive result. Inversely, the predictive negative value is the probability not to experience this event when the decision rule gives a negative result. The higher the sensitivity and specificity, the higher the predictive values. For all the decision rules proposed in the article, both sensitivity and specificity were above 80% (and above 90% in most cases). Predictive values also depend on the pre-test probability which is the probability for a given patient to experience the targeted event. This pre-test probability is driven by the clinician's evaluation of the patient taking into account the available guidelines. From a medical point of view, the negative predictive value is of major interest in our case. Indeed, we do not want the decision rules to miss patients that would need G-CSF. If we consider as an example a pre-test probability of 20% (i.e. the threshold in EORTC guidelines) and a sensitivity/specificity of 90%/90%, we obtain a negative predictive value of 97%. From an economical point of view, it would be more interesting to increase the predictive positive value. It is possible to optimize one of these two aspects (clinical or economical) using other decision rules leading to different sensitivity and specificity.

Note that all Monte Carlo simulations were deliberately performed without noise (i.e., without residual error). This means that we assumed that model departure from the data was negligible and, more importantly, that there was no measurement error for ANC. While the first assumption is supported by the quality of data fitting in our previous work (cf. Article I), the second assumption depends only on (pre)analytical performance and can be minored under good clinical practice.

Early prediction of prolonged high grade neutropenia and febrile neutropenia is a critical point for the oncologists. As stated in the introduction, several guidelines have been proposed to compute the individual risk of experiencing febrile neutropenia (3, 12, 13). This risk is calculated from covariates such as tumor type, chemotherapy regimen and patient-related risk factors (age, gender, stage, previous febrile neutropenia, comorbidities, performance/nutritional status). In population pharmacokinetic/pharmacodynamic

modeling, it has been shown that covariate-based individual predictions can be refined substantially by taking into account the first observations in the patient (18, 19). This strategy relies on individual model predictions and has been widely applied to adjust chemotherapy dosing regimen (35-39). Briefly, the dose of cytotoxic drug at cycle 1 is adjusted on patient's characteristics (body surface area, or renal covariates for carboplatin) and is further refined at cycle 2 using blood cell counts at cycle 1. Here, we globally use the same approach but apply it to G-CSF in order to prevent prolonged high grade neutropenia at cycle 1, i.e., the most critical period with respect to febrile neutropenia events (17, 20, 21). The other difference with common model-based approaches is that we do not compute individual predictions of pharmacokinetic/pharmacodynamic parameters but use directly ANC to establish our decision rules. Additional logistic regression analyses using the true values of individual pharmacokinetic/pharmacodynamic parameters (individual ANC baseline, *Base*, mean maturation time, *MTT*, and carboplatin myelotoxicity, *Slope*) showed that ANC_0 , ANC_4 and ANC_5 were better predictors as *Base*, *Slope* and *MTT* with better ROC curves in most cases (not shown). We deduce that ANC_0 , ANC_4 and ANC_5 integrate globally the information about the shape and starting point of ANC-time profile following initiation of chemotherapy.

CONCLUSION

The proposed decision rules are easy to use by oncologists in their clinical practice. They target the individual patient with respect to the risk of experiencing high grade neutropenia and the potential beneficial effect of G-CSF administration. They are therefore complementary to the existing general guidelines around the prediction of febrile neutropenia risk and the prophylactic use of G-CSF. While our approach is truly innovative, our findings need of course to be confirmed by prospective studies for carboplatin and other cytotoxic drugs and other aspects of toxicity might be investigated.

We have no competing interest to declare.

REFERENCES

1. Cameron D. Management of chemotherapy-associated febrile neutropenia. *Br J Cancer*. 2009 (suppl 1);101:S18-S22.
2. Lyman GH and Kuderer NM. Epidemiology of febrile neutropenia. *Support Cancer Ther*. 2003;1:23-35.
3. Aapro MS, Bohlius J, Cameron DA, Dal Lago L, Donnelly JP, Kearney N, et al. 2010 update of EORTC guidelines for the use of granulocyte-colony stimulating factor to reduce the incidence of chemotherapy-induced febrile neutropenia in adult patients with lymphoproliferative disorders and solid tumours. *Eur J Cancer*. 2011;47:8-32.
4. Bodey GP, Buckley M, Sathe YS, and Freireich EJ. Quantitative relationships between circulating leukocytes and infection in patients with acute leukemia. *Ann Intern Med*. 1966;64:328-340.
5. Crawford J, Dale DC, and Lyman GH. Chemotherapy-induced neutropenia: risks, consequences, and new directions for its management. *Cancer*. 2004;100:228-237.
6. Kelly S and Wheatley D. Prevention of febrile neutropenia: use of granulocyte colony-stimulating factors. *Br J Cancer*. 2009 (suppl 1);101:S6-S10.
7. Aapro M, Crawford J, and Kamioner D. Prophylaxis of chemotherapy-induced febrile neutropenia with granulocyte colony-stimulating factors: where are we now? *Support Care Cancer*. 2010;18:529-541.
8. Segal BH, Freifeld AG, Baden LR, Brown AE, Casper C, Dubberke E, et al. Prevention and treatment of cancer-related infections. *J Natl Compr Canc Netw*. 2008;6:122-174.
9. Cooper KL, Madan J, Whyte S, Stevenson MD, and Akehurst RL. Granulocyte colony-stimulating factors for febrile neutropenia prophylaxis following chemotherapy: systematic review and meta-analysis. *BMC Cancer*. 2011;11:404.

10. Lord BI, Bronchud MH, Owens S, Chang J, Howell A, Souza L, and Dexter TM. The kinetics of human granulopoiesis following treatment with granulocyte colony-stimulating factor in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1989;86:9499-9503.
11. Price TH, Chatta GS, and Dale DC. Effect of recombinant granulocyte colony-stimulating factor on neutrophil kinetics in normal young and elderly humans. *Blood.* 1996;88:335-340.
12. Aapro MS, Cameron DA, Pettengell R, Bohlius J, Crawford J, Ellis M, et al. EORTC guidelines for the use of granulocyte-colony stimulating factor to reduce the incidence of chemotherapy-induced febrile neutropenia in adult patients with lymphomas and solid tumours. *Eur J Cancer.* 2006;42:2433-2453.
13. Smith TJ, Khatcheressian J, Lyman GH, Ozer H, Armitage JO, Balducci L, et al. 2006 update of recommendations for the use of white blood cell growth factors: an evidence-based clinical practice guideline. *J Clin Oncol.* 2006;24:3187-3205.
14. Friberg LE and Karlsson MO. Mechanistic models for myelosuppression. *Invest New Drugs.* 2003;21:183-194.
15. Shochat E, Rom-Kedar V, and Segel LA. G-CSF control of neutrophils dynamics in the blood. *Bull Math Biol.* 2007;69:2299-2338.
16. Testart-Paillet D, Girard P, You B, Freyer G, Pobel C, and Tranchand B. Contribution of modelling chemotherapy-induced hematological toxicity for clinical practice. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2007;63:1-11.
17. Hansson EK and Friberg LE. The shape of the myelosuppression time profile is related to the probability of developing neutropenic fever in patients with docetaxel-induced grade IV neutropenia. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2011.
18. Wallin JE, Friberg LE, and Karlsson MO. A tool for neutrophil guided dose adaptation in chemotherapy. *Comput Methods Programs Biomed.* 2009;93:283-291.

19. Wallin JE, Friberg LE, and Karlsson MO. Model-based neutrophil-guided dose adaptation in chemotherapy: evaluation of predicted outcome with different types and amounts of information. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2010;106:234-242.
20. Crawford J, Dale DC, Kuderer NM, Culakova E, Poniewierski MS, Wolff D, and Lyman GH. Risk and timing of neutropenic events in adult cancer patients receiving chemotherapy: the results of a prospective nationwide study of oncology practice. *J Natl Compr Canc Netw*. 2008;6:109-118.
21. Lyman GH and Delgado DJ. Risk and timing of hospitalization for febrile neutropenia in patients receiving CHOP, CHOP-R, or CNOP chemotherapy for intermediate-grade non-Hodgkin lymphoma. *Cancer*. 2003;98:2402-2409.
22. Schmitt A, Gladiëff L, Lansiaux A, Bobin-Dubigeon C, Etienne-Grimaldi MC, Boisdron-Celle M, et al. A universal formula based on cystatin C to perform individual dosing of carboplatin in normal weight, underweight, and obese patients. *Clin Cancer Res*. 2009;15:3633-3639.
23. Krzyzanski W, Wiczling P, Lowe P, Pigeolet E, Fink M, Berghout A, and Balsler S. Population modeling of filgrastim PK-PD in healthy adults following intravenous and subcutaneous administrations. *J Clin Pharmacol*. 2010;50:101S-112S.
24. Roskos LK, Lum P, Lockbaum P, Schwab G, and Yang BB. Pharmacokinetic/pharmacodynamic modeling of pegfilgrastim in healthy subjects. *J Clin Pharmacol*. 2006;46:747-757.
25. Friberg LE, Henningsson A, Maas H, Nguyen L, and Karlsson MO. Model of chemotherapy-induced myelosuppression with parameter consistency across drugs. *J Clin Oncol*. 2002;20:4713-4721.
26. Yang BB, Lum PK, Hayashi MM, and Roskos LK. Polyethylene glycol modification of filgrastim results in decreased renal clearance of the protein in rats. *J Pharm Sci*. 2004;93:1367-1373.

27. Scholz M, Schirm S, Wetzler M, Engel C, and Loeffler M. Pharmacokinetic and -dynamic modelling of G-CSF derivatives in humans. *Theor Biol Med Model.* 2012;9:32.
28. Crawford J, Caserta C, and Roila F. Hematopoietic growth factors: ESMO recommendations for the applications. *Ann Oncol.* 2009;20 Suppl 4:162-165.
29. Morstyn G, Campbell L, Lieschke G, Layton JE, Maher D, O'Connor M, et al. Treatment of chemotherapy-induced neutropenia by subcutaneously administered granulocyte colony-stimulating factor with optimization of dose and duration of therapy. *J Clin Oncol.* 1989;7:1554-1562.
30. Meisenberg BR, Davis TA, Melaragno AJ, Stead R, and Monroy RL. A comparison of therapeutic schedules for administering granulocyte colony-stimulating factor to nonhuman primates after high-dose chemotherapy. *Blood.* 1992;79:2267-2272.
31. Yankelevich M, Goodell MA, and Kaplan J. Efficacy of delayed administration of post-chemotherapy granulocyte colony-stimulating factor: evidence from murine studies of bone marrow cell kinetics. *Exp Hematol.* 2008;36:9-16.
32. Whyte S, Cooper KL, Stevenson MD, Madan J, and Akehurst R. Cost-effectiveness of granulocyte colony-stimulating factor prophylaxis for febrile neutropenia in breast cancer in the United Kingdom. *Value Health.* 2011;14:465-474.
33. Weycker D, Malin J, Barron R, Edelsberg J, Kartashov A, and Oster G. Comparative effectiveness of filgrastim, pegfilgrastim, and sargramostim as prophylaxis against hospitalization for neutropenic complications in patients with cancer receiving chemotherapy. *Am J Clin Oncol.* 2012;35:267-274.
34. Tan H, Tomic K, Hurley D, Daniel G, Barron R, and Malin J. Comparative effectiveness of colony-stimulating factors for febrile neutropenia: a retrospective study. *Curr Med Res Opin.* 2011;27:79-86.
35. Evene E, Chatelut E, Tranchand B, Canal P, Lochon I, Iliadis A, and Ardièr CJ. [Bayesian estimation of pharmacokinetic parameters of etoposide]. *Bull Cancer.* 1997;84:699-703.

36. Tranchand B, Amsellem C, Chatelut E, Freyer G, Iliadis A, Ligneau B, et al. A limited-sampling strategy for estimation of etoposide pharmacokinetics in cancer patients. *Cancer Chemother Pharmacol.* 1999;43:316-322.
37. Rousseau A, Marquet P, Debord J, Sabot C, and Lachatre G. Adaptive control methods for the dose individualisation of anticancer agents. *Clin Pharmacokinet.* 2000;38:315-353.
38. Barbolosi D and Iliadis A. Optimizing drug regimens in cancer chemotherapy: a simulation study using a PK-PD model. *Comput Biol Med.* 2001;31:157-172.
39. de Jonge ME, Huitema AD, Schellens JH, Rodenhuis S, and Beijnen JH. Individualised cancer chemotherapy: strategies and performance of prospective studies on therapeutic drug monitoring with dose adaptation: a review. *Clin Pharmacokinet.* 2005;44:147-173.

NOTATION SECTION

Abs_1 : absorption compartment for filgrastim/lenograstim

Abs_2 : absorption compartment for pegfilgrastim;

ANC : absolute neutrophil count (ANC_i : ANC at day i)

$Base$: baseline level of absolute neutrophil count

C_{carbo} : ultrafiltrable circulating concentration of carboplatin (plasma)

C_u : free circulating concentration controlling G-CSF effects on bone marrow, calculated as the sum of non-pegylated and pegylated G-CSF free circulating (serum) concentrations

C_{tot} : total circulating G-CSF concentration

$Circ$: circulating mature neutrophil count (=ANC)

E_{max1} : maximal effect of non-pegylated or pegylated G-CSF on proliferation

E_{max2} : maximal effect of non-pegylated or pegylated G-CSF on maturation

EC_{501} : value of C_u eliciting 50% of the maximal effect on proliferation

EC_{502} : value of C_u eliciting 50% of the maximal effect on maturation

$F1(F2)$: absolute bioavailability of filgrastim/lenograstim(pegfilgrastim) after subcutaneous administration (which, in the model, is taking into account via the apparent volume of distribution)

k : transit rate constant between compartments of granulopoiesis (function of C_u)

$$\left(k = k_{tr} \times \left(1 + \frac{E_{max} 2 \times C_u}{EC_{50} 2 + C_u} \right) \right)$$

$k_{a1(2)}$: absorption rate constant for filgrastim/lenograstim(pegfilgrastim)

k_{circ} : rate constant of elimination of neutrophils from the systemic blood circulation

K_D : dissociation constant of RC complex (= k_{off}/k_{on})

k_{el1} : rate constant for the linear, non-specific elimination of endogenous G-CSF and filgrastim/lenograstim

k_{el2} : rate constant for the linear, non-specific elimination of pegfilgrastim

k_{GCSF} : rate constant of endogenous G-CSF production

k_{int} : rate constant for non-pegylated or pegylated G-CSF elimination after binding to receptors and internalization

k_{prol} : proliferation rate constant

k_{tr} : "virtual" transit rate constant when $C_u=0$ (cf. k)

MTT : mean transit time for maturing precursors in bone marrow ($= 4/k_{tr}$)

$ProI$: stem cell and progenitor cell count (i.e., proliferative cells) in bone marrow
 R : concentration in free G-CSF receptors present on circulating neutrophils

R : concentration in G-CSF receptors present on circulating neutrophils

RC : concentration in bound G-CSF complex (pegylated and non-pegylated G-CSF)

R_{max} : maximal amount of receptors involved in nonlinear, specific clearance of pegylated and on-pegylated G-CSF ($=R + RC$)

ROC : receiver-operating characteristic

RSE : relative standard error

$Slope$: Sensitivity to carboplatin myelotoxicity

$Transit_{1,2,3}$: maturing granulocyte precursor count in transit compartments 1 , 2 and 3 respectively

$VD_{a1(2)}$: apparent volume of distribution of G-CSF (pegylated G-CSF) after subcutaneous administration of filgrastim/lenograstim (pegfilgrastim) ($VD_{1(2)}/F_{1(2)}$)

ξ : proportionality constant for the amount of G-CSF receptors per cell

Table I: Semi-mechanistic myelosuppression model used for simulations.

| | Model Parameters | Value [RSE%] | IIV [RSE%] | |
|----------------------------------|--|--|------------------------|---|
| PK-PD estimated parameters | Base = $\theta_1 \times (1 - CORT) + \theta_2 \times CORT$ CORT = 0 or 1 | $\theta_1 = 4.88 \times 10^9 / L$ [2.6%] $\theta_2 = 6.13 \times 10^9 / L$ [4.3%] | 30% [12%] | |
| | $\theta_{MTT_0} = \theta_3$ | $\theta_3 = 185$ h [4.2%] | 21% [20%] | |
| | Slope = θ_5 | $\theta_5 = 0.0161$ [3.9%] L/(mg.h) | 22% [56%] | |
| | | IOV = 34% [19%] | | |
| | E_{max2} = θ_6 | $\theta_6 = 3.73$ [17%] | - | |
| | EC₅₀₁ = θ_7 | $\theta_7 = 0.0763$ ng/mL [14%] | - | |
| | EC₅₀₂ = θ_8 | $\theta_8 = 0.402$ ng/mL [15%] | - | |
| | Residual variability | 52.1% [2.1%] | - | |
| | PK parameters of G-CSF (fixed as in (29) and (32)) | k_{a1} | 0.0228 h ⁻¹ | - |
| | | k_{a2} | 0.651 h ⁻¹ | - |
| VD_{a1} | | 5.07 L | - | |
| VD_{a2} | | 4.02 L | - | |
| k_{int} | | 0.105 h ⁻¹ | - | |
| k_{el1} | | 0.152 h ⁻¹ | - | |
| k_{el2} | | 0.2 x k _{el1} h ⁻¹ | - | |
| k_D | | 1.44 ng/mL | - | |
| ξ | | 0.181 fg/cell | - | |
| | E_{max1} | 34.7 | - | |

IIV: interindividual variability; IOV: intraindividual (interoccasion) variability; *Base*: baseline level of absolute neutrophil count; *CORT* = 1 means that the patients received multiple administration of corticosteroids (> 4 days) (*CORT* = 0 otherwise); θ_{MTT_0} : population parameter for mean transit time at baseline (MTT_0) such that $MTT_0 = \theta_{MTT_0} / H_{20}$ where H_{20} is the Hill function for the effect of free G-CSF

on maturation rate (see Appendix 2 for more details); *Slope*: sensitivity to carboplatin cytotoxicity; $E_{max1(2)}$: maximal effect of G-CSF on proliferation (maturation); $EC_{501(2)}$: free G-CSF concentration eliciting 50% of the maximal effect on proliferation (maturation); $k_a1(2)$: absorption rate constant for the daily (pegylated) formulation; $VD_a1(2)$: apparent volume of distribution for the daily (pegylated) formulation; k_{int} : rate constant for non-pegylated and pegylated G-CSF elimination after binding to receptors and internalization; k_{el1} : rate constant for the linear, non-specific elimination of endogenous G-CSF and filgrastim/lenograstim; k_{el2} : rate constant for the linear, non-specific elimination of pegfilgrastim; K_D : dissociation constant of RC complex; ξ : proportionality constant for the amount of G-CSF receptors per cell.

Table II: Decision rules to identify at-risk patients for neutropenia in the first treatment cycle.

Prolonged neutropenia means a neutropenia lasting for three days or more. The patient is considered at risk when the decision rule equation gives a positive value.

| Prediction of patients at cycle 1 with | Decision rule equation | Se/Sp |
|--|--|-----------|
| Prolonged grade 3-4 neutropenia | $6.545 - 2.671 \times \log(\text{ANC}_0) + 39.909 \times \log(\text{ANC}_4) - 48.967 \times \log(\text{ANC}_5) > 0$ | 0.95/0.95 |
| Prolonged grade 4 neutropenia | $-4.470 - 5.568 \times \log(\text{ANC}_0) + 45.158 \times \log(\text{ANC}_4) - 47.414 \times \log(\text{ANC}_5) > 0$ | 0.96/0.96 |

Se: sensitivity; Sp: specificity; ANC_0 : absolute neutrophil count at day 0 (baseline), i.e., on the day of carboplatin administration; ANC_4 : absolute neutrophil count at day 4; ANC_5 : absolute neutrophil count at day 5. Prolonged neutropenia means a neutropenia lasting three days or more.

Table III: Contingency tables built from Monte Carlo simulations.

| Risk of prolonged grade 3-4 neutropenia | | Patients with pegfilgrastim at day 5 (%) | |
|--|-------|--|-------------|
| | | No* | Yes** |
| Patients without pegfilgrastim (%) | No* | 8591 (81.8%) | 0 (0.0%) |
| | Yes** | 900 (8.6%) | 1009 (9.6%) |

| Risk of prolonged grade 4 neutropenia | | Patients with pegfilgrastim at day 5(%) | |
|--|-------|---|------------|
| | | No* | Yes** |
| Patients without pegfilgrastim (%) | No* | 9891 (94.2%) | 0 (0.0%) |
| | Yes** | 292 (2.8%) | 317 (3.0%) |

*: patients who are not at risk for prolonged (at least 3 days) grade 3-4 (or grade 4).

** : patients who are at risk for prolonged grade 3-4 (or grade 4).

For instance, 18.2% (i.e. 8.6 plus 9.6%) of patients have a risk to experience prolonged high grade (grade 3 and 4) neutropenia without G-CSF. This risk is reduced to 9.6% when pegfilgrastim is administered at day 5 (5 days after carboplatin administration).

Table IV: Decision rules to identify patients for whom G-CSF administration at day 5 would prevent prolonged high grade neutropenia.

Prolonged neutropenia means a neutropenia lasting for three days or more. G-CSF is given as pegfilgrastim (single 6-mg dose by subcutaneous route). The patient would benefit from G-CSF administration when the decision rule equation gives a positive value.

| Prediction of beneficial effect of pegfilgrastim regarding | Decision rule equation | Se/Sp |
|--|---|-----------|
| Prolonged grade 3-4 neutropenia | $4.473 + 2.530 \times \log(\text{ANC}_0) - 7.140 \times \log(\text{ANC}_4) + 2.694 \times \log(\text{ANC}_5) > 0$ | 0.82/0.83 |
| Prolonged grade 4 neutropenia | $0.946 + 0.722 \times \log(\text{ANC}_0) + 3.866 \times \log(\text{ANC}_4) - 6.651 \times \log(\text{ANC}_5) > 0$ | 0.92/0.92 |

Se: sensitivity; Sp: specificity; ANC0: absolute neutrophil count at day 0 (baseline) i.e. on the day of carboplatin administration; ANC4: absolute neutrophil count at day 4; ANC5: absolute neutrophil count at day 5.

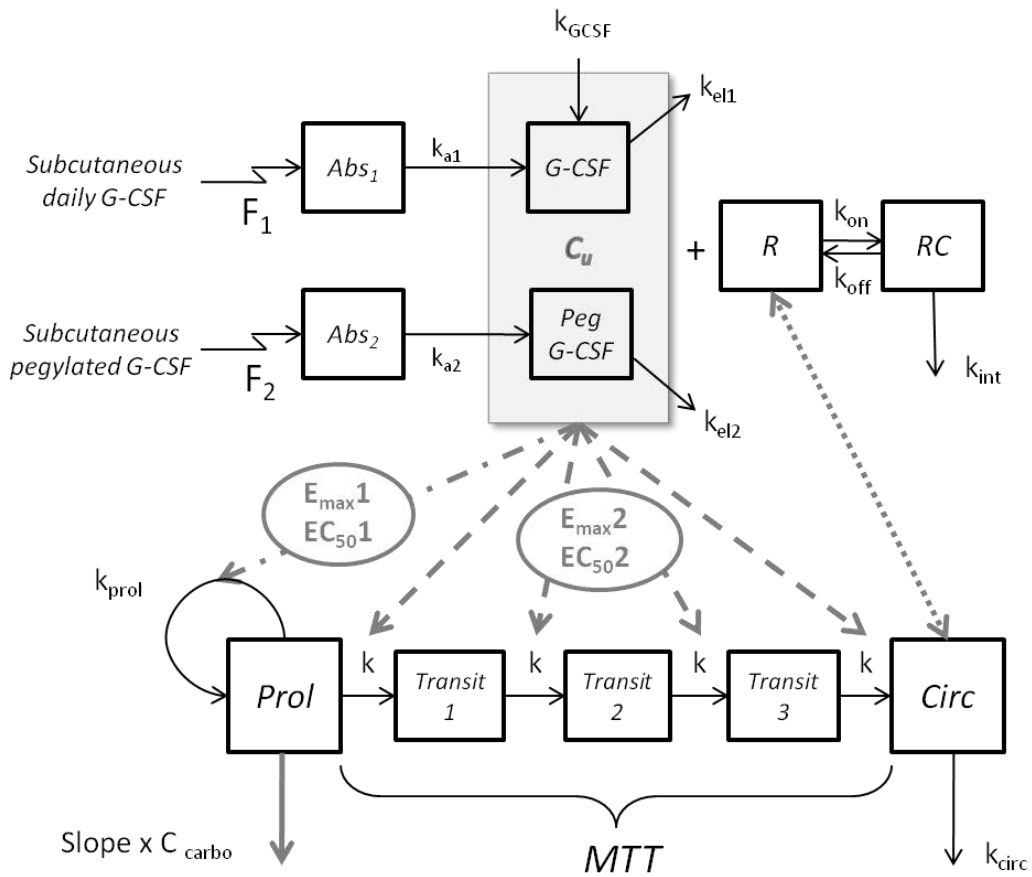


Figure 1:

PK/PD model describing the neutropenic effect of carboplatin with G-CSF-based feedback mechanism. The effect of G-CSF (pegylated or non-pegylated form) on proliferation and maturation processes in bone marrow were assumed to be driven by the free circulating G-CSF concentration. Standard E_{max} models were used for that purpose (see Appendix for more details). The G-CSF receptor complex RC in blood was assumed to be pharmacologically inactive.

All abbreviations have been already been defined in Article 1.

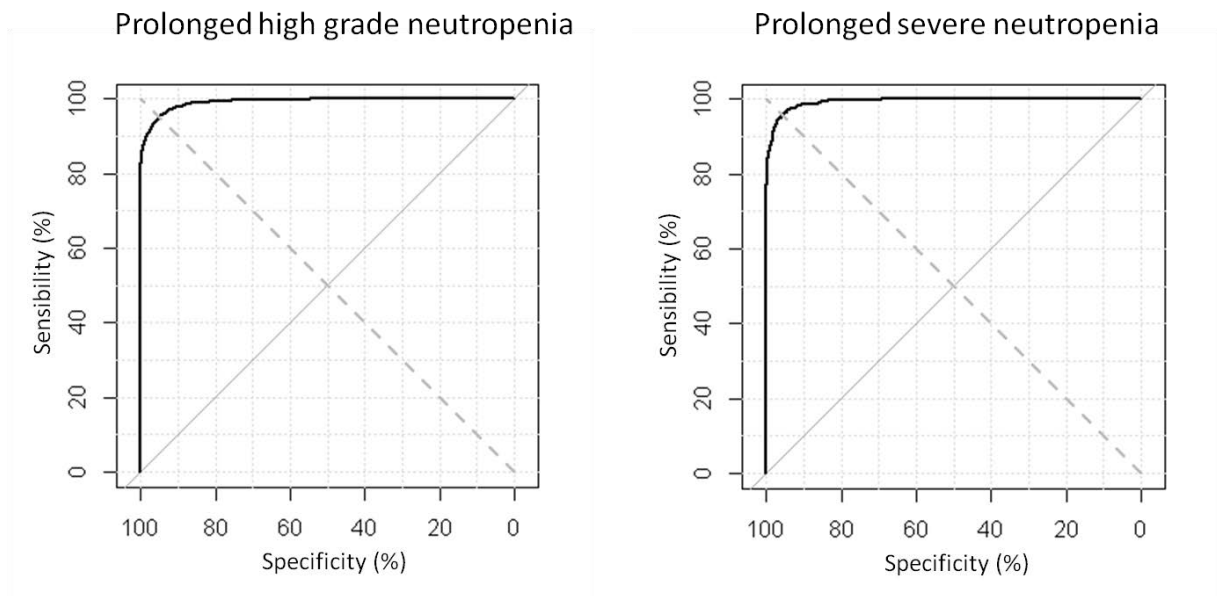


Figure 2: Receiver-operating characteristic (ROC) curves for the decision rules to identify at-risk patients for prolonged (at least 3 days) neutropenia at cycle 1. Left: ROC curve for the prediction of high grade neutropenia, i.e., grade 3 and 4; right: ROC curve for the prediction of severe neutropenia, i.e., grade 4. In all cases, the best predictors were ANC at day 0 (ANC_0), day 4 (ANC_4) and day 5 (ANC_5).

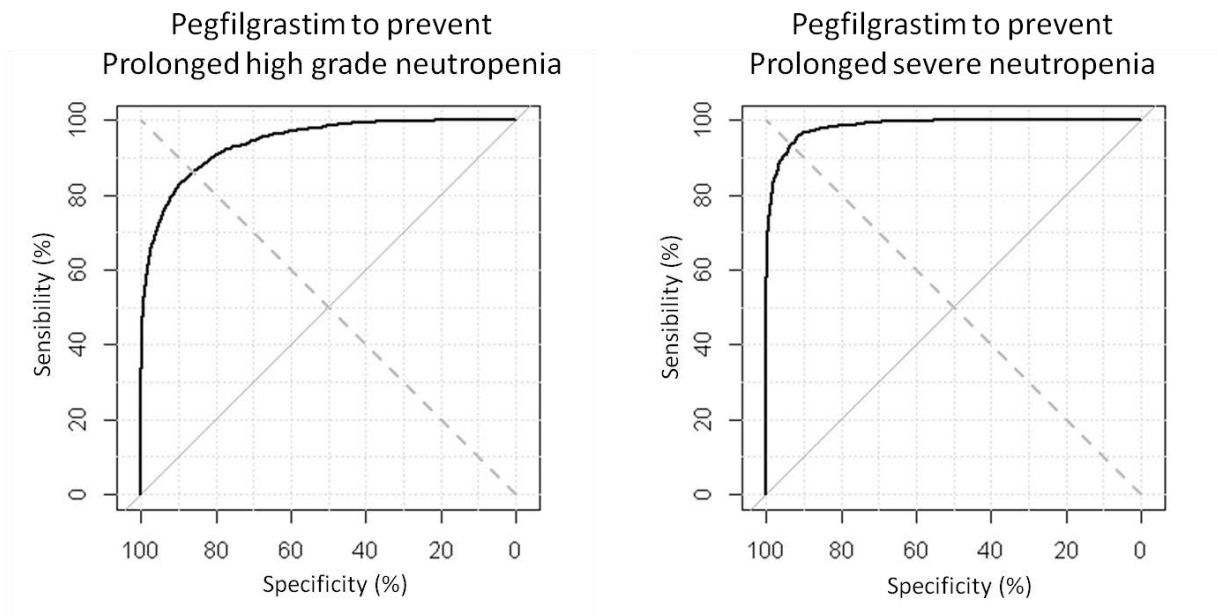


Figure 3: Receiver-operating characteristic curves for the decision rules to identify for whom G-CSF administration at day 5 would prevent prolonged (at least 3 days) neutropenia at cycle 1. Left: ROC curve for the prediction of the prevention of high grade neutropenia, i.e., grade 3 and 4; right: ROC curve for the prediction of the prevention of severe neutropenia, i.e., grade 4. In all cases, the best predictors were ANC at day 0 (ANC_0), day 4 (ANC_4) and day 5 (ANC_5).

4.2 Résultats complémentaires

Afin d'établir les différentes règles de décision de l'Article 2, plusieurs séries de variables explicatives ont été évaluées. Concernant les numérations de neutrophiles, les valeurs au jour 0 (ANC_0) et au jour 5 (ANC_5) ont à chaque fois été prises en compte. La valeur basale (ANC_0) est en pratique systématiquement disponible car elle permet de vérifier que les médicaments anticancéreux peuvent être administrés (le patient doit avoir une quantité suffisante de granulocytes neutrophiles). Quant à la valeur au jour 5, elle a été choisie comme la valeur mesurable la plus tardive avant une administration prophylactique potentielle de G-CSF (réalisée avant le nadir qui survient généralement entre le jour 7 et le jour 10). Pour être compatible avec la pratique courante, le nombre de variables explicatives de la régression logistique (donc de prélèvements sanguins) ne doit pas être trop important. C'est pourquoi nous avons établi ces régressions logistiques avec seulement 3 numérations. Le choix de la troisième numération s'est donc appuyé sur la comparaison des courbes ROC (receiver-operating characteristic) obtenues avec différents trios de numérations (Figure 15 et Figure 16). Pour chacune des règles de décision, il s'est avéré que c'est l'association ANC_0 , ANC_4 et ANC_5 qui était la plus pertinentes.

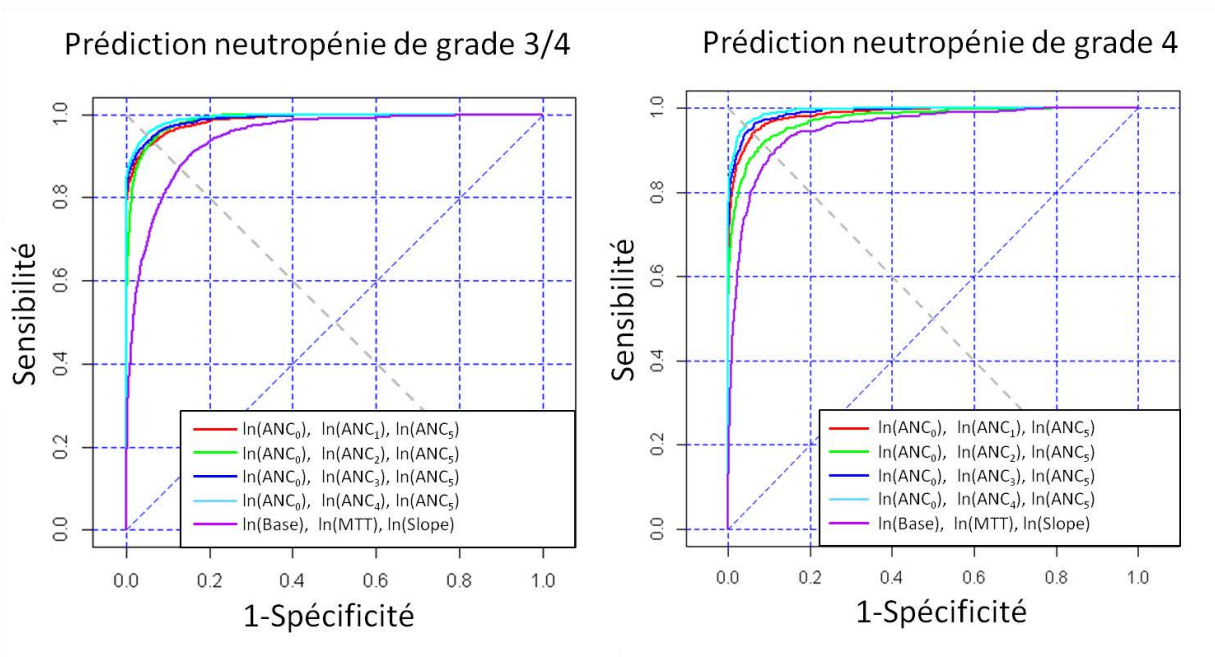


Figure 15 : Courbes ROC (receiver-operating characteristic) pour les règles de décision permettant l'identification des neutropénies de haut grade (grades 3 et 4, à gauche) et de longue durée (au moins 3 jours) et des neutropénies sévères (grade 4, à droite) de longue durée

Notons que pour chacune des règles, les valeurs simulées pour les paramètres PK/PD individuels (*Base*, *MTT*, *Slope*) sont de moins bonnes variables explicatives que les numérations de neutrophiles (Figure 15 et Figure 16).

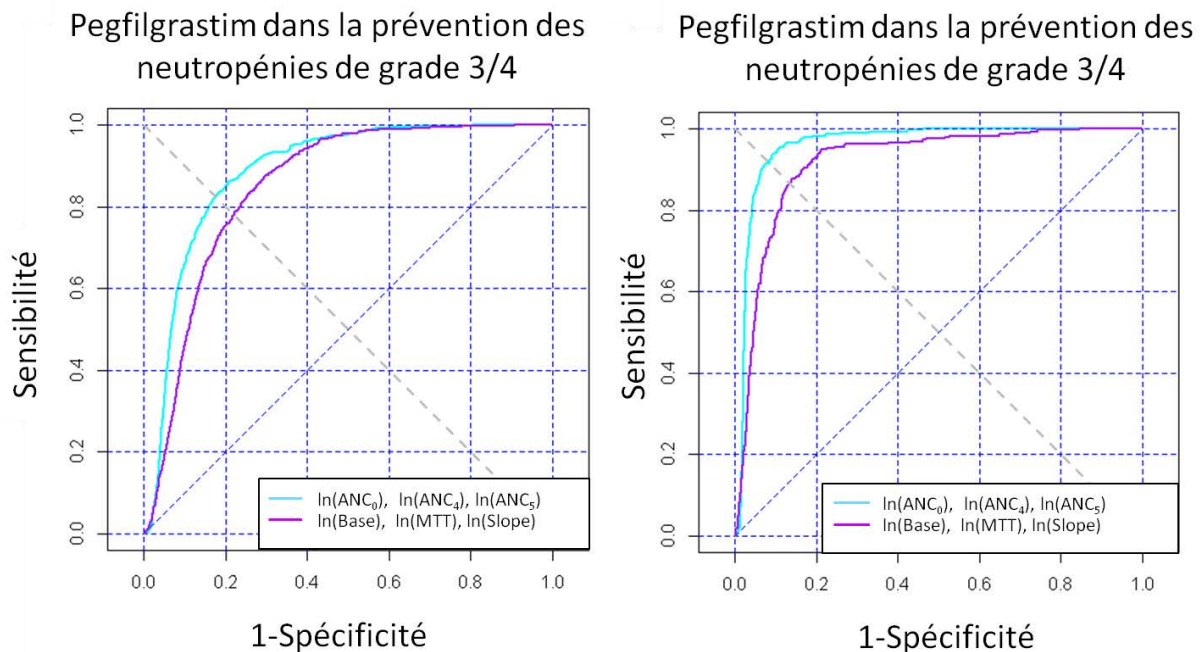


Figure 16 : Courbes ROC (receiver-operating characteristic) pour les règles de décision permettant d'identifier les patients pour lesquels une administration de pegfilgrastim au jour 5 permettrait de prévenir une neutropénie de haut grade (grades 3 et 4, à gauche) et de longue durée (au moins 3 jours) et une neutropénie sévère (grade 4, à droite) de longue durée

Nous avons également voulu savoir si l'administration de pegfilgrastim au jour 5 pouvait permettre d'obtenir une numération de neutrophiles suffisante ($> 1,5 \cdot 10^9/L$) pour autoriser un traitement anticancéreux au jour 21 (début théorique du deuxième cycle). Les courbes ROC correspondant aux différentes règles de décision évaluées sont présentées dans la Figure 17. Nous pouvons constater que les performances de ces règles de décision sont moins bonnes que les précédentes (sensibilité et spécificité de 72%). En outre, les patients améliorés d'un point de vue neutropénie au nadir ne sont pas les mêmes qui sont améliorés d'un point de vue neutropénie au début du deuxième cycle. Ceci signifie que le

pegfilgrastim administré au jour 5 ne peut pas à la fois avoir un effet bénéfique sur le nadir et sur la numération des neutrophiles au début du deuxième cycle.

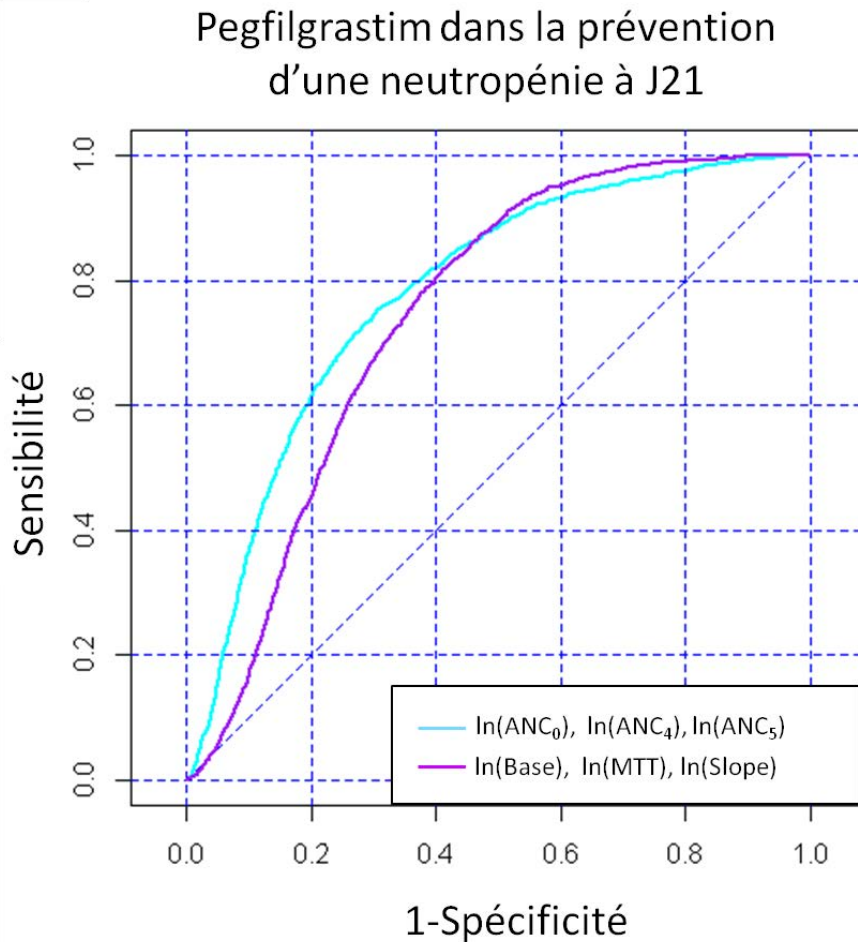


Figure 17 : Courbes ROC (receiver-operating characteristic) pour les règles de décision permettant d'identifier les patients pour lesquels une administration de pegfilgrastim au jour 5 permettrait de prévenir une neutropénie $< 1,5 \cdot 10^9/L$ au jour 21 (début théorique du second cycle)

4.3 Discussion et perspectives

Les règles de décision proposées dans l'Article 2 seraient faciles à utiliser par les oncologues dans la pratique courante puisqu'elles reposent simplement sur 3 numérations de neutrophiles. Elles sont en outre applicables dès le premier cycle de

chimiothérapie, pour lequel le risque de survenue d'une neutropénie fébrile est majoré. Elles sont complémentaires des recommandations existantes à propos de la conduite à tenir face à un risque de neutropénie fébrile à propos de l'utilisation prophylactique de G-CSF. Bien que notre approche soit innovante, nos résultats nécessitent d'être validés par des études prospectives dans le cadre de l'utilisation de carboplatine. Il s'agira également d'évaluer la robustesse des résultats accumulés face à d'autres associations cytotoxiques (autres que celles incluant le carboplatine). D'autres types de toxicité (thrombopénie par exemple) pourront aussi être explorés.

Conclusions et perspectives

Le travail présenté dans ce manuscrit avait pour objectif de développer un modèle de myelosuppression qui soit plus physiologique que le modèle de Friberg¹, qui est actuellement le plus utilisé en oncologie. Ce modèle, développé par une approche de population, est capable de décrire l'effet du carboplatine sur les granulocytes neutrophiles en tenant compte de l'effet du G-CSF endogène et en autorisant l'inclusion de sujets ayant reçu du G-CSF exogène.

Le modèle proposé, même s'il apparaît plus physiologique que le modèle de Friberg¹, possède une limite importante qui est l'absence de mesure des concentrations de G-CSF sérique, nous conduisant à utiliser des données de la littérature. Néanmoins, les prédictions obtenues grâce à ce modèle semblent raisonnables et les outils d'évaluation montrent des résultats tout à fait acceptables.

Le modèle que nous avons développé suggère un certain nombre de questions d'ordre clinique. Il amène tout d'abord à s'interroger sur l'effet bénéfique systématique d'un traitement au G-CSF, quelle que soit la formulation (pégylée ou non). Étant donné le coût du G-CSF et ses effets indésirables potentiels, l'utilisation systématique de G-CSF est déjà déconseillée par les recommandations internationales actuelles. Ces recommandations sont basées sur un certain nombre de critères permettant d'évaluer le risque de neutropénie fébrile chez un patient donné et de déterminer l'intérêt d'une administration prophylactique de G-CSF. Ici, nous proposons des règles de décision complémentaires. Ces règles de décision ont pour objectif de prédire le risque de neutropénie fébrile et d'identifier les patients pour lesquels une administration de pegfilgrastim permettrait de prévenir une neutropénie de haut grade et de longue durée pouvant induire une neutropénie fébrile. Ces règles de décision ont l'avantage d'être faciles à utiliser par les oncologues et applicables dès le premier cycle de chimiothérapie, pour lequel le risque de survenue d'une neutropénie fébrile est majoré.

D'autre part, les simulations obtenues avec notre modèle suggèrent que le pegfilgrastim permettrait une neutropénie moins longue et moins intense que les

formulations nécessitant une administration quotidienne. Le pegfilgrastim serait donc à préférer aux autres formulations.

D'autres études sont bien évidemment nécessaires afin de confirmer nos résultats parce qu'ils reposent sur des données de la littérature et sur certaines hypothèses qui méritent d'être étayées. Des études prospectives, avec mesure de la concentration en G-CSF sérique, sont à réaliser lors d'utilisation de carboplatine mais aussi d'autres cytotoxiques. La modélisation PK/PD par une approche de population pourrait être utilisée dans de tels travaux prospectifs afin de rechercher les covariables qui permettraient d'identifier les patients pour lesquels le G-CSF serait bénéfique. D'autres types de toxicité (thrombopénie par exemple) pourraient également être explorés.

Bibliographie

1. Friberg LE, Henningson A, Maas H, et al. Model of chemotherapy-induced myelosuppression with parameter consistency across drugs. *J Clin Oncol* 2002;**20**:4713-21.
2. Schmitt A, Gladieff L, Lansiaux A, et al. A universal formula based on cystatin C to perform individual dosing of carboplatin in normal weight, underweight, and obese patients. *Clin Cancer Res* 2009;**15**:3633-9.
3. Schmitt A, Gladieff L, Laffont CM, et al. Factors for hematopoietic toxicity of carboplatin: refining the targeting of carboplatin systemic exposure. *J Clin Oncol* 2010;**28**:4568-74.
4. Metcalf D. Hematopoietic cytokines. *Blood* 2008;**111**:485-91.
5. Demetri GD, Griffin JD. Granulocyte colony-stimulating factor and its receptor. *Blood* 1991;**78**:2791-808.
6. Anderlini P, Champlin RE. Biologic and molecular effects of granulocyte colony-stimulating factor in healthy individuals: recent findings and current challenges. *Blood* 2008;**111**:1767-72.
7. Nicola NA, Metcalf D, Matsumoto M, et al. Purification of a factor inducing differentiation in murine myelomonocytic leukemia cells. Identification as granulocyte colony-stimulating factor. *J Biol Chem* 1983;**258**:9017-23.
8. Metcalf D. Control of granulocytes and macrophages: molecular, cellular, and clinical aspects. *Science* 1991;**254**:529-33.
9. Souza LM, Boone TC, Gabilove J, et al. Recombinant human granulocyte colony-stimulating factor: effects on normal and leukemic myeloid cells. *Science* 1986;**232**:61-5.
10. Price TH, Chatta GS, Dale DC. Effect of recombinant granulocyte colony-stimulating factor on neutrophil kinetics in normal young and elderly humans. *Blood* 1996;**88**:335-40.

11. Lord BI, Bronchud MH, Owens S, et al. The kinetics of human granulopoiesis following treatment with granulocyte colony-stimulating factor in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1989;**86**:9499-503.
12. Begley CG, Lopez AF, Nicola NA, et al. Purified colony-stimulating factors enhance the survival of human neutrophils and eosinophils in vitro: a rapid and sensitive microassay for colony-stimulating factors. *Blood* 1986;**68**:162-6.
13. Williams GT, Smith CA, Spooner E, et al. Haemopoietic colony stimulating factors promote cell survival by suppressing apoptosis. *Nature* 1990;**343**:76-9.
14. Colotta F, Re F, Polentarutti N, et al. Modulation of granulocyte survival and programmed cell death by cytokines and bacterial products. *Blood* 1992;**80**:2012-20.
15. Rex JH, Bhalla SC, Cohen DM, et al. Protection of human polymorphonuclear leukocyte function from the deleterious effects of isolation, irradiation, and storage by interferon-gamma and granulocyte-colony-stimulating factor. *Transfusion* 1995;**35**:605-11.
16. Liu F, Wu HY, Wesselschmidt R, et al. Impaired production and increased apoptosis of neutrophils in granulocyte colony-stimulating factor receptor-deficient mice. *Immunity* 1996;**5**:491-501.
17. Avalos BR, Gasson JC, Hedvat C, et al. Human granulocyte colony-stimulating factor: biologic activities and receptor characterization on hematopoietic cells and small cell lung cancer cell lines. *Blood* 1990;**75**:851-7.
18. Avalos BR. Molecular analysis of the granulocyte colony-stimulating factor receptor. *Blood* 1996;**88**:761-77.
19. Khwaja A, Carver J, Jones HM, et al. Expression and dynamic modulation of the human granulocyte colony-stimulating factor receptor in immature and differentiated myeloid cells. *Br J Haematol* 1993;**85**:254-9.
20. Budel LM, Touw IP, Delwel R, et al. Granulocyte colony-stimulating factor receptors in human acute myelocytic leukemia. *Blood* 1989;**74**:2668-73.

21. Hanazono Y, Hosoi T, Kuwaki T, et al. Structural analysis of the receptors for granulocyte colony-stimulating factor on neutrophils. *Exp Hematol* 1990;**18**:1097-103.
22. Metcalf D. The colony-stimulating factors and cancer. *Nat Rev Cancer* 2010;**10**:425-34.
23. Layton JE, Hockman H, Sheridan WP, et al. Evidence for a novel in vivo control mechanism of granulopoiesis: mature cell-related control of a regulatory growth factor. *Blood* 1989;**74**:1303-7.
24. Takatani H, Soda H, Fukuda M, et al. Levels of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor in serum are inversely correlated with circulating neutrophil counts. *Antimicrob Agents Chemother* 1996;**40**:988-91.
25. Terashi K, Oka M, Ohdo S, et al. Close association between clearance of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) and G-CSF receptor on neutrophils in cancer patients. *Antimicrob Agents Chemother* 1999;**43**:21-4.
26. Lyman GH, Morrison VA, Dale DC, et al. Risk of febrile neutropenia among patients with intermediate-grade non-Hodgkin's lymphoma receiving CHOP chemotherapy. *Leuk Lymphoma* 2003;**44**:2069-76.
27. Lyman GH, Delgado DJ. Risk and timing of hospitalization for febrile neutropenia in patients receiving CHOP, CHOP-R, or CNOP chemotherapy for intermediate-grade non-Hodgkin lymphoma. *Cancer* 2003;**98**:2402-9.
28. Lyman GH, Dale DC, Friedberg J, et al. Incidence and predictors of low chemotherapy dose-intensity in aggressive non-Hodgkin's lymphoma: a nationwide study. *J Clin Oncol* 2004;**22**:4302-11.
29. Timmer-Bonte JN, de Boo TM, Smit HJ, et al. Prevention of chemotherapy-induced febrile neutropenia by prophylactic antibiotics plus or minus granulocyte colony-stimulating factor in small-cell lung cancer: a Dutch Randomized Phase III Study. *J Clin Oncol* 2005;**23**:7974-84.

30. Vogel CL, Wojtukiewicz MZ, Carroll RR, et al. First and subsequent cycle use of pegfilgrastim prevents febrile neutropenia in patients with breast cancer: a multicenter, double-blind, placebo-controlled phase III study. *J Clin Oncol* 2005;**23**:1178-84.
31. Crawford J, Dale DC, Kuderer NM, et al. Risk and timing of neutropenic events in adult cancer patients receiving chemotherapy: the results of a prospective nationwide study of oncology practice. *J Natl Compr Canc Netw* 2008;**6**:109-18.
32. Crawford J, Caserta C, Roila F. Hematopoietic growth factors: ESMO Clinical Practice Guidelines for the applications. *Ann Oncol* 2010;**21 Suppl 5**:v248-51.
33. Hughes WT, Armstrong D, Bodey GP, et al. 2002 guidelines for the use of antimicrobial agents in neutropenic patients with cancer. *Clin Infect Dis* 2002;**34**:730-51.
34. Padilla G, Ropka ME. Quality of life and chemotherapy-induced neutropenia. *Cancer Nurs* 2005;**28**:167-71.
35. Wagner LI, Beaumont JL, Ding B, et al. Measuring health-related quality of life and neutropenia-specific concerns among older adults undergoing chemotherapy: validation of the Functional Assessment of Cancer Therapy-Neutropenia (FACT-N). *Support Care Cancer* 2008;**16**:47-56.
36. Cameron D. Management of chemotherapy-associated febrile neutropenia. *Br J Cancer* 2009 (suppl 1);**101**:S18-S22.
37. Krell D, Jones AL. Impact of effective prevention and management of febrile neutropenia. *Br J Cancer* 2009;**101 Suppl 1**:S23-6.
38. Gascon P, Aapro M, Ludwig H, et al. Background and methodology of MONITOR-GCSF, a pharmaco-epidemiological study of the multi-level determinants, predictors, and clinical outcomes of febrile neutropenia prophylaxis with biosimilar granulocyte-colony stimulating factor filgrastim. *Crit Rev Oncol Hematol* 2011;**77**:184-97.

39. Cooper KL, Madan J, Whyte S, et al. Granulocyte colony-stimulating factors for febrile neutropenia prophylaxis following chemotherapy: systematic review and meta-analysis. *BMC Cancer* 2011;**11**:404.
40. Kelly S, Wheatley D. Prevention of febrile neutropenia: use of granulocyte colony-stimulating factors. *Br J Cancer* 2009 (suppl 1);**101**:S6-S10.
41. Aapro M, Crawford J, Kamioner D. Prophylaxis of chemotherapy-induced febrile neutropenia with granulocyte colony-stimulating factors: where are we now? *Support Care Cancer* 2010;**18**:529-41.
42. Aapro MS, Cameron DA, Pettengell R, et al. EORTC guidelines for the use of granulocyte-colony stimulating factor to reduce the incidence of chemotherapy-induced febrile neutropenia in adult patients with lymphomas and solid tumours. *Eur J Cancer* 2006;**42**:2433-53.
43. Yang BB, Kido A. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of pegfilgrastim. *Clin Pharmacokinet* 2011;**50**:295-306.
44. Kuwabara T, Kobayashi S, Sugiyama Y. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of a recombinant human granulocyte colony-stimulating factor. *Drug Metab Rev* 1996;**28**:625-58.
45. Abuchowski A, Davis FF. Preparation and properties of polyethylene glycol-trypsin adducts. *Biochim Biophys Acta* 1979;**578**:41-6.
46. Tomiya N, Watanabe K, Awaya J, et al. Modification of acyl-plasmin-streptokinase complex with polyethylene glycol. Reduction of sensitivity to neutralizing antibody. *FEBS Lett* 1985;**193**:44-8.
47. Harris JM, Martin NE, Modi M. Pegylation: a novel process for modifying pharmacokinetics. *Clin Pharmacokinet* 2001;**40**:539-51.
48. Caliceti P, Veronese FM. Pharmacokinetic and biodistribution properties of poly(ethylene glycol)-protein conjugates. *Adv Drug Deliv Rev* 2003;**55**:1261-77.

49. Fishburn CS. The pharmacology of PEGylation: balancing PD with PK to generate novel therapeutics. *J Pharm Sci* 2008;**97**:4167-83.
50. Scholz M, Schirm S, Wetzler M, et al. Pharmacokinetic and -dynamic modelling of G-CSF derivatives in humans. *Theor Biol Med Model* 2012;**9**:32.
51. Yang BB, Lum PK, Hayashi MM, et al. Polyethylene glycol modification of filgrastim results in decreased renal clearance of the protein in rats. *J Pharm Sci* 2004;**93**:1367-73.
52. Yang BB, Kido A, Salfi M, et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of pegfilgrastim in subjects with various degrees of renal function. *J Clin Pharmacol* 2008;**48**:1025-31.
53. Morstyn G, Foote MA, Walker T, et al. Filgrastim (r-metHuG-CSF) in the 21st century: SD/01. *Acta Haematol* 2001;**105**:151-5.
54. Molineux G. The design and development of pegfilgrastim (PEG-rmetHuG-CSF, Neulasta). *Curr Pharm Des* 2004;**10**:1235-44.
55. Holmes FA, O'Shaughnessy JA, Vukelja S, et al. Blinded, randomized, multicenter study to evaluate single administration pegfilgrastim once per cycle versus daily filgrastim as an adjunct to chemotherapy in patients with high-risk stage II or stage III/IV breast cancer. *J Clin Oncol* 2002;**20**:727-31.
56. Green MD, Koelbl H, Baselga J, et al. A randomized double-blind multicenter phase III study of fixed-dose single-administration pegfilgrastim versus daily filgrastim in patients receiving myelosuppressive chemotherapy. *Ann Oncol* 2003;**14**:29-35.
57. Houston AC, Stevens LA, Cour V. Pharmacokinetics of glycosylated recombinant human granulocyte colony-stimulating factor (lenograstim) in healthy male volunteers. *Br J Clin Pharmacol* 1999;**47**:279-84.
58. Wang B, Ludden TM, Cheung EN, et al. Population pharmacokinetic-pharmacodynamic modeling of filgrastim (r-metHuG-CSF) in healthy volunteers. *J Pharmacokinetic Pharmacodyn* 2001;**28**:321-42.

59. Krzyzanski W, Wiczling P, Lowe P, et al. Population modeling of filgrastim PK-PD in healthy adults following intravenous and subcutaneous administrations. *J Clin Pharmacol* 2010;**50**:101S-112S.
60. Hayashi N, Kinoshita H, Yukawa E, et al. Pharmacokinetic and pharmacodynamic analysis of subcutaneous recombinant human granulocyte colony stimulating factor (lenograstim) administration. *J Clin Pharmacol* 1999;**39**:583-92.
61. Roskos LK, Lum P, Lockbaum P, et al. Pharmacokinetic/pharmacodynamic modeling of pegfilgrastim in healthy subjects. *J Clin Pharmacol* 2006;**46**:747-57.
62. Chevallier B, Chollet P, Merrouche Y, et al. Lenograstim prevents morbidity from intensive induction chemotherapy in the treatment of inflammatory breast cancer. *J Clin Oncol* 1995;**13**:1564-71.
63. Bui BN, Chevallier B, Chevreau C, et al. Efficacy of lenograstim on hematologic tolerance to MAID chemotherapy in patients with advanced soft tissue sarcoma and consequences on treatment dose-intensity. *J Clin Oncol* 1995;**13**:2629-36.
64. Mey UJ, Maier A, Schmidt-Wolf IG, et al. Pegfilgrastim as hematopoietic support for dose-dense chemoimmunotherapy with R-CHOP-14 as first-line therapy in elderly patients with diffuse large B cell lymphoma. *Support Care Cancer* 2007;**15**:877-84.
65. Yang BB, Kido A, Shibata A. Serum pegfilgrastim concentrations during recovery of absolute neutrophil count in patients with cancer receiving pegfilgrastim after chemotherapy. *Pharmacotherapy* 2007;**27**:1387-93.
66. Crawford J, Caserta C, Roila F. Hematopoietic growth factors: ESMO recommendations for the applications. *Ann Oncol* 2009;**20 Suppl 4**:162-5.
67. Tan H, Tomic K, Hurley D, et al. Comparative effectiveness of colony-stimulating factors for febrile neutropenia: a retrospective study. *Curr Med Res Opin* 2011;**27**:79-86.
68. Weycker D, Malin J, Barron R, et al. Comparative effectiveness of filgrastim, pegfilgrastim, and sargramostim as prophylaxis against hospitalization for neutropenic

complications in patients with cancer receiving chemotherapy. *Am J Clin Oncol* 2012;**35**:267-74.

69. Touw IP, Bontenbal M. Granulocyte colony-stimulating factor: key (f)actor or innocent bystander in the development of secondary myeloid malignancy? *J Natl Cancer Inst* 2007;**99**:183-6.

70. Box GEP. Science and Statistics. *Journal of the American Statistical Association* 1976;**71**:791-799.

71. Danhof M, Alvan G, Dahl SG, et al. Mechanism-based pharmacokinetic-pharmacodynamic modeling-a new classification of biomarkers. *Pharm Res* 2005;**22**:1432-7.

72. Sheiner LB, Rosenberg B, Marathe VV. Estimation of population characteristics of pharmacokinetic parameters from routine clinical data. *J Pharmacokinet Biopharm* 1977;**5**:445-79.

73. Urien S. La pharmacocinétique de population, aspects fondamentaux. *La lettre du Pharmacologue* 2003;**17**:97-102.

74. Dempster AP, Laird NM, Rubin DB. Maximum Likelihood from Incomplete Data Via Em Algorithm. *Journal of the Royal Statistical Society Series B-Methodological* 1977;**39**:1-38.

75. Brendel K, Comets E, Laffont C, et al. Metrics for external model evaluation with an application to the population pharmacokinetics of gliclazide. *Pharm Res* 2006;**23**:2036-49.

76. Rosenberg B, Vancamp L, Krigas T. Inhibition of Cell Division in Escherichia Coli by Electrolysis Products from a Platinum Electrode. *Nature* 1965;**205**:698-9.

77. Rosenberg B, VanCamp L, Trosko JE, et al. Platinum compounds: a new class of potent antitumour agents. *Nature* 1969;**222**:385-6.

78. Connors TA, Jones M, Ross WC, et al. New platinum complexes with anti-tumour activity. *Chem Biol Interact* 1972;**5**:415-24.

79. Cheung YW, Craddock JC, Vishnuvajjala BR, et al. Stability of cisplatin, iproplatin, carboplatin, and tetraplatin in commonly used intravenous solutions. *Am J Hosp Pharm* 1987;**44**:124-30.
80. Curis E, Provost K, Bouvet D, et al. Carboplatin and oxaliplatin decomposition in chloride medium, monitored by XAS. *J Synchrotron Radiat* 2001;**8**:716-8.
81. Elferink F, van der Vijgh WJ, Klein I, et al. Pharmacokinetics of carboplatin after i.v. administration. *Cancer Treat Rep* 1987;**71**:1231-7.
82. van der Vijgh WJ. Clinical pharmacokinetics of carboplatin. *Clin Pharmacokinet* 1991;**21**:242-61.
83. Eastman A. Reevaluation of interaction of cis-dichloro(ethylenediamine)platinum(II) with DNA. *Biochemistry* 1986;**25**:3912-5.
84. Pinto AL, Lippard SJ. Sequence-dependent termination of in vitro DNA synthesis by cis- and trans-diamminedichloroplatinum (II). *Proc Natl Acad Sci U S A* 1985;**82**:4616-9.
85. Vaisman A, Lim SE, Patrick SM, et al. Effect of DNA polymerases and high mobility group protein 1 on the carrier ligand specificity for translesion synthesis past platinum-DNA adducts. *Biochemistry* 1999;**38**:11026-39.
86. Reeves R, Adair JE. Role of high mobility group (HMG) chromatin proteins in DNA repair. *DNA Repair (Amst)* 2005;**4**:926-38.
87. Siddik ZH. Cisplatin: mode of cytotoxic action and molecular basis of resistance. *Oncogene* 2003;**22**:7265-79.
88. He Q, Liang CH, Lippard SJ. Steroid hormones induce HMG1 overexpression and sensitize breast cancer cells to cisplatin and carboplatin. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000;**97**:5768-72.
89. Song IS, Savaraj N, Siddik ZH, et al. Role of human copper transporter Ctr1 in the transport of platinum-based antitumor agents in cisplatin-sensitive and cisplatin-resistant cells. *Mol Cancer Ther* 2004;**3**:1543-9.

90. Holzer AK, Katano K, Klomp LW, et al. Cisplatin rapidly down-regulates its own influx transporter hCTR1 in cultured human ovarian carcinoma cells. *Clin Cancer Res* 2004;**10**:6744-9.
91. Samimi G, Safaei R, Katano K, et al. Increased expression of the copper efflux transporter ATP7A mediates resistance to cisplatin, carboplatin, and oxaliplatin in ovarian cancer cells. *Clin Cancer Res* 2004;**10**:4661-9.
92. Komatsu M, Sumizawa T, Mutoh M, et al. Copper-transporting P-type adenosine triphosphatase (ATP7B) is associated with cisplatin resistance. *Cancer Res* 2000;**60**:1312-6.
93. Nakayama K, Miyazaki K, Kanzaki A, et al. Expression and cisplatin sensitivity of copper-transporting P-type adenosine triphosphatase (ATP7B) in human solid carcinoma cell lines. *Oncol Rep* 2001;**8**:1285-7.
94. Koizumi W, Kurihara M, Hasegawa K, et al. Combination therapy with cisplatin, 5'-deoxy-5-fluorouridine (5'-DFUR) and mitomycin (MMC) in patients with inoperable, advanced gastric cancer. *Oncol Rep* 1996;**3**:255-60.
95. Lautier D, Canitrot Y, Deeley RG, et al. Multidrug resistance mediated by the multidrug resistance protein (MRP) gene. *Biochem Pharmacol* 1996;**52**:967-77.
96. Kool M, de Haas M, Scheffer GL, et al. Analysis of expression of cMOAT (MRP2), MRP3, MRP4, and MRP5, homologues of the multidrug resistance-associated protein gene (MRP1), in human cancer cell lines. *Cancer Res* 1997;**57**:3537-47.
97. Cui Y, Konig J, Buchholz JK, et al. Drug resistance and ATP-dependent conjugate transport mediated by the apical multidrug resistance protein, MRP2, permanently expressed in human and canine cells. *Mol Pharmacol* 1999;**55**:929-37.
98. Wolf CR, Hayward IP, Lawrie SS, et al. Cellular heterogeneity and drug resistance in two ovarian adenocarcinoma cell lines derived from a single patient. *Int J Cancer* 1987;**39**:695-702.

99. Rudin CM, Yang Z, Schumaker LM, et al. Inhibition of glutathione synthesis reverses Bcl-2-mediated cisplatin resistance. *Cancer Res* 2003;**63**:312-8.
100. Kasahara K, Fujiwara Y, Nishio K, et al. Metallothionein content correlates with the sensitivity of human small cell lung cancer cell lines to cisplatin. *Cancer Res* 1991;**51**:3237-42.
101. Kelley SL, Basu A, Teicher BA, et al. Overexpression of metallothionein confers resistance to anticancer drugs. *Science* 1988;**241**:1813-5.
102. Hengstler JG, Van der Burg B, Steinberg P, et al. Interspecies differences in cancer susceptibility and toxicity. *Drug Metab Rev* 1999;**31**:917-70.
103. Lee KB, Parker RJ, Bohr V, et al. Cisplatin sensitivity/resistance in UV repair-deficient Chinese hamster ovary cells of complementation groups 1 and 3. *Carcinogenesis* 1993;**14**:2177-80.
104. Dabholkar M, Vionnet J, Bostick-Bruton F, et al. Messenger RNA levels of XPAC and ERCC1 in ovarian cancer tissue correlate with response to platinum-based chemotherapy. *J Clin Invest* 1994;**94**:703-8.
105. Fink D, Nebel S, Aebi S, et al. The role of DNA mismatch repair in platinum drug resistance. *Cancer Res* 1996;**56**:4881-6.
106. Vaisman A, Varchenko M, Umar A, et al. The role of hMLH1, hMSH3, and hMSH6 defects in cisplatin and oxaliplatin resistance: correlation with replicative bypass of platinum-DNA adducts. *Cancer Res* 1998;**58**:3579-85.
107. Stojic L, Brun R, Jiricny J. Mismatch repair and DNA damage signalling. *DNA Repair (Amst)* 2004;**3**:1091-101.
108. Albertella MR, Lau A, O'Connor MJ. The overexpression of specialized DNA polymerases in cancer. *DNA Repair (Amst)* 2005;**4**:583-93.
109. Scanlon KJ, Kashani-Sabet M, Tone T, et al. Cisplatin resistance in human cancers. *Pharmacol Ther* 1991;**52**:385-406.

110. Eliopoulos AG, Kerr DJ, Herod J, et al. The control of apoptosis and drug resistance in ovarian cancer: influence of p53 and Bcl-2. *Oncogene* 1995;**11**:1217-28.
111. Chatelut E. Pharmacology of platinum compounds: differences between the three molecules and factors of interpatient variability. *Bull Cancer* 2011;**98**:1253-1261.
112. Calvert AH, Harland SJ, Newell DR, et al. Early clinical studies with cis-diammine-1,1-cyclobutane dicarboxylate platinum II. *Cancer Chemother Pharmacol* 1982;**9**:140-7.
113. Jodrell DI, Egorin MJ, Canetta RM, et al. Relationships between carboplatin exposure and tumor response and toxicity in patients with ovarian cancer. *J Clin Oncol* 1992;**10**:520-8.
114. Calvert AH, Newell DR, Gumbrell LA, et al. Carboplatin dosage: prospective evaluation of a simple formula based on renal function. *J Clin Oncol* 1989;**7**:1748-56.
115. Chatelut E, Canal P, Brunner V, et al. Prediction of carboplatin clearance from standard morphological and biological patient characteristics. *J Natl Cancer Inst* 1995;**87**:573-80.
116. Benezet S, Guimbaud R, Chatelut E, et al. How to predict carboplatin clearance from standard morphological and biological characteristics in obese patients. *Ann Oncol* 1997;**8**:607-9.
117. Leger F, Seronie-Vivien S, Makdessi J, et al. Impact of the biochemical assay for serum creatinine measurement on the individual carboplatin dosing: a prospective study. *Eur J Cancer* 2002;**38**:52-6.
118. Thomas F, Seronie-Vivien S, Gladiéff L, et al. Cystatin C as a new covariate to predict renal elimination of drugs: application to carboplatin. *Clin Pharmacokinet* 2005;**44**:1305-16.
119. Ratain MJ. Therapeutic relevance of pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Semin Oncol* 1992;**19**:8-13.
120. Friberg LE, Karlsson MO. Mechanistic models for myelosuppression. *Invest New Drugs* 2003;**21**:183-94.

121. Steimer JL, Dahl SG, De Alwis DP, et al. Modelling the genesis and treatment of cancer: the potential role of physiologically based pharmacodynamics. *Eur J Cancer* 2010;**46**:21-32.
122. Karlsson MO, Port RE, Ratain MJ, et al. A population model for the leukopenic effect of etoposide. *Clin Pharmacol Ther* 1995;**57**:325-34.
123. Sheiner LB, Steimer JL. Pharmacokinetic/pharmacodynamic modeling in drug development. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2000;**40**:67-95.
124. Testart-Paillet D, Girard P, You B, et al. Contribution of modelling chemotherapy-induced hematological toxicity for clinical practice. *Crit Rev Oncol Hematol* 2007;**63**:1-11.
125. Rosner GL, Muller P. Pharmacodynamic analysis of hematologic profiles. *J Pharmacokinet Biopharm* 1994;**22**:499-524.
126. Karlsson MO, Molnar V, Bergh J, et al. A general model for time-dissociated pharmacokinetic-pharmacodynamic relationship exemplified by paclitaxel myelosuppression. *Clin Pharmacol Ther* 1998;**63**:11-25.
127. Minami H, Sasaki Y, Saijo N, et al. Indirect-response model for the time course of leukopenia with anticancer drugs. *Clin Pharmacol Ther* 1998;**64**:511-21.
128. Friberg LE, Brindley CJ, Karlsson MO, et al. Models of schedule dependent haematological toxicity of 2'-deoxy-2'-methylidenecytidine (DMDC). *Eur J Clin Pharmacol* 2000;**56**:567-74.
129. Friberg LE, Freijs A, Sandstrom M, et al. Semiphysiological model for the time course of leukocytes after varying schedules of 5-fluorouracil in rats. *J Pharmacol Exp Ther* 2000;**295**:734-40.
130. Zamboni WC, D'Argenio DZ, Stewart CF, et al. Pharmacodynamic model of topotecan-induced time course of neutropenia. *Clin Cancer Res* 2001;**7**:2301-8.
131. Krzyzanski W, Jusko WJ. Multiple-pool cell lifespan model of hematologic effects of anticancer agents. *J Pharmacokinet Pharmacodyn* 2002;**29**:311-37.

132. Ane C, Concordet D. Population pharmacokinetics/pharmacodynamics relationships of an anticancer drug. *Stat Med* 2003;**22**:833-46.
133. Quartino AL, Friberg LE, Karlsson MO. A simultaneous analysis of the time-course of leukocytes and neutrophils following docetaxel administration using a semi-mechanistic myelosuppression model. *Invest New Drugs* 2012;**30**:833-45.
134. van Kesteren C, Zandvliet AS, Karlsson MO, et al. Semi-physiological model describing the hematological toxicity of the anti-cancer agent indisulam. *Invest New Drugs* 2005;**23**:225-34.
135. Latz JE, Karlsson MO, Rusthoven JJ, et al. A semimechanistic-physiologic population pharmacokinetic/pharmacodynamic model for neutropenia following pemetrexed therapy. *Cancer Chemother Pharmacol* 2006;**57**:412-26.
136. Puisset F, Alexandre J, Treluyer JM, et al. Clinical pharmacodynamic factors in docetaxel toxicity. *Br J Cancer* 2007;**97**:290-6.
137. Hing J, Perez-Ruixo JJ, Stuyckens K, et al. Mechanism-based pharmacokinetic/pharmacodynamic meta-analysis of trabectedin (ET-743, Yondelis) induced neutropenia. *Clin Pharmacol Ther* 2008;**83**:130-43.
138. Zandvliet AS, Siegel-Lakhai WS, Beijnen JH, et al. PK/PD model of indisulam and capecitabine: interaction causes excessive myelosuppression. *Clin Pharmacol Ther* 2008;**83**:829-39.
139. Sandstrom M, Lindman H, Nygren P, et al. Population analysis of the pharmacokinetics and the haematological toxicity of the fluorouracil-epirubicin-cyclophosphamide regimen in breast cancer patients. *Cancer Chemother Pharmacol* 2006;**58**:143-56.
140. Ramon-Lopez A, Nalda-Molina R, Valenzuela B, et al. Semi-mechanistic model for neutropenia after high dose of chemotherapy in breast cancer patients. *Pharm Res* 2009;**26**:1952-62.

141. Zandvliet AS, Schellens JH, Copalu W, et al. Covariate-based dose individualization of the cytotoxic drug indisulam to reduce the risk of severe myelosuppression. *J Pharmacokinet Pharmacodyn* 2009;**36**:39-62.
142. Sugiura M, Yamamoto K, Sawada Y, et al. Pharmacokinetic/pharmacodynamic analysis of neutrophil proliferation induced by recombinant granulocyte colony-stimulating factor (rhG-CSF): comparison between intravenous and subcutaneous administration. *Biol Pharm Bull* 1997;**20**:684-9.
143. Krzyzanski W, Ramakrishnan R, Jusko WJ. Basic pharmacodynamic models for agents that alter production of natural cells. *J Pharmacokinet Biopharm* 1999;**27**:467-89.
144. Ostby I, Rusten LS, Kvalheim G, et al. A mathematical model for reconstitution of granulopoiesis after high dose chemotherapy with autologous stem cell transplantation. *J Math Biol* 2003;**47**:101-36.
145. Engel C, Scholz M, Loeffler M. A computational model of human granulopoiesis to simulate the hematotoxic effects of multicycle polychemotherapy. *Blood* 2004;**104**:2323-31.
146. Sugiura M, Ohno Y, Yamada Y, et al. Pharmacokinetic/pharmacodynamic analysis of neutrophil proliferation induced by rhG-CSF in patients receiving antineoplastic drugs. *Yakugaku Zasshi* 2004;**124**:599-604.
147. Scholz M, Engel C, Loeffler M. Modelling human granulopoiesis under polychemotherapy with G-CSF support. *J Math Biol* 2005;**50**:397-439.
148. Vainstein V, Ginosar Y, Shoham M, et al. The complex effect of granulocyte colony-stimulating factor on human granulopoiesis analyzed by a new physiologically-based mathematical model. *J Theor Biol* 2005;**234**:311-27.
149. Shochat E, Rom-Kedar V, Segel LA. G-CSF control of neutrophils dynamics in the blood. *Bull Math Biol* 2007;**69**:2299-338.

150. Shochat E, Rom-Kedar V. Novel strategies for granulocyte colony-stimulating factor treatment of severe prolonged neutropenia suggested by mathematical modeling. *Clin Cancer Res* 2008;**14**:6354-63.
151. Foley C, Mackey MC. Mathematical model for G-CSF administration after chemotherapy. *J Theor Biol* 2009;**257**:27-44.
152. Quartino AL. Pharmacometric Models for Improved Prediction of Myelosuppression and Treatment Response in Oncology. Uppsala: Uppsala University; 2011. p. 78.

TITLE : Population pharmacokinetic/pharmacodynamic modelisation of G-CSF effect in carboplatin-treated patients

SUMMARY

Granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) is often used in cancer patients receiving cytotoxic drugs to prevent or reduce high grade neutropenia. We developed a new population pharmacokinetic/pharmacodynamic model to describe neutrophil time-course in carboplatin-treated patients, whether or not they received G-CSF. Model simulations showed that G-CSF was not as beneficial as expected in some patients and that the once-per-cycle formulation was more efficient than other formulations. Model-based decision rules were also built to anticipate prolonged high grade neutropenia and early identify patients for whom G-CSF was beneficial.

AUTEUR : Mélanie PASTOR

TITRE : Modélisation pharmacocinétique/pharmacodynamique par une approche de population de l'effet du G-CSF chez des patients traités avec du carboplatine

DIRECTEURS DE THESE : Pr Didier CONCORDET et Pr Etienne CHATELUT

LIEU ET DATE DE SOUTENANCE : 19 Juillet 2013

RESUME en français

Une des stratégies pour limiter les neutropénies induites par la chimiothérapie est l'utilisation de granulocyte-colony stimulating factor (G-CSF). Nous avons développé, par une approche de population, un nouveau modèle pharmacocinétique/pharmacodynamique capable de décrire la cinétique des neutrophiles des patients traités au carboplatine, qu'ils aient ou non reçu du G-CSF. Les simulations réalisées à partir de ce modèle ont montré que le G-CSF n'était pas bénéfique chez tous les patients et que la formulation à action longue semblerait plus efficace que les autres formulations. Nous avons également établi des règles de décision permettant d'une part de prédire le risque de neutropénie sévère, et d'autre part d'identifier précocement les patients pour lesquels le G-CSF peut avoir un effet bénéfique.

TITRE et résumé en anglais au recto de la dernière page

MOTS-CLES :

myélotoxicité, neutropénie, chimiothérapie, granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF), modélisation pharmacocinétique/pharmacodynamique (PK/PD), carboplatine

DISCIPLINE ADMINISTRATIVE : Pathologie, Toxicologie, Génétique et Nutrition

INTITULE ET ADRESSE DE L'U.F.R. OU DU LABORATOIRE :

- UMR 1331 Toxalim INRA/ENVT
180 chemin de Tournefeuille - BP. 93173 -31027 TOULOUSE cedex 3
- EA4553 - Individualisation des traitements des cancers ovariens et ORL
Institut Claudius Regaud, 20 rue du Pont Saint Pierre - 31052 Toulouse cedex