

2m11.2808.1

Université de Montréal

**Évaluation de la méthode bayésienne pour l'estimation  
des concentrations sanguines de cyclosporine Néoral  
chez les patients avec une transplantation cardiaque.  
(Pharmacocinétique de population paramétrique)**

Par  
Lucie Verret  
Faculté de Pharmacie

Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures  
en vue de l'obtention du grade de  
maîtrise en sciences pharmaceutiques

mai 2000



12 282 282 21

Université de Montréal

QV  
705  
U58  
2000  
N. 008

Evaluation de la méthode bayésienne pour l'estimation  
des concentrations sanguines de cyclosporine libérée  
chez les patients avec une transplantation cardiaque  
(Pharmacocinétique de population paramétrique)

Par  
Lucie Vézina  
Faculté de Pharmacie

Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures  
en vue de l'obtention du grade de  
maîtrise en sciences pharmaceutiques



1000 2000

**Page d'identification du jury**

Université de Montréal  
Faculté des études supérieures

Ce mémoire intitulé :

**Évaluation de la méthode bayésienne pour l'estimation des concentrations sanguines de cyclosporine Néoral chez les patients avec une transplantation cardiaque.**

présenté  
par  
Lucie Verret

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes :

M. Laurent Claret, président-rapporteur  
M. Murray Ducharme, directeur de la recherche  
M. Gérard Sirois, codirecteur  
M. Jean-Louis Brazier, membre du jury

Mémoire accepté le : \_\_\_\_\_

## REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier M. Murray Ducharme et M. Gérard Sirois pour le temps accordé sans compter, l'enseignement, l'aide et les conseils judicieux qui ont été nécessaires à la réalisation de cette maîtrise en sciences pharmaceutiques.

Je voudrais aussi remercier la compagnie pharmaceutique Novartis pour avoir contribué financièrement à défrayer une partie des frais lors de la présentation d'une partie de nos résultats au congrès annuel de l'American Society for Clinical Pharmacology and Therapeutics à San Diego en Californie en 1997.

## SOMMAIRE

La cyclosporine est un immunosuppresseur efficace pour diminuer le nombre de rejets après une transplantation. La commercialisation de cette molécule, au début des années 80, a créé une révolution majeure du traitement des patients transplantés en diminuant la mortalité de façon significative, particulièrement chez les patients avec une greffe cardiaque. La relation entre l'effet thérapeutique, soit la diminution des rejets, la toxicité de la cyclosporine et les concentrations sanguines obtenues est bien documentée (Grevel J 1993, Lindholm A 1993, Irschik E 1984, Kahan BD 1993, Lindholm A 1990). La cyclosporine possède un index thérapeutique étroit. Les concentrations sanguines obtenues doivent être suffisamment élevées pour assurer son efficacité sans toutefois être toxiques. Un monitoring des concentrations sanguines de cyclosporine est donc nécessaire.

La problématique rencontrée avec la cyclosporine est que l'ajustement posologique de celle-ci, afin de maintenir les concentrations sanguines dans l'écart thérapeutique désiré, est très difficile en raison de son absorption très variable. Les ajustements de doses de cyclosporine se font de façon empirique à partir des concentrations sanguines minimales obtenues à l'équilibre ( $C_{min}$  ou creux). Certaines méthodes d'ajustement posologique ont été essayées dont l'utilisation de la méthode bayésienne avec la formulation « Sandimmune » de cyclosporine. Par contre, l'utilité de cette méthode chez des patients avec une greffe rénale qui recevaient ces capsules n'a pu être démontrée. (Anderson JE 1994). Cet échec s'expliquerait par une grande variabilité dans le processus d'absorption de la cyclosporine. Par contre l'utilisation de cette technique à la suite

d'une administration intraveineuse de cyclosporine chez des patients avec une greffe de moelle osseuse donne de meilleurs résultats ( Serre Debeauvais IA 1990).

Récemment, une nouvelle formulation de cyclosporine, le «Neoral », a été commercialisée. Cette nouvelle formulation de la cyclosporine est présentée sous forme d'une microémulsion, ce qui lui confère l'avantage d'une biodisponibilité supérieure et moins variable. Par conséquent, le profil pharmacocinétique des concentrations sanguines de la cyclosporine est donc plus prévisible (Kovarik JM 1994, Winkler M 1994, Trull AK 1993). Cette amélioration de la formulation posologique de la cyclosporine, en diminuant la variabilité de l'absorption médicamenteuse, pourrait permettre la mise au point d'une méthode fiable d'ajustement posologique, utile aux professionnels de la santé, afin de prédire les concentrations sanguines de cyclosporine.

Une étude évaluant la cyclosporine Néoral chez un groupe de patients ayant reçu une transplantation cardiaque a été effectuée à l'Institut de Cardiologie de Montréal. Avec l'utilisation des résultats de dosages sanguins de cyclosporine, il a été possible de procéder à notre projet de recherche. Le but de ce projet était d'optimiser l'ajustement posologique de la cyclosporine Néoral par l'utilisation de la méthode bayésienne. La première partie de mon projet a été de déterminer le modèle pharmacocinétique qui décrit le mieux l'évolution des concentrations sanguines de la cyclosporine suite à l'administration de la forme posologique Neoral chez les patients inclus dans l'étude. Nous avons introduit dans l'un des modèles l'effet de premier passage par les enzymes de la muqueuse digestive et du foie que subi la cyclosporine, comme paramètre supplémentaire au modèle. Parmi les huit modèles pharmaceutiques étudiés, deux furent retenus à la suite de cette première analyse, soit le modèle conventionnel à deux compartiments avec un temps de latence et avec ou sans le paramètre du premier passage. Ce travail de modélisation est discuté dans le premier

article. Par la suite, nous avons déterminé les paramètres pharmacocinétiques de population pour chacun des modèles et évalué le pouvoir prédictif de la méthode bayésienne lors de l'estimation des concentrations sanguines de cyclosporine Neoral avec chaque modèle afin de vérifier si le fait d'ajouter le paramètre de biotransformation améliore le pouvoir prédictif. Cette seconde partie du projet fait l'objet du deuxième article.

Les résultats démontrent que les paramètres de population obtenus suite à l'analyse pharmacocinétique de population avec les deux modèles représentent bien les concentrations sanguines observées chez notre groupe de patients. L'utilisation de la méthode bayésienne pour prédire les concentrations sanguines de cyclosporine après l'administration de la formulation Néoral donne de très bons résultats. L'erreur de prédiction varie de 45 nmol/L (26%) à 31 nmol/L (18%). Lorsque le nombre de concentrations sanguines de cyclosporine augmente pour un patient donné, l'erreur de prédiction diminue. Aucune différence significative n'est observée dans le pouvoir prédictif entre les deux modèles. L'utilisation de la méthode bayésienne est une méthode efficace et pourrait devenir un outil très pratique pour le monitoring des concentrations sanguines et l'adaptation posologique de cyclosporine administrée sous forme de Néoral.

## TABLES DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS	i
SOMMAIRE	ii
TABLES DES MATIÈRES	v
LISTE DES TABLEAUX	vii
LISTES DES FIGURES	vii
1. LA TRANSPLANTATION D'ORGANES	
<b>1.1 Évolution de la transplantation d'organes au Québec</b>	1
<b>1.2 Survie et qualité de vie</b>	2
2. LE REJET	
<b>2.1 Mécanisme du rejet</b>	2
3. BASE DE L'IMMUNOSUPPRESSION	
<b>3.1 Phase d'induction</b>	4
<b>3.2 Phase de maintien</b>	5
4. LA CYCLOSPORINE	
<b>4.1 Mécanisme d'action</b>	7
<b>4.2 Efficacité</b>	8
<b>4.3 Effets secondaires de la cyclosporine</b>	9
<b>4.4 Interactions médicamenteuses de la cyclosporine</b>	10
<b>4.5 La cyclosporine Néoral</b>	10
5.0 LA PHARMACOCINÉTIQUE DE LA CYCLOSPORINE	
<b>5.1 Modèles pharmacocinétiques</b>	12
<b>5.2 Paramètres pharmacocinétiques</b>	12
5.2.1 Biodisponibilité (F)	12
5.2.2 Volume de distribution (Vd)	15
5.2.3 Temps de demi-vie et clairance (T1/2, Cl)	15



6. MONITORAGE DE LA CYCLOSPORINE	
<b>6.1 Concentration minimales (Cmin ou creux)</b>	16
<b>6.2 Surface sous la courbe (SSC)</b>	17
<b>6.3 Méthode bayésienne</b>	18
7. MÉTHODES POUR ESTIMER LES PARAMÈTRES PHARMACO- CINÉTIQUES DE LA POPULATION	
<b>7.1 Méthodes paramétriques</b>	21
7.1.1 Naive pooled data approach	21
7.1.2 Méthode conventionnelle à 2 étapes (« standard two-stage »)	21
7.1.3 Mixed Effect Modeling	22
<b>7.2 Méthode non paramétrique</b>	23
7.2.1 NPEM (NonParametric Estimation Method)	23
8. BUT DU TRAVAIL DE RECHERCHE	24
9. ARTICLE #1	1A-7A
10. ARTICLE #2	1B-22B
11. DISCUSSION	27
12. CONCLUSION	33
13. RÉFÉRENCES	34

## **LISTE DES TABLEAUX**

Tableau 1. Évolution de la transplantation d'organes au Québec

Tableau 2. Effets secondaires de la cyclosporine et traitements suggérés

Tableau 3. Interactions médicamenteuses avec la cyclosporine

Tableau 4. Valeur des paramètres pharmacocinétiques de la cyclosporine selon la forme  
pharmaceutique

## **LISTE DES FIGURES**

Figure 1 : Mécanisme d'activation des lymphocytes T

Figure 2. Taux de survie à 5 ans pour une transplantation cardiaque selon le régime  
thérapeutique utilisé

## 1. LA TRANSPLANTATION D'ORGANES

### 1.1 Évolution de la transplantation d'organes au Québec

La première transplantation réalisée au Québec fut une greffe rénale en 1958. Ce n'est que dans les années 80, suite à l'apparition de la cyclosporine, que le nombre de transplantations a augmenté de façon importante et ce, pour tous les types d'organes. Le tableau 1 représente l'évolution de la transplantation d'organes au Québec. (Québec Transplant 1995)

**Tableau 1.** Évolution de la transplantation d'organes au Québec

Année du début de transplantation	Organes transplantés	Nombre transplanté depuis le début jusqu'en 1995
1958	Reins	3551
1968= 10 cas 1982=reprise	Cœurs	524
1988	Poumons	144
1984	Foies	354
1984	Reins-Pancréas	25
1985	Pancréas	17

En 1995, il y a eu au Québec, 51 transplantations cardiaques, 22 transplantations pulmonaires, 87 transplantations hépatiques, 199 transplantations rénales, 2 transplantations cœurs-poumons et 2 transplantations du pancréas. Annuellement, environ 3 300 transplantations cardiaques sont effectuées mondialement dont une cinquantaine au Québec. Le Canada et le Québec se classent respectivement 3<sup>ème</sup> et 4<sup>ème</sup> au rang international lorsque l'on regarde le nombre de transplantations par million de population.

## 1.2 Survie et qualité de vie

La survie des greffons est variable selon l'organe transplanté, la compatibilité du donneur et du receveur, ainsi que le régime thérapeutique utilisé. Le taux moyen de survie suite à une transplantation cardiaque est de 80% à 90% un an après la transplantation, 70% à 80% 5 ans après la transplantation et de moins de 40% après 12 ans (Hosenpud JD 1994, First R 1992, Opelz G, 1992). Ces bons résultats sur la mortalité sont principalement attribués à l'utilisation de la cyclosporine qui a contribué grandement à une diminution de la fréquence et de la sévérité des rejets et des infections (Miller LW 1994). La qualité de vie des patients quelques mois après la greffe n'est pas différente de celle de la population en général. Plusieurs patients retournent au travail et font de l'activité physique régulièrement.

## 2. LE REJET

### 2.1 Mécanisme du rejet

Ce sont les lymphocytes T qui jouent le rôle principal dans la réponse immunitaire lors du rejet d'un organe. Toutes les stratégies pour prévenir l'activation ou encore affecter la fonction des cellules T seront potentiellement utiles pour une immunosuppression. En résumé, la cascade d'activation des lymphocytes T se divise en 4 phases ( figure 1) (Perico N 1997)

- 1) Il y a une interaction entre la cellule qui présente l'antigène (portion d'une cellule étrangère) tel un macrophage (antigen presenting cell=APC) par le complexe d'histocompatibilité majeur (MHC) au récepteur du lymphocyte T (TCR) situé à la surface des cellules. Cette liaison provoque la libération d'interleukines-1 (IL-1). C'est le signal de départ pour l'activation des cellules T.

- 2) Le récepteur de surface des lymphocytes (TCR) active alors une série de tyrosine kinase puis d'une phosphorylation et une activation de la phospholipase C qui provoque une augmentation du calcium intracellulaire. Cette augmentation de calcium active la calcineurine qui est l'enzyme responsable de déterminer si la cellule demeure dans un état de repos (phase G0) ou si elle devient active (phase G1). D'autres voies indépendantes de stimulation comme celles contrôlées par le récepteur CD28 participent à cette activation .
  
- 3) Il y a ensuite production d'interleukine-2 (IL-2) . Comme il y a des récepteurs pour l'interleukine à la surface des lymphocytes, ceux-ci sont stimulés à nouveau, ce qui contribue à l'amplification du phénomène de l'activation et de la prolifération des lymphocytes . Cette liaison à l'IL-2 entraîne une cascade d'événements menant à la libération de la protéine mTOR.
  
- 4) Cette protéine (mTOR) est nécessaire pour faire passer le lymphocyte T de la phase G1 à la phase S par la voie « de novo » de synthèse des purines et des pyrimidines et ainsi compléter le processus de division cellulaire et procéder à la multiplication des cellules lymphocytaires T.

Les médicaments immunosuppresseurs interfèrent à différents niveaux du processus d'activation des lymphocytes.

Figure 1 : Mécanisme d'activation des lymphocytes T

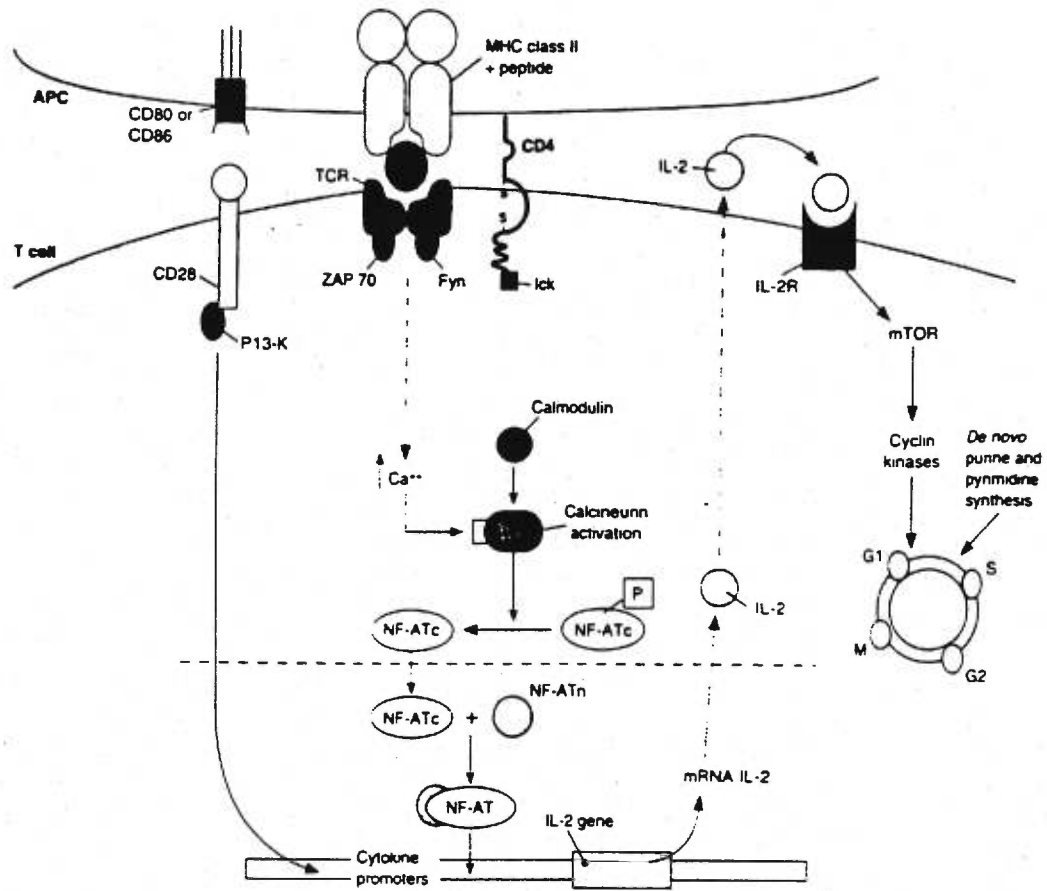


Fig. 1. Principal pathways of T cell activation that follow engagement of the alloantigen, presented by an APC in the context of an MHC molecule, with TCR on the surface of T lymphocytes. Abbreviations: APC = antigen presenting cell; CD = cluster determinant; G1/G2 = G1/G2 phases of cell cycle; Fyn = tyrosine kinase; Ick = tyrosine kinase; IL = interleukin; IL-2R = interleukin-2 receptor; M = M phase of cell cycle; MHC = major histocompatibility complex; mTOR = 'target of sirolimus (rapamycin)' protein; NF-AT = nuclear factor activating T cell; NF-ATc = cytoplasmic subunit of NF-AT; NF-ATn = nuclear subunit of NF-AT; P13-K = kinase; P = phosphate; S = S phase of cell cycle; TCR = T cell receptor; ZAP 70 = tyrosine kinase.

### 3.1 Phase d'induction

Elle permet une immunosuppression rapide du système immunitaire. Les médicaments tels le RATG ou l'OKT3 sont administrés par voie intraveineuse lors de la transplantation. Ceci permet de retarder l'apparition de rejet et d'en diminuer la sévérité. De plus, ces puissants médicaments permettent de retarder l'administration de la cyclosporine ou du tacrolimus surtout chez le patient avec une insuffisance rénale en période pré-opératoire, et diminuent donc le risque de néphrotoxicité et de nécrose

tubulaire qui leur sont associés. Ils peuvent aussi éliminer le besoin de corticostéroïdes en période post-opératoire favorisant ainsi la guérison et diminuant aussi les infections (Olson LJ 1992).

Les doses et la durée de la thérapie avec ces médicaments varient selon les différents protocoles de chaque centre. La prudence est de mise lorsqu'ils sont utilisés conjointement avec d'autres immunosuppresseurs pour éviter une immunosuppression trop importante et ainsi augmenter la susceptibilité du patient aux infections opportunistes (Carrier M 1995).

### **3.2 Phase de maintien**

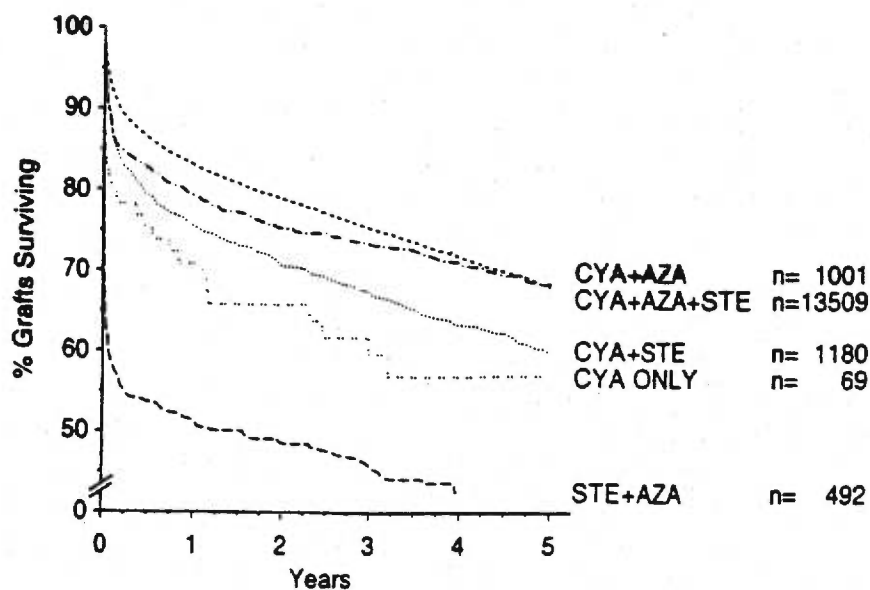
La phase de maintien consiste à combiner différents immunosuppresseurs avec des mécanismes d'action différents pour une action synergique. Ces combinaisons permettent d'utiliser la plus faible dose possible de médicaments en réduisant le risque d'effets secondaires. Le but de la thérapie immunosuppressive est de maintenir la balance entre l'acceptation de l'organe transplanté et l'efficacité du système immunitaire à se défendre contre les infections. Généralement, on utilise les inhibiteurs de l'interleukine-2 tels la cyclosporine (Néoral<sup>®</sup>) ou le tacrolimus (Prograf<sup>®</sup>) en combinaison avec un antimétabolites comme l'azathioprine (Imuran<sup>®</sup>) ou le mycophénolate de mofetil (Cellcept<sup>®</sup>) et on ajoute la prednisone pour ce que l'on appelle la triple thérapie.

Suite à la transplantation, on débute un traitement avec la triple thérapie car l'on désire une immunosuppression plus importante les mois qui suivent la greffe puisque c'est à ce moment que le taux de rejet est le plus élevé (Ferraro P 1995, Olson LJ 1992). Par la

suite, après environ un an ou deux, si l'état clinique du patient le permet, on effectue le sevrage de la prednisone ou de l'antimétabolite selon la préférence des centres de transplantation. Certains préféreront le sevrage de prednisone en raison de ses nombreux effets secondaires et d'autres craindront le risque augmenté de cancer des antimétabolites et cesseront ceux-ci en premier. Certains patients continueront la triple thérapie toute leur vie. On pense que l'élimination des corticostéroïdes d'un régime thérapeutique est associée à un accroissement du risque à court terme de rejet aigu mais qu'elle n'affecte pas la survie du patient et du greffon à long terme (Carrier M 1995).

La figure 2 représente le taux de survie à 5 ans selon le régime thérapeutique utilisé du «Collaborative transplant study» un organisme qui regroupe les données de 104 centres de transplantation cardiaque (données recueillies de 1985 à 1994.)

**Figure 2.** Taux de survie à 5 ans pour une transplantation cardiaque selon le régime thérapeutique utilisé



**Fig 1.** Survival rates of first orthotopic heart transplants according to the immunosuppressive induction regimen. CyA = cyclosporine, AZA = azathioprine, STE = steroids. Numbers of patients studied are indicated.

Opelz G for the Collaborative Transplant Study. Multicenter evaluation of immunosuppressive regimens in heart transplantation. *Transplant Proc.* 1997;29:617-619.



On observe que la combinaison la plus fréquente est la triple thérapie et que celle-ci a un taux de survie moins élevé les premières années après la transplantation comparativement à la double thérapie. Par contre, aucune différence n'apparaît à 5 ans lorsque la triple thérapie est comparée à la combinaison cyclosporine–azathioprine. Cependant, il faut porter une attention particulière à ces données car souvent le sevrage de la prednisone est effectué chez les patients dont l'état clinique est excellent, ce qui donne un biais à ces résultats. Pour sa part, la combinaison cyclosporine–corticostéroïde a un taux de survie significativement plus faible que les autres combinaisons. On remarque que la cyclosporine utilisée en monothérapie a un faible taux de survie en transplantation cardiaque. Le taux de survie est aussi très faible sans cyclosporine, c'est pourquoi ce médicament est toujours utilisé.

Ces données sur la survie, n'incluaient pas l'utilisation des nouveaux médicaments soit le tacrolimus, le mofetilmycophénolate ou la nouvelle formulation de cyclosporine (Neoral<sup>®</sup>). Il faudra encore quelques années avant d'obtenir des données sur la survie qui permettra de bien guider le choix de traitement.

#### 4. LA CYCLOSPORINE

##### **4.1 Mécanisme d'action**

La cyclosporine , après son entrée dans les cellules, se lie à la cyclophiline qui est un récepteur intracellulaire. Ce complexe inhibe l'activité de la phosphatase de la calcineurine qui bloque la génération du facteur nucléaire des lymphocytes T activés (NF-AT) , composante qui est essentielle à la production d'interleukine-2 et d'interféron

gamma. (IFN- $\gamma$ ). Ce phénomène se solde par une nette inhibition de l'activation des lymphocytes T.

#### **4.2 Efficacité**

Depuis son introduction sur le marché en 1980, la cyclosporine a permis de prolonger la survie des greffons de façon significative. Les chercheurs de l'étude internationale "The Collaborative Transplant Study", à laquelle participent 102 centres, ont analysé les données de 11 000 transplantations cardiaques et les résultats montrent un taux de survie inférieur à 40% lorsque les patients ne sont pas traités avec la cyclosporine (Opelz G 1992). Cette diminution de la mortalité est principalement attribuée à une diminution de la fréquence et de la sévérité des rejets et des infections (Miller LW 1994). La relation entre l'effet thérapeutique, soit la diminution des rejets et les concentrations sanguines de cyclosporine obtenues est bien documentée. Selon Grevel et al, après une transplantation rénale, le risque de rejet aigu est de 10% à 20% lorsque les concentrations de cyclosporine sont inférieures à 250 ng/mL et ce risque augmente à 50% à 60% lorsqu'elles sont inférieures à 100 ng/mL (Grevel J 1993). Plusieurs autres études confirment que l'un des facteurs de risque associé à une incidence plus élevée de rejet est une faible concentration sanguine moyenne de cyclosporine (Lindholm A 1993, Irschik E 1984, Kahan BD 1993, Lindholm A 1990). On évalue le nombre de rejets après une transplantation cardiaque à 1,4 +/- 0,7 par patient après un an. De ces rejets, 10% seront très sévères et entraîneront des coûts substantiels (Miller LW 1994).

Ce n'est que depuis l'apparition récente de nouvelles molécules (tacrolimus, mycophénolate de mofétil) que la cyclosporine n'est plus la seule molécule efficace pour prévenir le rejet des greffes d'organes (Taylor DO 1997, Kobashigawa JA 1998, Spencer CM 1997). La cyclosporine est toutefois la seule molécule pour laquelle les cliniciens

ont beaucoup d'expérience et de recul, ce qui lui permet de conserver la première place comme médicament immunosuppresseur.

### 4.3 Effets secondaires de la cyclosporine

Le tableau 2 présente les effets secondaires de la cyclosporine et suggère les moyens de prévention ou un traitement possible à ces effets indésirables.

**Tableau 2.** Effets secondaires de la cyclosporine et traitements suggérés.

EFFETS	SYMPTÔMES	PREVENTION/TRAITEMENT
<b>RÉNALES</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>. oligurie</li> <li>. créatinine sérique↑</li> <li>. nécrose tubulaire aiguë</li> <li>. HTA</li> <li>. hyperkaliémie</li> <li>. œdème</li> <li>. acidose métabolique</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>. monitoring fréquent des concentrations sériques de cyclosporine (car associé avec des concentrations↑)→</li> <li>↓ la dose de cyclosporine et/ou ajouter un autre immunosuppresseur</li> <li>. attention aux IECA (inhibiteur de l'enzyme de conversion de l'angiotensine) comme anti-hypertenseur</li> <li>. éviter les autres médicaments néphrotoxiques (AINS..)</li> </ul>
<b>HÉPATIQUES</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>. bilirubine↑</li> <li>. cholestase</li> <li>. enzymes hépatiques (ALT, AST)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>. monitoring de la fonction hépatique</li> </ul>
<b>NEUROLOGIQUES</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>. tremblements</li> <li>. paresthésies</li> <li>. convulsions</li> <li>. changement de la vision</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>. les tremblements↑ avec le temps ou avec↑ de la dose</li> <li>. surveiller les concentrations de Mg<sup>++</sup> et donner un supplément au besoin</li> <li>. surveiller HTA</li> <li>. peut nécessiter un changement de lunette</li> </ul>
<b>DERMATOLOGIQUES</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>. hirsutisme (visage, tronc)</li> <li>. hyperplasie gingivale, saignements de gencives</li> <li>. acné</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>. teinture des poils indésirables</li> <li>. bonne hygiène dentaire, rendez-vous régulier chez le dentiste, peut demander une chirurgie dentaire (traitement à l'érythromycine possible)</li> <li>. changer de médicament→tacrolimus (pas d'effets dermatologique)</li> </ul>

<b>GASTRO- INTESTINAUX</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>. diarrhée</li> <li>. anorexie</li> <li>. ballonnement</li> <li>. nausées, vomissements</li> </ul>	
<b>ENDOCRINIENS- MÉTABOLIQUES</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>. ↑ cholestérol</li> <li>. ↑ triglycérides</li> <li>. hyperuricémie</li> <li>. hypomagnésémie</li> <li>. gynécomastie</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>. médicaments hypocholestérolémiant (attention au risque de rhabdomyolyse)</li> <li>. traiter s'il y a présence de goutte</li> <li>. peut nécessité des suppléments de Mg<sup>++</sup></li> </ul>
<b>IMMUNOLOGIQUES</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>. ↑ risque d'infection</li> <li>. ↑ risque de cancer</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>. surveiller les signes et symptômes d'infection</li> <li>. application de crème solaire</li> </ul>

La néphrotoxicité peut être aiguë ou chronique. La toxicité rénale est fortement liée aux concentrations sanguines élevées de cyclosporine, principalement en début de traitement (First MR 1993, Holt DW1991). Les infections sont aussi plus fréquentes pendant les deux premiers mois de traitement et sont associées aux doses élevées de cyclosporine (Miller LW 1994). Les autres effets toxiques majeurs sont l'hypertension retrouvée chez 50% à 90% des patients, le développement de maladies des artères coronaires et l'apparition des lymphomes (Bernabeu M 1993, Haverich A 1994). Ces effets seraient aussi associés aux concentrations sanguines de cyclosporine.

#### **4.4 Interactions médicamenteuses de la cyclosporine**

Les interactions liées à la cyclosporine sont principalement causées par leur interférence au niveau du métabolisme de la cyclosporine par le cytochrome P450 CYP3A. Puisque de nombreux médicaments sont métabolisés par cette enzyme, et étant donné le risque de toxicité à la cyclosporine, (SNC, rénale, ...) ces interactions doivent être surveillées de façon très étroite. Le tableau 3 représente les principaux médicaments qui interagissent avec la cyclosporine.

**Tableau 3.** Interactions médicamenteuses avec la cyclosporine

EFFET	INTERACTION MAJEURE	INTERACTION SUSPECTÉE
Médicaments qui <b>augmentent</b> les concentrations sanguines	. clarithromycine . clotrimazole . diltiazem . erythromycine . fluconazole	. itraconazole . jus de pamplemousse . kétoconazole . vérapamil . amiodarone . bromocriptine . captopril . cimétidine . contraceptifs oraux . danazol . doxyxycline . métoclopramide . midazolam . nicardipine . omeprazole . propafenone . tacrolimus . tamoxifen
Médicaments qui <b>diminuent</b> les concentrations sanguines	. carbamazépine . isoniazide . phénytoin . rifabutine . rifampicine . octréotide (CsA p.o seulement)	. aluminium hydroxyde . dexaméthasone . magnesium oxide . phénobarbital
Médicaments qui augmentent la <b>néphrotoxicité</b>	. ACE . acyclovir . AINS . aminosides . amphotéricine B . ciprofloxacine . cisplatine . vancomycine	
Médicaments qui causent <b>d'autres effets</b>		. colchicine (↑ effet sec) . digoxine (↑ effet digoxine) . HMG-COA réductase (↑ myopathies)

#### 4.5 La cyclosporine Néoral<sup>®</sup>

La cyclosporine Neoral<sup>®</sup> est une nouvelle formulation de cyclosporine présentée sous forme de microémulsion. L'ancienne formulation était la cyclosporine Sandimmune<sup>®</sup> qui est maintenant retirée du marché canadien. L'absorption de cette formulation était complexe et dépendante de la prise de nourriture et de la présence de sels biliaires. La formulation sous forme de microémulsion améliore le profil d'absorption qui est indépendant des pics de sécrétions biliaire et des repas (Kovarik JM 1994, Freeman D 1995, Mueller EA 1994).

## 5. PHARMACOCINÉTIQUE DE LA CYCLOSPORINE

### 5.1 Modèles pharmacocinétiques

La majorité des modèles pharmacocinétiques utilisés pour la cyclosporine dans la littérature sont des modèles à deux compartiments. Certains auteurs ont décrit un modèle à trois compartiments afin d'inclure la phase de distribution entre le plasma et les érythrocytes (Fahr A, 1993). Cependant, en mesurant les concentrations de cyclosporine dans le sang total, il n'est pas nécessaire de quantifier ce compartiment. De plus, la distribution entre le plasma et les érythrocytes est tellement rapide (environ 10 min) qu'il serait difficile de le quantifier de toute façon. Présentement, la majorité des études pour estimer les paramètres pharmacocinétiques de la cyclosporine Néoral<sup>®</sup> ont utilisé la méthode non compartimentale (Mikhail G 1994, White M 1997, Fiocchi R 1994).

### 5.2 Paramètres pharmacocinétiques

Le tableau 4 résume la valeur des différents paramètres pharmacocinétiques de la cyclosporine en fonction de la forme pharmaceutique utilisée (Néoral<sup>®</sup>, Sandimmune<sup>®</sup>, ou cyclosporine intra-veineuse), du liquide biologique étudié (sang total ou plasma), du type de transplantation et de la méthode de dosage analytique employée pour la cyclosporine.

#### 5.2.1 Biodisponibilité (F)

La biodisponibilité est fonction du degré d'absorption de la cyclosporine et de son élimination au moment du premier passage hépatique et gastro-intestinal. La biodisponibilité de la cyclosporine conventionnelle (Sandimmune<sup>®</sup>) varie entre 8% et 60% avec une moyenne d'environ 30% à 35% (Fahr A 1993, Lemaire M 1990). La présence de bile, d'aliments riches en lipides, les variations circadiennes, la motilité gastro-intestinale, la

fonction de la forme utilisée.

para. pk	Méthode de calcul pk	Véhicule	Forme de CsA	Transplantation	Méthode d'analyse	Moy. ± std	Référence	
F (%)	non cpt	sang	Sandimmune Neoral	hépatique	RIA mono.	2.3±1.1	Trull '95	
	non cpt	sang	Sandimmune	hépatique	HPLC	12.6±8	Klompmaker '93	
	non cpt	plasma	Sandimmune	rénale	HPLC	8.2±3.2	Gupta '89	
	2 cpt	sang	Sandimmune	rénale (enfants)	RIA mono.	36±12	Jacqz-Aigrain '94	
	non cpt	sang	Sandimmune	Coeur Poumon (fib kystique) (Eisen. Sx.)	RIA mono.	41±15	Tan '93	
	non cpt	sang	Sandimmune	volont. sains	RIA mono.	21.5±9	Ducharme '95	
V/F (L/kg)	2 cpt	sang	Sandimmune Neoral	rénale	HPLC	130±70	Kovarik '94	
	2 cpt	plasma	CsA iv	rénale	HPLC	94±44	Gupta '87	
	1 cpt	sang	Sandimmune	volont. sains	RIA poly.	4.6±2.3	Johnston '86	
	2 cpt	sang	CsA iv	volont. sains	HPLC	227±78	Ptachcinski '87	
	2 cpt	sang	Sandimmune	rénale (enfants)	RIA poly.	1.25±0.3	Jacqz-Aigrain '94	
	non cpt	sang	Sandimmune	Coeur Poumon (fib kysiquet) (Eisen. Sx.)	RIA mono.	1.5±0.6	Tan '93	
	non cpt	sang	CsA iv	Volont. sains	RIA mono.	2.8±1.1	Ducharme '95	
		non cpt	sang	Sandimmune	Volont. sains	RIA mono.	2.2±0.6	
		non cpt	sang	CsA iv	Volont. sains	RIA mono.	82±26	
		non cpt	sang	CsA iv	Volont. sains	RIA mono.		

\* Vd rapporté en L.

para. pk	Méthode de calcul pk	Véhicule	Forme de CsA	Transplantation	Méthode d'analyse	Moy. ± std	Référence
T <sub>1/2</sub> (h)	2 cpt	sang	Sandimmune Neoral	volont. sains	RIA mono.	9.5±4.2	Mueller '94
	2 cpt	sang	Sandimmune Neoral	rénale	HPLC	7.7±4.2	Kovarik '94
	2 cpt	plasma	CsA iv	rénale	HPLC	7.45	Gupta '87
	1 cpt	sang	Sandimmune	volont. sains	RIA poly.	4.2±0.6	Johnston '86
	2 cpt	sang	CsA iv	volont. sains	HPLC	6.2	Ptachcinski '87
	2 cpt	sang	Sandimmune	rénale (enfants)	RIA poly.	7.8	Jacqz-Aigrain '94
	non cpt	sang	Sandimmune	Volont. sains	RIA mono.	6.96±3.2	Ducharme '95
	non cpt	sang	Sandimmune	Volont. sains	RIA mono.	6.3±3.3	Ducharme '95
Cl/F (L/h/kg)	2 cpt	plasma	CsA iv	rénale	HPLC	0.6±0.2	Gupta '87
	1 cpt	sang	Sandimmune	volont. sains	RIA poly.	37.6±13 #	Johnston '86
	non cpt	sang	Sandimmune	hépatique	HPLC	0.44±0.1	Klompmaker '93
	2 cpt	sang	CsA iv	volont. sains	HPLC	0.23	Ptachcinski '87
	Non cpt	plasma	Sandimmune	rénale	RIA poly.	0.17	Gupta '89
	2 cpt	sang	Sandimmune	rénale (enfants)	HPLC	0.3±0.16	Jacqz-Aigrain '94
	2 cpt	sang	Sandimmune	Coeur Poumon (fib. kystique) (Eisen. Sx.)	RIA mono.	0.65±0.2	Tan '93
	non cpt	sang	CsA iv	Volont. sains	RIA mono.	1.46±0.5	Ducharme '95
	non cpt	sang	CsA iv	Volont. sains	RIA mono.	0.58±0.1	Ducharme '95
	non cpt	sang	CsA iv	Volont. sains	RIA mono.	19±3 #	Ducharme '95

# Cl/F rapportée en L/h



race, le temps écoulé depuis la transplantation et les interactions médicamenteuses influencent sa biodisponibilité. (Grevel J 1990, Niven AA 1988, Fahr A 1993, Lemaire M 1990).

Avec la cyclosporine, l'absorption est plus rapide et complète. La majorité des études sur la pharmacocinétique de ce médicament ont été réalisées chez des patients ayant subi une transplantation rénale. L'amélioration de la biodisponibilité se traduit par une augmentation de la surface sous la courbe des concentrations sanguines de cyclosporine en fonction du temps de 15% à 35% et de la concentration sanguine maximale ( $C_{max}$ ) de 36% à 67%, et d'une diminution du temps ( $T_{max}$ ) où survient la concentration maximale ( $C_{max}$ ) comparativement à la formulation traditionnelle (Holt DW 1994, Sketris IS 1994, Levy G 1994). Les mêmes résultats sont obtenus lorsque les études évaluent la pharmacocinétique de la cyclosporine Néoral<sup>®</sup> des patients avec une transplantation cardiaque (Mikhail G 1994, Fiocchi R 1994, White M 1997).

### 5.2.2 Volume de distribution (Vd)

Le volume de distribution (Vd) basé sur la moyenne des données sanguines de la cyclosporine est d'environ 3.5 L/kg (Yee GC 1992). Les facteurs qui influencent la distribution de la cyclosporine sont les lipoprotéines sériques à faible densité (LDL), la masse corporelle du patient, l'état clinique du patient et probablement l'hématocrite (Grevel J 1990, Yee Gc 1992, Fahr A 1993).

### 5.2.3 Temps de demi-vie et clairance ( $t_{1/2}$ , Cl)

Il est bien connu que la cyclosporine est un substrat pour les enzymes du cytochrome P450 CYP3A (Kronbach T 1988) de la muqueuse du tube digestif et du foie.(Kolars JC

1991, Fahr A 1993). On estime que 15 à 30% de la dose de cyclosporine est métabolisée par ces enzymes avant d'atteindre la circulation systémique (Ducharme MP 1995). La concentration des nombreux métabolites (>30) (Holt DW 1994) dépend de l'âge, du sexe, du taux de triglycérides, de la fonction hépatique du patient, du type de transplantation et du temps écoulé depuis la transplantation (Fahr A1993, Grevel J 1990, Lemaire M 1990). Les métabolites sont éliminés principalement par la voie biliaire (Holt DW 1994). Le temps de demi-vie moyen basé sur les données sanguines est d'environ 6 à 24 heures. La clairance sanguine est d'environ de 5 à 10 mL/min/kg (Yee GC 1992).

## 6. MONITORAGE SANGUIN DE LA CYCLOSPORINE

Tel qu'il est discuté précédemment, en raison de son index thérapeutique étroit, la cyclosporine demande une surveillance thérapeutique attentive. Plusieurs méthodes de monitoring peuvent être utilisées pour déterminer la dose de cyclosporine à administrer afin d'obtenir une concentration sanguine désirée. Certaines méthodes sont présentées ci-dessous.

### 6.1 Concentrations sanguines minimales (C<sub>min</sub> ou creux)

L'utilisation des concentrations sanguines minimales de cyclosporine obtenues lors d'un prélèvement avant l'administration d'une dose, est la technique la plus largement utilisée. Ceci en raison de la simplicité de cette méthode qui ne demande qu'un seul prélèvement. De plus, plusieurs études utilisent la concentration de cyclosporine minimale pour évaluer sa relation avec son efficacité et sa toxicité. Certains auteurs démontrent que la

concentration minimale de cyclosporine obtenue influence directement l'incidence de rejet, de toxicité, d'infections concomitantes et de réactions du greffon contre l'hôte (Moyer 1988, Bowers 1986, Irschilk 1984) mais la controverse existe (Grevel J 1993, Jennison SH 1994).

## 6.2. Surface sous la courbe (SSC)

La SSC peut être calculée selon plusieurs méthodes et permet de calculer les paramètres pharmacocinétiques d'un patient par la théorie des moments statistiques. Pour que ce calcul soit valable, la pharmacocinétique du médicament doit être linéaire et les prélèvements doivent provenir du compartiment où l'élimination a lieu. Cette méthode peut être utilisée avec la cyclosporine. Une bonne corrélation avec les rejets et la toxicité est obtenue avec la valeur de la surface sous la courbe. (Grevel J 1993, Lindholm A 1993, Takahara S 1994). Elle exige un grand nombre de prélèvements sanguins (entre 5 et 7), ce qui est difficilement réalisable en clinique et coûteux. Une méthode d'évaluation de la SSC avec trois prélèvements sanguins a été évaluée et montre une bonne correspondance à la méthode à 6 points (Serino F 1994). Récemment, un groupe d'experts a présenté une méthode d'approximation de la SSC de la cyclosporine Néoral<sup>®</sup> à partir de 2 points seulement. L'utilisation de cette méthode permet d'obtenir de 92 à 99% de la valeur obtenue avec une méthode à plusieurs points (Keown P 1998). Cependant, peu de résultats sont publiés pour conclure à une utilité de cette méthode.

### 6.3. Méthode bayésienne

Dans le monitoring pharmacocinétique individualisé traditionnel, l'exactitude des paramètres pharmacocinétiques calculés dépend de la qualité et de la quantité des concentrations sériques. Les paramètres pharmacocinétiques sont calculés en modélisant les concentrations observées à l'aide d'un modèle pharmacocinétique.

La méthode bayésienne permet «d'évaluer» les concentrations sériques médicamenteuses obtenues d'un patient avec celles que l'on s'attendrait à obtenir d'un patient typique provenant d'une population de patient similaire. Cette méthode utilise les paramètres pharmacocinétiques typiques provenant d'une population analysée à priori afin de modéliser les concentrations sériques d'un patient dans le but de calculer les paramètres pharmacocinétiques. Cette méthode applique le principe du théorème de Bayes pour estimer les paramètres pharmacocinétiques de chaque individu. Ce théorème est une expression de la probabilité de la valeur des paramètres pharmacocinétiques individuels. Cette probabilité est obtenue à partir des résultats des concentrations mesurées et prédites du médicament et en considérant les erreurs de mesure et la variabilité des paramètres pharmacocinétiques de la population. La minimalisation de la valeur de la fonction de Bayes permet d'obtenir les paramètres pharmacocinétiques individuels. Si la variance des concentrations mesurées est importante, la fonction de Bayes minimisera la valeur de ces observations. À l'inverse, si la variance des résultats est petite, la valeur de ceux-ci sera plus importante. Plus le nombre de concentrations médicamenteuses augmente, plus leur influence sur la fonction de Bayes augmente et

l'importance des paramètres pharmacocinétiques de la population diminue (Chandler, 1990, Peck, 1992).

Un des avantages de la méthode bayésienne est qu'elle offre plus de flexibilité car un nombre limité de prélèvements, voire un seul, peut être utilisé pour déterminer les paramètres pharmacocinétiques. C'est également une méthode conservatrice dans ses estimations car elle se base sur les concentrations mesurées du patient ainsi que sur les paramètres pharmacocinétiques de la population. Ainsi, une erreur dans un dosage chez un patient est minimisée par le fait que la population de référence est prise en considération. Par contre, le désavantage de cette méthode serait la difficulté d'identifier les paramètres pharmacocinétiques d'un patient «outlier » si le nombre de concentrations médicamenteuses est limité. Un délai pourrait alors être nécessaire pour obtenir un dosage optimal.

La méthode bayésienne a été utilisée fréquemment pour le monitoring d'autres médicaments. Elle s'est avérée supérieure ou équivalente aux autres méthodes d'évaluation (Desoky EEL 1993, Jellife RW 1991,1993,Thomson AH 1992). Avec la cyclosporine Sandimmune<sup>®</sup>, elle a été étudiée chez les patients après une transplantation rénale (Anderson JE 1994). Le pourcentage d'erreurs associé à ces prédictions était très grand. Les auteurs conclurent que la raison principale qui limite l'utilisation de cette méthode serait la grande variabilité de l'absorption de la cyclosporine principalement les premières semaines suivant la transplantation. Lorsque cette méthode est appliquée à la cyclosporine intraveineuse chez les patients subissant une transplantation de moelle osseuse, elle démontre une meilleure précision (Serre-Debeauvais 1990).

Les unités de mesure fréquemment utilisées pour évaluer la performance de la méthode d'estimation bayésienne sont habituellement celles recommandées par Sheiner et Beal . La précision est exprimée en terme de RMSE (root mean square error). Plus la valeur du RMSE est basse, meilleure est la précision. Le biais est exprimé en terme de ME (mean error). Une valeur positive indique que la concentration observée est inférieure à celle estimée et inversement. En absolue, plus la valeur est importante, plus le biais est grand (Sheiner 1981).

Pour obtenir un bon pouvoir prédictif avec la méthode bayésienne, les paramètres pharmacocinétiques de la population définis à priori doivent représenter précisément la population étudiée. Plus la population est homogène, plus la précision des résultats augmente. Différentes méthodes sont disponibles pour déterminer les paramètres pharmacocinétiques de la population. Certaines sont décrites ci-dessous.

## 7. MÉTHODES POUR ESTIMER LES PARAMÈTRES PHARMACOCINÉTIQUES DE LA POPULATION

Plusieurs méthodes statistiques permettent d'estimer les paramètres pharmacocinétiques d'une population en les traitant de façon à obtenir une moyenne et le coefficient de variation pour chaque paramètre. Ces résultats représentent la distribution des paramètres dans la population étudiée. Les méthodes paramétriques utilisent une distribution normale pour interpréter les données. Dans ce cas, la moyenne se situe au centre de la distribution normale et l'addition ou la soustraction de la variance regroupe 68% des valeurs de la

population. Les méthodes non-paramétriques ne se basent pas sur une distribution normale.

## **7.1 Méthodes paramétriques**

### 7.1.1 Naive pooled data approach

La «naive pooled data approach » consiste à combiner toutes les observations de paramètres pharmacocinétiques dans une même analyse afin d'obtenir une moyenne ainsi qu'une déviation standard de chacun des paramètres pharmacocinétiques. Par conséquent, un même patient peut contribuer plus qu'un autre aux résultats de la population si on possède pour celui-ci plus d'une seule détermination des paramètres pharmacocinétiques (Sheiner LB 1981).

### 7.1.2 Méthode conventionnelle à 2 étapes (« standard two-stage »)

La méthode conventionnelle à deux étapes consiste, comme son appellation l'indique, à déterminer les paramètres pharmacocinétiques de la population en procédant en deux étapes. La première étape de l'analyse consiste à identifier les paramètres pharmacocinétiques de tous les individus. Ceci peut être fait par différentes méthodes qui associent les concentrations médicamenteuses mesurées à un modèle ou encore par des techniques non compartimentales. La seconde étape est le calcul de la moyenne et de la variance des paramètres obtenus préalablement à la première étape (Steimer JL 1984).

Pour obtenir une bonne distribution de notre population deux facteurs sont importants à considérer. Premièrement, le nombre de prélèvement sanguin fait sur chaque patient doit être suffisant et les temps de prélèvements notés avec exactitude pour que les paramètres pharmacocinétiques individuels soient précis. Deuxièmement, le nombre de patients inclus dans l'analyse de population doit aussi être suffisant. Ces facteurs représentent les désavantages de cette méthode puisque la rigueur imposée par cette méthode pour les temps de prélèvements sanguins ainsi que leur nombre élevé implique des coûts importants et une augmentation des contraintes pour le patient. Cette méthode s'applique donc plus facilement dans le cadre d'une étude clinique plutôt que dans le cadre d'un suivi clinique de routine. Mais même dans le contexte d'une étude clinique, le nombre de patient est souvent trop petit pour représenter adéquatement la population vue dans le suivi clinique de routine.

### 7.1.3 Mixed Effect Modeling

Cette technique a été élaborée afin de pallier les inconvénients de la méthode standard à deux étapes. Les méthodes de population de « mixed effect modeling » permettent une meilleure différenciation entre la variabilité résiduelle (comprend la variabilité intra-individuelle et le bruit expérimental) et la « véritable » variabilité inter-individuelle des paramètres pharmacocinétiques (Sheiner LB 1981). Nous discuterons brièvement de deux méthodes : celle itérative à deux étapes (IT2S) et celle NONMEM. Cette dernière permet une estimation directe des paramètres pharmacocinétiques de la population en une seule étape (Steimer 1984). Une ou deux concentrations médicamenteuses, prélevées à des temps connus, chez beaucoup de patients peuvent constituer une base de données solide pour l'application de cette méthodologie. Elle exige moins de rigueur au niveau



du nombre de prélèvements sanguins par individu que celle d'IT2S. Par contre, elle demande un grand nombre d'individus (plus de 50-100). Avec cette méthode, les paramètres pharmacocinétiques individuels ne sont pas déterminés directement, mais peuvent être obtenues dans une seconde étape à l'aide de la méthode bayésienne. La méthode IT2S requière davantage d'observations par individu que la méthode NONMEM. Par contre, l'exactitude des ses résultats n'est pas aussi dépendante du nombre total d'individus. La méthode NONMEM est donc indiquée pour des études pauvres en observations avec beaucoup des patients, tandis que la méthode d'IT2S sera indiquée pour des études riches en observations avec un nombre moindre de patients.

## **7.2 Méthode non paramétrique**

### **7.2.1 NPEM (NonParametric Estimation Method)**

L'utilisation de la méthode non paramétrique permet de déterminer de façon mathématique les paramètres pharmacocinétiques de la population de façon globale en tenant compte de toutes les données, mêmes incomplètes, recueillies pour un patient donné. La méthode NPEM possède l'avantage d'identifier les sous-groupes d'une population (Mallet A 1988).

## 9. BUT DU TRAVAIL DE RECHERCHE

Le monitoring de la cyclosporine s'effectue encore de façon empirique en se fiant sur la concentration sanguine minimale. L'ancienne formulation de cyclosporine (Sandimmune<sup>®</sup>) avait une trop grande variabilité de l'absorption entre les individus et aussi pour un même individu pour obtenir une estimation satisfaisante des concentrations sanguines de cyclosporine et ce, même en utilisant une méthode bayésienne. Avec l'amélioration de la formulation de la cyclosporine (Néoral<sup>®</sup>) il semblait raisonnable de penser que l'application de la méthode bayésienne pourrait augmenter le contrôle des concentrations sanguines de cyclosporine en améliorant la performance de prédiction. Le but premier de notre travail de recherche est donc d'évaluer si la méthode bayésienne serait un outil utile aidant à optimiser l'ajustement posologique de la cyclosporine Néoral.

Une étude évaluant la cyclosporine Néoral<sup>®</sup> et Sandimmune<sup>®</sup> chez un groupe de patients avec une transplantation cardiaque a été effectuée à l'Institut de Cardiologie de Montréal. Avec l'utilisation des résultats de dosages sanguins de cyclosporine, chez ces patients transplantés ayant reçu la formulation Néoral<sup>®</sup>, il a été possible de procéder au projet de recherche. Le protocole a été préalablement approuvé par le comité scientifique de la recherche et le comité d'éthique de l'Institut de cardiologie de Montréal.

Notre travail de recherche est le premier qui utilise la méthode bayésienne pour prédire les concentrations sanguines de cyclosporine lorsque celle-ci est administrée sous forme de microémulsion. Pour y parvenir, le travail a été réalisé en deux étapes.

La méthode bayésienne implique une évaluation a priori des paramètres pharmacocinétiques de la population. Pour que la valeur de ces paramètres représentent bien la population étudiée, cela implique que le modèle qui décrit la pharmacocinétique de la cyclosporine soit précis. C'est ce qui a été fait au cours de la première étape.

Il fallait donc déterminer le modèle pharmacocinétique qui décrivait le mieux l'évolution des concentrations sanguines de la cyclosporine Neoral<sup>®</sup> chez les patients inclus dans l'étude.

La biotransformation représente un processus prédominant dans la pharmacocinétique de la cyclosporine. Même si le foie est reconnu pour être un site majeur du métabolisme, la muqueuse digestive contribue de façon importante à la biotransformation pré-hépatique, C'est pourquoi nous avons introduit l'effet de premier passage sur la cyclosporine par les enzymes de la muqueuse du tube digestif et du foie à un de nos modèles, afin de vérifier si cet ajout augmentait la précision du modèle. Un temps de latence a aussi été ajouté. Ceci a fait l'objet du premier article. Deux des modèles ont été retenus à la suite de cette analyse. Ce sont des modèles ouverts à deux compartiments incluant ou non le paramètre de biotransformation du premier passage. Cette étude est la première à inclure l'effet de premier passage d'un médicament par les enzymes de la muqueuse du tube digestif et du foie dans un modèle pharmacocinétique. Cette article a été publié dans « Therapeutic Drug Monitoring » en 1998.

Pour la deuxième étape, les paramètres pharmacocinétiques de la population devaient être définis. Cela a été fait pour chacun des modèles retenus avec la méthode itérative en deux étapes. Puisque nous nous sommes joints à un autre projet de recherche sur la pharmacocinétique de la cyclosporine, nous avons de nombreuses observations pour les

vingt patients inclus dans l'étude. La méthode itérative en deux étapes était donc un choix approprié. Par la suite, une évaluation du pouvoir prédictif de la méthode bayésienne a été effectuée. Les paramètres pharmacocinétiques ont été estimés avec 1,2 ou 3 concentrations sanguines de cyclosporine. La prédiction de la 4<sup>ème</sup> concentration a ensuite été faite en se basant sur les paramètres pharmacocinétiques obtenus avec 1, 2 et 3 prélèvements, afin de vérifier si le pouvoir prédictif s'améliorait avec le nombre d'échantillons sanguins. Cette opération a été effectuée pour chacun des deux modèles dans le but de déterminer si le fait d'ajouter le phénomène de premier passage améliore le pouvoir prédictif. Cette seconde partie du projet de recherche fait l'objet du deuxième article qui sera soumis dans la revue « Pharmaceutical Research ».

## Ability of a First-Pass Pharmacokinetic Model to Characterize Cyclosporine Blood Concentrations After Administrations of Sandimmune or Neoral Formulations

\*Murray P. Ducharme, \*†Lucie Verret, \*†Denis Brouillette, and \*Gérard Sirois

\*Faculty of Pharmacy, University of Montreal, and †Cardiology Institute, Montreal, Canada

---

**Summary:** Most recent cyclosporine (CsA) pharmacokinetic (PK) studies have focused on noncompartmental analysis. Because CsA undergoes significant first-pass elimination after oral dosing, the most appropriate compartment model may need to take this process into account for the construction of a valid population PK model for Sandimmune (SAN) and Neoral (NEO) formulations. Twenty patients with cardiac transplants were stabilized for at least 4 weeks on a certain dose of SAN, then changed to the same daily dose of NEO. Blood samples were obtained at times 0, 1, 2, 3, 4, 6 and 12 hours after dosing at steady state. Pharmacokinetic modeling was performed using ADAPT II. Quality of fit was assessed by visual graph inspections,  $R^2$  values, and Akaike criterion test. Eight pharmacokinetic models were constructed and evaluated. These included one- and two-compartment with and without a first-pass effect and a time-lag. Neoral and SAN data were consistently best fitted using a two-compartment or the two-compartment first-pass model. However, a time-lag process was found to be necessary for SAN. The use of a two-compartment first-pass with (SAN) or without (NEO) a time-lag process appears to fit CsA concentrations at least as well as a two-compartment model. This first-pass model may be very useful for population pharmacokinetics and Bayesian control analysis. **Key Words:** Cyclosporine—Pharmacokinetics—First-pass.

---

Cyclosporine (CsA) is widely used as an immunosuppressant after heart transplantation. It is a well known substrate for CYP3A enzymes (1) and after oral dosing undergoes extensive first-pass metabolism in the gut (2). Probably 15% to 30% of a dose of CsA will be metabolized by these enzymes in the gut before reaching the systemic circulation (3).

Sandimmune (SAN) (Novartis Canada, Dorval, Quebec, Canada) was the original formulation of CsA. A newer formulation, Neoral (NEO) (Novartis Canada), was marketed in Canada in 1995. Contrary to SAN, NEO is a microemulsion that is less dependent on bile salts for absorption, and patients treated with this formulation display a more predictable pharmacokinetic (PK) curve (4-5).

One of the most effective ways to ensure proper therapeutic drug monitoring is by using Bayesian control analysis with the proper population *a priori* information that comes from a population PK analysis. However, the PK model to be used has to be chosen carefully to ensure the most appropriate results possible. The objective of this study was to construct and find the most appropriate PK models to describe CsA whole blood concentrations after administering the SAN and NEO formulations to 20 patients with cardiac transplants.

### METHODS

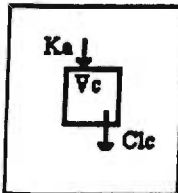
#### Sample Collection and Analysis

Whole blood concentration data from 20 patients with cardiac transplants were obtained from a study observing the conversion of patients from the SAN to the NEO

---

Received July 15, 1997; accepted October 13, 1997.

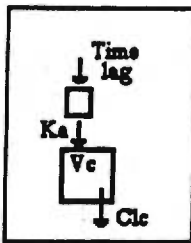
Address correspondence and reprint requests to Murray P. Ducharme, Faculty of Pharmacy, University of Montreal, P.O. Box 6128, Station Centre-Ville, Montreal, Quebec, Canada H3C 3J7.

**PHARMACOKINETIC MODELS****Graphic representation****Differential equations****Output equations****1) 1-compartment**

$$\frac{dX1}{dt} := -K_a \cdot X1$$

$$\frac{dX2}{dt} := K_a \cdot X1 - \frac{Clc}{Vc} \cdot X2$$

$$Y(1) := \frac{X2}{Vc}$$

**2) 1-compartment with time-lag**

$$Z := 0$$

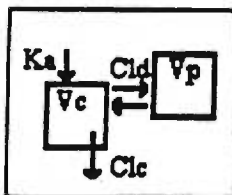
$$\text{If } T > T_{lag} \text{ Then } Z := 1$$

$$\frac{dX1}{dt} := -Z \cdot K_a \cdot X1$$

$$\frac{dX2}{dt} := Z \cdot K_a \cdot X1 - \frac{Clc}{Vc} \cdot X2$$

$$Y(1) := \frac{X2}{Vc}$$

Appendix: T, time (h); Tlag, Time-lag (h); X1 to X4, CsA amount (nmol) in compartments 1 to 4; Ka, first-order absorption rate constant (h<sup>-1</sup>); Ki, first-order transfer constant toward the first-pass compartment (h<sup>-1</sup>); K10, K23, and K32, first-order micro-constants (h<sup>-1</sup>); Cl<sub>d</sub>, distributional clearance (l/h); Cl<sub>c</sub>, clearance from the central compartment (l/h); V<sub>c</sub>, central volume of distribution (l); V<sub>p</sub>, peripheral volume of distribution (l); Y(1), CsA concentrations to be fitted (nmol/l).

**3) 2-compartment**

$$\frac{dX1}{dt} := -K_a \cdot X1$$

$$\frac{dX2}{dt} := K_a \cdot X1 - \frac{Clid}{Vc} \cdot X2 + \frac{Clid}{Vp} \cdot X3 - \frac{Clc}{Vc} \cdot X2$$

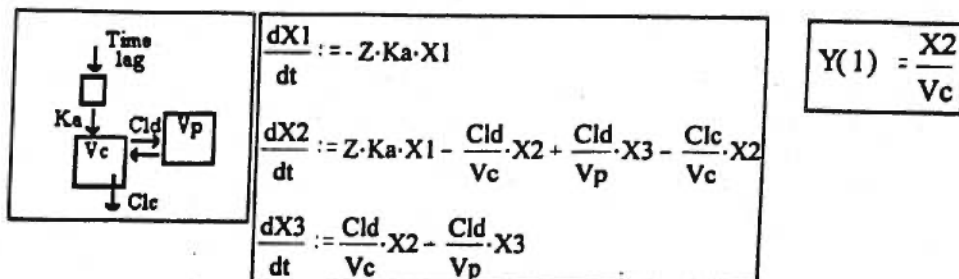
$$\frac{dX3}{dt} := \frac{Clid}{Vc} \cdot X2 - \frac{Clid}{Vp} \cdot X3$$

$$Y(1) := \frac{X2}{Vc}$$

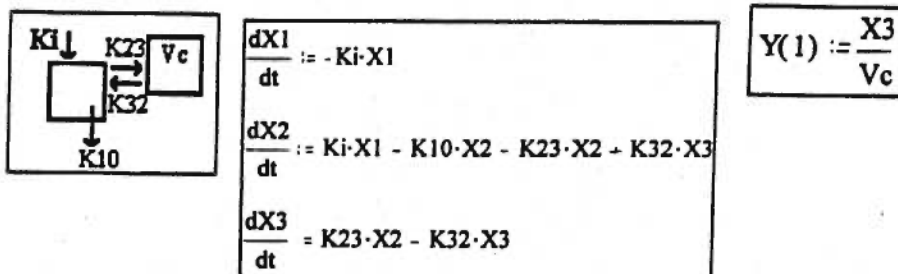
formulations after cardiac transplantation. All patients were stabilized for at least 4 weeks on the same dosage of SAN and gave informed consent before their inclusion in the study. Each patient had been transplanted for at least 4 weeks before being included in the study. Whole blood samples were taken at steady state during a dosage interval at times 0 (predose), 1, 2, 3, 4, 6, and 12 hours (before the next dose). Sandimmune doses were administered before a standard breakfast. After this evaluation,

patients started taking the same dosage of NEO for 4 weeks. After this time period, whole blood samples were again taken at times 0 (predose), 1, 2, 3, 4, 6, and 12 hours after dosing. Neoral doses were also administered before the standard breakfast. All samples were collected into EDTA-Vacutainer tubes (Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ, U.S.A.) and stored at -80°C before analysis. They were analyzed for CsA concentrations using fluorescence polarization immunoassay (TDx, Abbott

## 4) 2-compartment with time-lag

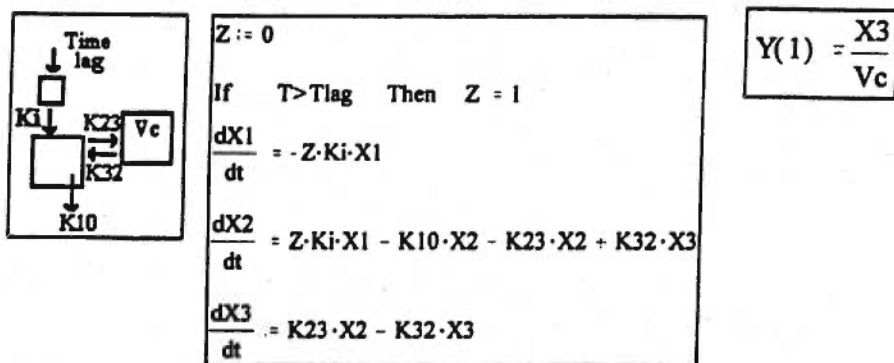


## 5) 1-compartment with first-pass



Appendix: Continued.

## 6) 1-compartment with first-pass and time-lag



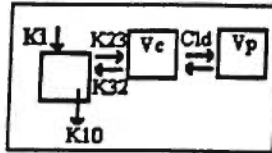
Diagnostics, Wiesbaden, Germany). Interday and intraday coefficients of variation were <5% and the limit of detection was 21 nmol/l.

## Pharmacokinetic Analyses

Pharmacokinetic analyses were performed using compartmental techniques (6-7). Eight PK models were

evaluated and are presented in the Appendix. They are in order of complexity, a one-compartment PK model without (#1) and with a time-lag feature (#2), a two-compartment PK model without (#3) and with a time-lag (#4), a one-compartment first-pass PK model without (#5) and with a time-lag (#6), and a two-compartment first-pass PK model without (#7) and with a time-lag

7) 2-compartment with first-pass



$$\frac{dX1}{dt} := -K1 \cdot X1$$

$$\frac{dX2}{dt} := K1 \cdot X1 - K10 \cdot X2 - K23 \cdot X2 + K32 \cdot X3$$

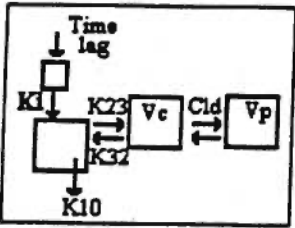
$$\frac{dX3}{dt} := K23 \cdot X2 - K32 \cdot X3 - \frac{Cld}{Vc} \cdot X3 + \frac{Cld}{Vp} \cdot X4$$

$$\frac{dX4}{dt} := \frac{Cld}{Vc} \cdot X3 - \frac{Cld}{Vp} \cdot X4$$

$$Y(1) := \frac{X3}{Vc}$$

8) 2-compartment with first-pass and time-lag

Appendix: Continued.



$$Z := 0$$

$$\text{If } T > Tlag \text{ Then } Z := 1$$

$$\frac{dX1}{dt} := -Z \cdot K1 \cdot X1$$

$$\frac{dX2}{dt} := Z \cdot K1 \cdot X1 - K10 \cdot X2 - K23 \cdot X2 + K32 \cdot X3$$

$$\frac{dX3}{dt} := K23 \cdot X2 - K32 \cdot X3 - \frac{Cld}{Vc} \cdot X3 + \frac{Cld}{Vp} \cdot X4$$

$$\frac{dX4}{dt} := \frac{Cld}{Vc} \cdot X3 - \frac{Cld}{Vp} \cdot X4$$

$$Y(1) := \frac{X3}{Vc}$$

#8). The differential and output equations describing these models are provided in the Appendix. Individual estimates of PK parameters were obtained with ADAPT-II using generalized least-squares analysis. Estimates of goodness of fit were provided by looking at the Akaike Information criterion test, the coefficient of determination values ( $R^2$ ), inspection of

weighted residuals versus the observed concentrations, and by visually inspecting graphs of fitted concentrations.

RESULTS

The average coefficient of determination between patients representing the quality of fit for the eight different

TABLE 1. Average coefficient of determination ( $R^2$ ) and the associated interindividual variability as a measure of the quality of fit of the eight different pharmacokinetic models investigated

	$R^2$	1-CPT	1-CPT TL	2-CPT	2-CPT TL	1-CPT FP	1-CPT FP TL	2-CPT FP	2-CPT FP TL
Sandimmune	Mean	0.64	0.70	0.67	0.76	0.56	0.21	0.75	0.93
	CV %	34	47	34	53	45	123	35	15
Neoral	Mean	0.78	0.57	0.88	0.33	0.55	0.19	0.86	0.55
	CV %	31	42	21	140	28	84	16	93

CPT, compartment; TL, time-lag; FP, first-pass.



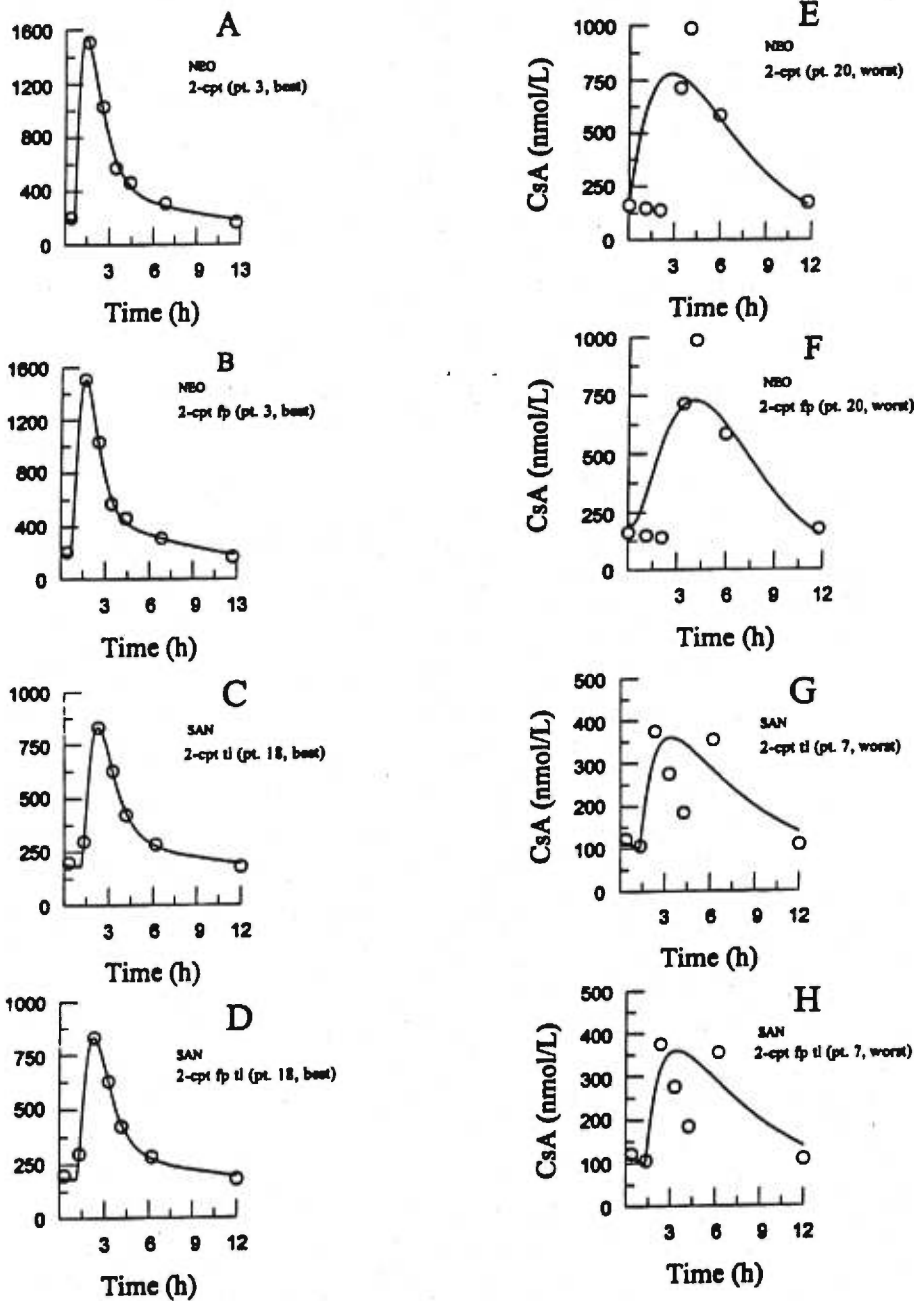


FIG. 1. Graphical representations of fitted (-) and observed (O) concentrations of CsA versus time after Neoral and Sandimmune administrations for the best (NEO: A, B; SAN: C, D) and worst (NEO: E, F; SAN: G, H) patient fits.

models are presented in Table 1. This parameter is a good idea if a model systematically fitted well or poorly CsA concentrations. For the SAN formulation, PK models that best described the observed concentrations were the two-compartment model with time-lag and the two-compartment first-pass model with time-lag. For the NEO formulation, the PK models that best described the observed concentrations were the two-compartment first-pass and the two-compartment model. These models were vastly superior to the other PK mod-

els in fitting NEO or SAN. The average R<sup>2</sup> values were much higher and the between-patient variability lower than with the other models.

Graphical representations of the worst- and best-fitted patients for CsA SAN and NEO observed concentrations are presented on Figure 1 (graphs A-H). It can be appreciated that no real differences existed between the two-compartment first-pass and the two-compartment PK model in the quality of fit. The observed concentrations that were the worst fitted (Fig. 1, graphs E-H) were

for patients exhibiting a delay before absorption of the NEO, and the ones exhibiting double absorption peaks with SAN.

## DISCUSSION

Most investigators have used noncompartmental analysis to describe concentrations of CsA obtained after administration of the NEO or SAN formulations. Unfortunately, this method of analysis is not well suited to population analyses, which are very useful for deriving robust PK parameters. These can then be used to optimize therapeutic drug monitoring in patients using Bayesian control analysis. This study aimed at determining the most appropriate compartmental PK model to describe observed concentrations of CsA after administration of the NEO or SAN formulations in patients with cardiac transplants. It has been demonstrated many times that a one-compartment model usually underestimates CsA elimination half-lives (9,10). This was seen in our analysis as one-compartment models, being first-pass or not, consistently missed lower concentrations of CsA after NEO or SAN formulations, and are thus inadequate to correctly characterize the terminal elimination phase.

Cyclosporine is a CYP3A substrate that undergoes significant first-pass metabolism in the gut and liver after oral dosing. This study aimed at determining if a first-pass PK model would explain CsA concentrations better than or as well as a classical PK model. To our knowledge, first-pass models have never been reported in a PK study before. However, Wagner (7) has proposed that such a model would be useful for a number of compounds. In this analysis, a first-pass PK model fitted observed concentrations of CsA as well as a classical two-compartment model. This, despite the increased complexity of the model, which considering the number of observations that we had per patient, attests to the possible usefulness of such a model for drugs exhibiting significant first-pass metabolism. The importance of the number of samples per individual that we had in this study may be diminished somewhat by using a population analysis. Therefore it remains to be seen whether using a population PK approach, such as NONMEM or IT2S, the first-pass model would appear to be superior in explaining observed concentrations of CsA NEO or SAN.

Three of our 20 patients exhibited a delay in the absorption process after NEO administration compared to eight when the SAN formulation was administered. This explains why a time-lag feature was necessary in the PK models with SAN. All the patients who exhibited an absorption lag with NEO also presented one with SAN.

Although the majority of patients were well fitted without a time-lag after the NEO administration, we think that such a factor should nevertheless be incorporated in the model. This parameter would simply be fitted to 0 if not needed and therefore should only help better fit concentrations of CsA in a population analysis. The failure of the time-lag models to better fit NEO in this study, as assessed by the average coefficient of determination, is probably the result of having to determine an extra parameter considering the limited number of samples per patient. For SAN, the observed CsA concentrations in some patients were not well fitted because of two absorption peaks. Four out of 20 patients exhibited double peaks and their observed concentrations were therefore not well fitted by any of our models. Thus, a suitable model for population analysis with the SAN formulation would need to incorporate two extra parameters. One would be another time-lag associated with the second absorption peak, similar to what Kovarik et al (11) have proposed, and the other parameter would be the percentage of the drug absorbed associated with the first time-lag. Only single peaks were seen after NEO administration.

In conclusion, we have proposed a first-pass two-compartment PK model that appears to fit observed concentrations of CsA as well as a classical two-compartment model. Our next step will be to compare these two models in a population analysis and derive CsA population PK parameters. This analysis will provide us with robust parameters to use with Bayesian control analysis, to optimize the use of CsA in our cardiac transplant population.

**Acknowledgment:** The authors thank Novartis Canada Inc. for providing data from the NOF-10B study, and for the travel assistance they provided the authors to present these results at the 1996 Annual Meeting of the College of Clinical Pharmacy.

## REFERENCES

1. Kronbach T, Fischer V, Meyer UA. Cyclosporin metabolism in human liver: identification of a cytochrome P-450 III gene family as the major cyclosporine-metabolizing enzyme explains interactions of cyclosporine with other drugs. *Clin Pharmacol Ther* 1988; 43:630-5.
2. Kolars JC, Awni WM, Merion RM, Watkins PB. First pass metabolism of cyclosporin by the gut. *Lancet* 1991;338:1488-90.
3. Ducharme MP, Warbasse LH, Edwards DJ. Disposition of intravenous and oral cyclosporine after administration with grapefruit juice. *Clin Pharmacol Ther* 1995;57:485-91.
4. Kovarik JM, Mueller EA, Van Bree JB, Arns W, Renner E, Kutz K. Within-day consistency in cyclosporine pharmacokinetics from a microemulsion formulation in renal transplant patients. *Ther Drug Monit* 1994;16:232-7.

5. Trull AK, Tan KKC, Uttridge J, Bauer T, Alexander GJ, Jamieson NV. Cyclosporin absorption from microemulsion formulation in liver transplant recipient. *Lancet* 1993;341:433.
6. Gibaldi M, Perrier D. *Pharmacokinetics*. 2nd ed. NY: Marcel Dekker, 1982.
7. Wagner JG. *Pharmacokinetics for the Pharmaceutical Scientist*. Lancaster: Technomic Publishing Company, 1993:59-62.
8. D'Argenio DZ, Schumitzky A. *ADAPT-II User's Guide*. LA: Biomedical Simulations Resource, University of Southern California, 1992.
9. Gupta SK, Legg B, Solomon LR, Johnson RWG, Rowland M. Pharmacokinetics of cyclosporin: influence of rate of constant intravenous infusion in renal transplant patients. *Br J Clin Pharmacol* 1987;24:519-26.
10. Fahr A. Cyclosporin clinical pharmacokinetics. *Clin Pharmacokinetics* 1993;24:472-95.
11. Kovarik JM, Vernillet L, Mueller EA, Freiburghaus R, Niederberger W, Kutz K. Cyclosporine disposition and metabolite profiles in renal transplant patients receiving a microemulsion formulation. *Ther Drug Monit* 1994;16:519-25.

**Population Pharmacokinetics of Cyclosporine in Cardiac Transplanted Patients and the Predictive Ability of a First-pass versus a Conventional Two-compartment model**

L. Verret<sup>1,2</sup>, D. Brouillette<sup>1,2</sup>, G. Sirois<sup>1</sup> and M.P. Ducharme<sup>1,3</sup>

*Montréal, Canada*

From the Faculté de Pharmacie, Université de Montréal<sup>1</sup>, Département de Pharmacie, Montreal Heart Institute<sup>2</sup>, and Phoenix International Life Sciences Inc.,<sup>3</sup> Montréal, Canada.

**Corresponding author and reprint request :**

Murray P. Ducharme, Pharm D

Director, Pharmacokinetics and Pharmacodynamics

Phoenix International Life Sciences

Montreal, Qc., Canada

Tel : (514) 333-0042 ext. 4520

Fax : (514) 333-7666

Key words : Cyclosporine, Pharmacokinetics, First-Pass, Bayesian

Short title : Predictive performance of a First-Pass PK model

**ABSTRACT****Purpose:**

1) To determine population pharmacokinetic (PK) parameters of cyclosporine (CsA) in a cardiac transplanted population using a first-pass and a conventional two-compartment PK model, and 2) to evaluate and compare the predictive abilities of these two population PK models using a bayesian algorithm in a naive heart transplant population.

**Methods.** Twenty heart transplant patients receiving CsA as a microemulsion (Neoral<sup>®</sup>) for immunosuppression following cardiac transplantation were included in the first population. Blood samples were obtained at times 0, 1, 2, 3, 4, 6 and 12 hours following the administration of a CsA dose at steady state of blood drug levels (obtained after a minimum of four weeks on a given adjusted daily dose of CsA). Population pharmacokinetic parameters were estimated using an iterative two stage methodology (IT2S) for the two chosen models. The predictive ability of both models was tested in a naive population of 20 patients using a bayesian feedback technique to estimate trough blood concentration of CsA at steady state.

**Results.** Both PK models described patient CsA blood concentration profiles very well. The present study also shows that for both PK models, individual PK parameters can be efficiently predicted by a bayesian technique with feedback data of trough blood drug concentrations at steady state. The prediction of trough levels of CsA is better when the number of these blood samples increases.

**Conclusions.** The investigation suggests that a bayesian approach using these PK models could be useful to promote an efficient clinical use of the Neoral<sup>®</sup> formulation of CsA in heart transplant patients.

**Key Words.** Cyclosporine, Pharmacokinetics, First-Pass, Bayesian

## INTRODUCTION

Despite years of clinical availability, CsA is still the main immunosuppressive drug used after cardiac transplantations. Since its clinical availability in 1980, the five-year survival rate of these patients has greatly improved, doubling from 40 to 80% (1). This mortality reduction has been mainly attributed to the reduction in the frequency and in the severity of rejection episodes (2).

Several studies have shown a relationship between CsA efficacy in decreasing the likelihood of rejection episodes and its mean blood concentration at steady state (3-5). High concentrations have, however, been associated with adverse events of which nephrotoxicity is one of the most important (4-5). To minimize this toxicity, it is suggested to avoid maintaining high CsA blood concentrations for a too long period of time (4). In that sense, CsA possesses a narrow therapeutic index. It is therefore recommended to perform therapeutic drug monitoring of CsA blood concentrations to optimize its clinical usage.

In contrast with the conventional formulation of CsA (Sandimmune<sup>®</sup>), the microemulsion preconcentrate (Neoral<sup>®</sup>) is associated with a more consistent absorption process which is said to be independent of the biliary secretion. This confers to this formulation an intra- and inter-patients pharmacokinetic profile that is less variable and therefore more predictable (6-8).

CsA metabolism has a major impact on its overall pharmacokinetic profile. It is well known that this drug is a CYP3A and P-GP substrate (9-11). CsA therefore undergoes a significant gut and hepatic first-pass effect (10,11). On average, approximately, 15 to 30% of an administered CsA dose of CsA may be metabolized by CYP3A or transported by P-GP before reaching the systemic circulation (12).

Maintaining CsA blood concentrations inside of a therapeutic range is difficult. Most clinicians adjust doses on an empirical basis. Trough blood concentrations of CsA at steady state are used because they are easily available clinically and it has been shown that there is a good relationship between their values and nephrotoxicity and graft rejection (4, 5). As is the case with many drugs, the area under the curve (AUC) of the blood drug concentration versus time would provide a target that would probably be better than trough blood drug concentrations when adjusting doses of CsA Neoral (13). However, this AUC approach would require several blood samples.

Bayesian control analysis are sometimes used by clinicians when performing therapeutic monitoring of some drugs with good results (14-16). To use this method, however, one must know "a priori" the population mean and inter- and intra-variability of the drug pharmacokinetic parameters values. Some have used bayesian control when trying to optimize the clinical usage of the old formulation of CsA (Sandimmune<sup>R</sup>). The results of these latter studies have however been to date disappointing (14,17).

This study had two main objectives in which we aimed at comparing a previously reported first-pass PK model with a standard two compartment PK model at describing blood concentrations of CsA in cardiac transplanted patients (18). The first objective was to determine population pharmacokinetic parameters(PK) of CsA in a cardiac transplant population of patient. The second objective was to evaluate the predictive performance of these population PK models using a bayesian control algorithm in predicting steady state trough blood concentrations of CsA in a naive population of patients.

## **MATERIALS AND METHODS**

***Subjects. Initial population.*** Twenty patients who received a cardiac transplantation at the Montreal Heart Institute were included in the study. All were men, aged between 28 and 65 years old (average: 54 years old), and weighed an average of 84 kg (range: 54-103 kg). The average time elapsed between the cardiac transplantation procedure and the beginning of the study was 5.2 years (2.3 to 9.1years). Concomittant medications were not allowed to be changed during the study. All patients presented a normal renal and hepatic function.

***Naive population.*** Data from twenty patients who are not corresponding to those of the initial population in order to avoid bias results, were included in the naive population. These patients were chosen in a random fashion among stable heart transplant patients treated with Neoral<sup>R</sup> CsA following organ transplantation in our Institute. These patients had to have used CsA for a minimum of 4 weeks, and received their new heart for at least 6 months prior enter into the study. One woman and 19 men were enrolled in the investigation The mean age was 47 years (27 to 62 ears). The mean time elapsed between the cardiac transplantation and the beginning of the study was 6.4 years ( 2.3 to 13 years). The mean body weight was 76 kg (55 to 95 kg).

**Plasma sampling and analytical assay.**

**Initial population.** All patients have been receiving a constant adjusted dosage of Neoral<sup>®</sup> CsA for at least four weeks. Each dose was given every twelve hours and the dose adjustment was done on an empirical basis in order to maintain a CsA trough blood concentration at steady state of 100 to 200 nmol/ L. Seven whole blood samples was drawn at steady state during a dosage interval at time 0 (predose) 1, 2, 3, 4, 6 and 12 hours (before the next dose) and the drug blood concentrations measured. The exact collected blood sample-times were noted. All samples were kept at room temperature and assayed in the following hours. They were analysed for CsA concentrations using fluorescence polarization immunoassay (FPIA). The FPIA was performed using the TDx assay procedure (Abbott company, Wiesbaden, Germany). Interday and intraday coefficients of variation (cv) were less than 5% and the limit of drug detection was 21 nmol/ L.

**Naive population.** One whole blood sample was drawn at the end of four consecutive dosage intervals from patients chosen at random and who were considered to be at steady state for whole blood drug levels. The four sampling times of blood withdrawals as well as the time of the last administered dose were noted. The same FPIA was also used as above for the analysis of the whole blood drug concentrations.

**Pharmacokinetic analysis.** The pharmacokinetic analysis were performed using compartmental pharmacokinetic techniques. In a previous study, we have evaluated eight different pharmacokinetic models in order to define the one that best characterized Neoral<sup>®</sup> CsA blood concentration profiles (18). One- and two-compartments model were evaluated with and without introduction of a lag time and for a first-pass parameter. From the eight different models investigated in the model discrimination process, we have chosen, for the present study, two models who appeared to be the most appropriate. Our choice was based on visual inspection of graphs representing blood drug concentrations versus time (observed and fitted data, inspection of weighted residuals (difference between fitted and observed blood drug concentrations) , and values of Akaike's information criterion test (19). These two models are schematically presented in Figure 1. Briefly, model 1 consisted in an open two-compartment model with a lag-time process. For model 2, we also added a first-pass



process representing the CsA metabolism in the digestive mucous and the liver . Mathematically, the pharmacokinetic models may be described by the rate equations given in figure 1, where Z is a « flag » enabling the calculation of a lag-time,  $T(h)$ , is the time, lag-time(h), is the time before the absorption process begins following oral drug administration;  $X(1)$  to  $X(4)$  (nmol/L) are the amount of drug in compartment 1 to 4, respectively;  $K_a$  ( $h^{-1}$ ) is the absorption rate constant;  $K_i$  ( $h^{-1}$ ) is the first-order transfer constant toward the first-pass compartment,  $K_{10}$ ,  $K_{23}$  and  $K_{32}$  ( $h^{-1}$ ) are the first-order microconstants;  $Cl_d$  (L/h), is the distributional clearance,  $CL_c$  (L/h), is the clearance from the central compartment;  $V_c$  (L), is the central volume of distribution;  $V_p$  (L), is the peripheral volume of distribution and  $Y(1)$ , is the CsA concentrations to be fitted (nmol/L).

Estimated lag-time values were obtained with the first population iteration. When this value was constant, it was fixed for each individual subjects before the initiation of further iterative processes of the population pharmacokinetic analysis. This step is necessary in order to make sure that lag-time value does not influence the values of the other pharmacokinetic parameters. Initial estimates of each individual pharmacokinetic parameters were first derived from generalized least squares analysis using the ADAPT II program from D'Argenio and Schumitzky (20). These estimates were then used as prior values for a population pharmacokinetic analysis using an iterative two-stage methodology (IT2S) (21).

Patient pharmacokinetic parameters in the initial population were estimated for each model and their mean, CV and matrix of variance were calculated. All the concentrations were evaluated with a weighting factor  $W_i$  of  $1/S_i^2$  where the variance  $S_i^2$  was calculated for every observation using the equation  $S_i^2 = (a \times Y_i + b)^2$  where the slope (a) represents the sum of all errors associated to each drug blood concentrations and the intercept (b) represents the limit of detection of the method of analysis.

For the predictive performance of the bayesian method in the naive population, the pharmacokinetic parameters for each model were first estimated for every patients with 1, 2 or 3 CsA blood concentrations using ADAPT-II program. The prediction of the fourth concentration was then obtained using the PK parameters estimated from 1, 2 and 3 trough blood concentrations in order to verify if the predictive performance of trough levels was better with an increase in the number of blood samples.

**Statistical analysis** Predictive performance of the bayesian method was evaluated according to Sheiner et Beal procedures(22). Precision is expressed in terms of the root mean squared prediction error (RMSE). The lower the value for RMSE, the greater is the precision. Bias is expressed in terms of the mean prediction error (ME). A calculated positive value indicates that the observed or actual concentration is lower than predicted. A negative bias means that the actual concentration is higher than predicted. Greater absolute values indicate greater bias. The relative performance between the two models was calculated by the use of the difference in MSE's ( $\Delta$ MSE) which measures the magnitude of any difference in precision. If its confidence interval does not include zero, the method with the smallest mse may be judged significantly more precise. If the confidence interval does include zero, one concludes that the difference in MSE's is not significant at the  $\alpha$  level used to compute the confidence interval. The  $\Delta$ ME and its confidence interval was used to determine if one model gives results significantly less biased.

**Ethics.** The study was approved by the ethics committee of Montreal Heart Institute and was performed in accordance with the Declaration of Helsinki. The patients were enrolled after granting written informed consent.

## RESULTS

The mean and the coefficient of variation (%) for the population pharmacokinetic parameters values of CsA following the administration of Neoral<sup>R</sup> are presented in Table I for each model. With the exception of the lag-time, little variability seems to exist between the individuals since the CV value is relatively small for every PK parameters evaluated. The two proposed PK models provided a excellent fit to the observed data following Neoral<sup>R</sup> CsA administration as demonstrated by each Pearson correlation coefficients of the models. Population observed and fitted mean blood CsA concentrations versus time for the two models are presented in Figure 2 with their coefficients of variation. The variation is more important for those withdrawn one hour and two hours after the administration of Neoral CsA. This fact could be assigned to a larger variability in CsA rate of absorption. Subjects who exhibited a better or poorer fit than others as determined by Akaike

criterion test, Pearson correlation coefficient and visual inspection of graphs (measured and estimated blood concentrations vs time) are presented in Figure 3 for model 1, and Figure 4 for model 2. In these two figures, it is seen that there are very little differences in the quality of the fit between these two patients. It can be appreciated by inspection of Figure 3 and 4 that no real differences existed between the two models in the quality of fit.

### ***Predictive ability of the models.***

The predictions of trough whole blood concentrations of CsA with bayesian method using 1, 2, or 3 blood samples are given in Table II.

The assessment of the predictive performance of the bayesian method are summarized in Table III. The mean prediction error or bias (ME) is positive for the two models, indicating that the model tends to overpredict the measured concentrations. But the absolute value of the bias being low, the overprediction is thus small. The root mean squares prediction error (RMSE) shows that the precision of the models improves when the number of samples for a patient is raising because this statistical parameter varies from 45 nmol/L to 31 nmol/L for one and three blood samples respectively, as feedback data, for the two models.

The relative performance between the models was calculated for each number of blood samples used for predicting trough blood drug levels and the results are presented in Table IV. It seems that there is no significant difference between the two models for an alpha of 0.05 in precision or bias because the confidence interval included the zero for the  $\Delta$ mse and  $\Delta$ me for any number of samples used .

## DISCUSSION

Bayesian control of drug concentrations, using a priori information from population pharmacokinetic studies, is a useful tool for the therapeutic drug monitoring of numerous drugs, particularly when their pharmacokinetics is complex, and when concentrations are sparse and not taken at steady state. In these cases, it is desirable to determine patient's PK parameters (i.e. volumes of distribution and clearances) in order to adjust doses precisely for obtaining certain target concentrations. PK parameters can still be obtained despite a sparse sampling situation using Bayesian control, because prior population informations such as average, inter and intra-individual variability in PK parameters are taken into account. Therapeutic drug monitoring of CsA is usually performed clinically using one whole blood sample taken, for practical purposes, just prior a dose (trough blood drug level). The utility of that sampling time has been demonstrated for CsA Sandimmune<sup>R</sup> in that trough values were allowing a better correlation with organ rejection and immunosuppression than peak blood concentration (4). Sandimmune<sup>R</sup>, the previously commercialized CsA formulation, suffered from a much more complexed absorption profile and was therefore associated with a larger variability in its PK parameters values. This was seen in a study in which authors have tried to perform therapeutic drug monitoring of CsA with Bayesian control, and where the predictability of the PK parameter values was poor (17). The present study is to our knowledge the first attempt with CsA Neoral, to demonstrate that Bayesian control of drug concentrations is useful and can lead to good predictions.

In order to use bayesian control for therapeutic drug monitoring of CsA, one must know *a priori* the mean values and the variability of the PK parameters in a patient population. This population has to present the same PK characteristics as the target population for therapeutic drug monitoring. Also, the PK model used has to be the most appropriate one at describing concentrations of CsA. In the past, most PK analysis of CsA have used non-compartmental techniques. Unfortunately, this method of analysis is not often well suited to therapeutic drug monitoring in clinical practice, due to the large numbers of observations that is required and the fact that drug concentrations are not necessarily obtained after either the first dose or at steady-state. Compartmental PK does not suffer from the latter and necessitates fewer observations in order to derive pharmacokinetic parameters,

especially when a population methodology or a bayesian control analysis are employed. In a previous study, we compared the ability of eight different compartmental PK models at describing whole blood concentrations profiles of CsA following Neoral<sup>R</sup> and Sandimmune<sup>R</sup> dosage forms administration. The two most appropriate models, a classical and a first-pass two-compartment PK models, were used in the present study to derive population PK parameters of CsA, after administration of Neoral<sup>R</sup> in patients recovering from cardiac transplantation. The present population PK results for each models can be used with a bayesian control algorithm to perform therapeutic drug monitoring of CsA.

The idea behind the first-pass PK model was to see if it would better describe the PKs of CsA, a well known CYP3A and P-Glycoprotein substrate which undergoes significant first-pass metabolism in the gut and liver after oral administration. Our proposed first-pass model incorporates a "liver" compartment into which the drug must distribute from the central compartment, in order to be eliminated. This means that the model already incorporates the liver first-pass metabolism that takes place after oral administration of CsA. The systemic availability  $F$  being equal to the product of the fractions of the dose escaping the first-pass by non absorption  $F_A$ , and by metabolism by the gastrointestinal mucosa  $F_G$  and the liver  $F_H$ , this explaining why volumes of distribution ( $V$ ) and clearances ( $CL$ ) are parameterized using this model as  $V/(F_A \times F_G)$  and  $CL/(F_A \times F_G)$ , respectively. It is, possible to verify if this model correctly estimates  $F_H$ . Firstly, CsA being almost entirely eliminated by the liver, the clearance  $CL$  approximates the hepatic clearance  $CL_H$ . Secondly, assuming an average bioavailability of CsA Neoral<sup>R</sup> of 60% and a constant liver blood flow of 1.5 L/min, this means that  $F_H$  should be approximate by equal to 0.87 (i.e.  $F_H = 1 - (CL_H)/(Q_H + CL_H)$ ). Therefore values of  $V$  and  $CL$  with the first-pass two-compartment model should be on average 13% lower than those obtained with the two-compartment model. In our analysis, we found that the values of  $V_{ss}$  and  $Cl_d$  values in the first-pass two-compartment model were 7% and 3% respectively lower than with the two-compartment model.

Models are only a simplification of what is really happening, and pharmacology is much more complicated than the models we are using. Golden rules of pharmacokinetics are the use of the simplest model possible that describe well drug blood concentration profile. Because CsA undergoes a significant first-pass metabolism in the gut and liver, it makes sense to take this step into account in

the pharmacokinetic model. Unfortunately, because the first-pass two-compartment model is more complexed than the conventional two-compartment model, extra parameters have to be derived. In this study, the conventional two-compartment model is described by six parameters while the first-pass model is described by eight. This may explain why the  $F_H$  is not perfectly approximated by our model. Population pharmacokinetic studies usually involve a large number of patients, usually more than 100, with a relatively small number of observations available per patient (1 or 2). These types of studies are termed "sparse-sampling". The NONMEM package(24) is considered by most pharmacokineticist to be the method of choice to correctly assess the pharmacokinetics of the drug and the inter- and intra-individual variabilities in PK parameters. When the number of subjects are lower and the number of observations per subject is higher, other methods may be more appropriate. Iterative two-stage methods have been proven to give robust results for these types of studies. Usually, in order to obtain precise results with the bayesian method, the population used to derived population pharmacokinetic parameters must include a sufficient number of patients to characterize all the variability existing in the entire cardiac transplant population of patients. In our investigation, only twenty patients were included. But, for each patient, we have seven CsA blood concentrations and consequently this high number of blood samples is compensating for the few number of patients included in the study. On the other hand, since all the patients studied to determine population pharmacokinetic parameters of CsA had a normal renal and hepatic functions, this could have limiting effect on the quality of bayesian estimation. In addition, the fact that the drug distribution volume was not normalized for body weight could also contribute to a variation in the bayesian results. This latter variation is however minimized if we consider that CsA distribution is restricted to lean body mass. Furthermore, although CsA is highly lipophilic, studies showed that volume of distribution is not larger for obese than non-obese patients.

For the evaluation of predictive performance of the bayesian feedback technique, both models gave a good estimation of CsA blood concentrations after administration of Neoral<sup>®</sup> with an error of 45 to 31 nmol/L depending on the number of blood samples used. But the models tend to overpredict the blood drug concentrations. The fact that naive population was different from the initial population used to estimate the a priori population pharmacokinetic parameters can be a factor of this

overprediction. In the naive population, patients with renal insufficiency or hepatic problems were not excluded. On the other hand, retrospective results of cyclosporinemia does not allow a control on the time of blood samplings and may influence the estimation of PK parameters. Also, for each patient, all blood samples were a through blood level which does not lead to a good evaluation of distribution volumes. An additional sample which would be drawn two hours after drug administration would give a better approximation of distribution volumes.

In the assessment as to whether the model with the introduction of the first-pass process is superior to the conventional two compartments model, the confidence interval for the relative performance, has shown that there is no significant difference in the quality of trough levels prediction for the two models when we based our predictions on one, two or three blood samples.

In conclusion, both models used to characterize CsA concentrations profiles give excellent results. The population pharmacokinetic parameters derived are robust. The use of the Bayesian method to predict CsA trough concentrations gives good results where the error of the precision observed the two PK models ranged from 45 to 31 nmol/L. Although, the introduction of the first-pass process in the modeling would have been expected to give better results, no significant differences were found in the estimation of a priori population PK parameters or in the prediction of trough blood drug levels at steady state. For both models the prediction of trough levels are better when the number of blood samples raises. Our findings suggest that the clinical use of Neoral<sup>R</sup> formulation of cyclosporine in heart transplant patients could be optimised by monitoring the pre-dose blood levels at steady state and by using bayesian prediction of trough blood drug levels.

#### **ACKNOWLEDGMENT**

We are thankful to Novartis Canada Inc. for travel assistance they provided us to present these results at the 1997 Annual Meeting of the American Society for Clinical Pharmacology and Therapeutics in San Diego, California.

## REFERENCES

- 1 G. Opelz for the collaborative transplant study. Multicenter evaluation of immunosuppressive regimens in heart transplantation. *Transplant.Proc.* **29**:617-19 (1997).
- 2 L.W. Miller. Optimal use of cyclosporine in cardiac transplantation. *Transplant. Proc.* **26(5)**:2700-03 (1994).
- 3 A. Lindholm, B.D. Kahan. Influence of cyclosporine pharmacokinetics, trough concentrations and AUC monitoring on outcome after kidney transplantation. *Clin.Pharmacol.Ther.* **54(2)**:205-217 (1993).
- 4 A. Lindholm, R. Dahlqvist, GG Groth and al. A prospective study of cyclosporine concentration in relation to its therapeutic effect and toxicity after renal transplantation. *Br.J.Clin.Pharmacol.* **30**:443-52 (1990).
- 5 E. Irschik, H. Tilg, D. Niederwieser and al. Cyclosporin blood levels do correlate with clinical complications. *Lancet.* 692-3 (1984).
- 6 J.M. Kovarik, E.A. Mueller, J.B. Van Bree and al. Within-day consistency in cyclosporine pharmacokinetics from a microemulsion formulation in renal transplant patient. *Ther.Drug.Monitor.* **16(3)**:232-37 (1994).
- 7 D. Freeman, D. Grant, G. Levy and al. Pharmacokinetics of a new oral formulation of cyclosporine in liver transplant recipients. *Ther.Drug.Monitor.* **17**:213-216.(1995).
- 8 M. White, G. Pelletier, A.Tan and al. Pharmacokinetic, hemodynamic, and metabolic effects of cyclosporin sandimmune versus the microemulsion Neoral in heart transplant recipients. *J.Heart.Lung.Transplant.* **16(8)**:787-94 (1997).
- 9 T. Kronbach, V. Fisher, U.A. Meyer. Cyclosporine metabolism in human liver : identification M. White, G.Pelletier, A.Tan and al. Pharmacokinetic, hemodynamic, and metabolic effects of a cytochrome P-450 III gene family as the major cyclosporine-metabolizing enzyme explains interactions of cyclosporine with other drugs. *Clin.Pharmacol.Ther.* **43**:630-35 (1988).
- 10 J.C. Kolars, W.M. Awni, R.M. Merion, P.B. Watkins. First pass metabolism of cyclosporin by the gut. *Lancet.* **338**:1488-90 (1991).



- 11 A. Farh. Cyclosporine clinical pharmacokinetics. *Clin. Pharmacokinet.* **24(6)**:472-95 (1993).
- 12 M.P. Ducharme, L.H. Warbasse, D.J. Edwards. Disposition of intravenous and oral cyclosporine after administration with grapefruit juice. *Clin.Pharmacol.Ther.* **57**:485-91 (1995).
- 13 P. Keown, B.D. Kahan, G. Levy and al. Optimization of cyclosporine therapy with new therapeutics drug monitoring strategies : Report from the international neoral TDM advisory consensus meeting (vancouver, november 1997). *Transpl Proc.* **30**: (1998). IN PRESS
- 14 A.H. Thomson , B. Whiting. Bayesian parameter estimation and population pharmacokinetics. *Clin.Pharmacokinet.* **22(6)** :447-67 (1992).
- 15 M.H. Chandler. Bayesian forecasting : theoretical and practical considerations in clinical pharmacokinetics. *Clinical trends in hosp pharmacy.* **4(20)**:17-20 (1990).
- 16 E.E.L. Desoky, J. Meinshausen , Bütil and al . Generation of pharmacokinetic data during routine therapeutic drug monitoring . Bayesian approach vs pharmacokinetic studies. *Ther.Drug.Ther.* **15(4)**:281-87 (1993).
- 17 J.E. Anderson, A.S. Munday, A.W. Kelman and al. Evaluation of a bayesian approach to the pharmacokinetic interpretation of cyclosporin concentrations in renal allograft recipients. *Ther.Drug.Monit.* **16(2)** :160-65 (1994)
- 18 M.P. Ducharme, L. Verret,D. Brouillette and al. Ability of a First-Pass pharmacokinetic model to characterize cyclosporine blood concentrations after administration of sandimmune or Neoral formulations. *Ther.Drug.Mon.* **20(2)**:165-71 (1998).
- 19 H. Akaike. A bayesian extension of the minimum AIC procedure of autoregressive model fitting. *Biometrika.* **66** :237-42 (1992).
- 20 D.Z. D'argenio, A.Schumitzky. ADAPT-II. Pharmacokinetic/Pharmacodynamic systems analysis software. User's guide. 1997. Biomedical simulations resource. University of southern California. Los Angeles.
- 21 D collins, and A Forrest. IT2S user's guide. State University of New York at Buffalo, Buffalo : 1995.
- 22 L.B. Sheiner, S.L. Beal. Some suggestions for measuring predictive performance. *J.Pharmacokinet.Biopharm.* **9(4)**:503-12 (1981).

- 23 J.G. Wagner. Pharmacokinetics for the pharmaceutical scientist. *Lancaster :Technomic Publishing Company Inc.* 59-62. (1993).
- 24 L.B. Sheiner, S.L. Beal. The NONMEM system. *Am Statistics* 34:118-119 (1980).

**TABLE I.** Cyclosporin mean PK parameter estimates and their interindividual variability (CV%) for each model after oral administration of Neoral<sup>®</sup>.

Model 1 : Two compartment model with lag-time process

PK parameters	Mean (CV%)
Tlag (h)	0.7 (99)
Ka(h-1)	8.40 (46.36)
CLc/F(L/h)	22.54 (24.37)
Vc/F (L)	27.41 (51.22)
CLd (L/h)	34.59 (22.62)
Vp/F (L)	183.5 (5.42)
R2	0.99 (0.40)

Model 2 : Two compartment model with lag time and first-pass process

PK parameters	Mean(CV%)
Tlag (h)	0.7 (85.8)
Ki (h-1)	6.88 (54.23)
K23 (h-1)	22.18 (10.33)
K32 (h-1)	33.84 (11.77)
CLd (L/h)	33.68 (18.49)
Vc/F (L)	7.87 (30.48)
Vp/F (L)	172.34 (30.26)
K10 (h-1)	2.26 (44.20)
R2	0.99 (0.26)

**TABLE II.** Observed blood CsA concentrations and prediction of blood CsA levels based on 1,2 or 3 blood samples for each model.

Patient s	True value(nm ol/L)	MODELE #1 (2 cpt + lag time)			MODEL #2 (2 cpt +lag time+first-pass)		
		Prediction for 1 sample (nmol/L)	Prediction for 2 samples (nmol/L)	Prediction for 3 samples (nmol/L)	Prediction for 1 sample (nmol/L)	Prediction for 2 samples (nmol/L)	Prediction for 3 samples (nmol/L)
1	189	225.5	188.9	188.1	221.4	188.1	123.5
2	138	122.4	128.7	124.6	120.5	126.4	123.5
3	188	257.1	220.9	206.9	257.6	226.1	209.7
4	154	249.9	22.9	200.4	248.7	225.6	201.5
5	190	142.3	165.7	163.8	131.9	160.9	170.2
6	145	129.1	139.4	160.4	135.5	142.2	160.8
7	193	212.3	199	205.2	211.7	198.4	204.5
8	165	180.3	177.1	167.1	174.3	174.2	165.2
9	208	230.1	195.2	226.5	230.1	197.3	223.3
10	165	230.6	213.1	203.1	234.3	218.9	206
11	184	217.1	225.9	203.1	217.3	222.8	203.3
12	161	129	142.1	130.5	135.4	144.4	132.7
13	206	228.5	201.9	209.4	232.4	207	213.1
14	172	185.9	180.9	192.7	182.5	181.4	192.9
15	206	210.9	217.9	219	208	218.5	219.2
16	168	191.8	182.9	173.3	191.4	182.7	174.1
17	129	154.1	156	159	159.9	159	165.9
18	127	142.9	158.7	165.3	139.9	160.4	164.7
19	136	232.5	230.8	207.6	233.5	232.7	203.9
20	201	140	123.3	132.1	146.1	130.7	136.5

**TABLE III.** Predictive performance for the two models

Model 1 : Two compartments with lag time

	1 sample	2 samples	3 samples
me +/- se me	19.36+/- 9.36	12.31+/- 8.19	10.65+/- 6.78
rmse +/- se rmse	45.17+/- 25.23	37.77+/- 23.24	31.42+/- 18.13

Modèle 2 : Two compartments with lag time and first-pass

	1 sample	2 samples	3 samples
me +/- se me	19.36+/- 9.41	13.54+/- 8.21	10.55+/- 6.89
rmse +/- se rmse	45.35+/- 25.40	38.24+/- 23.26	31.82+/- 17.21

**TABLE IV.** Relative performance of the two models

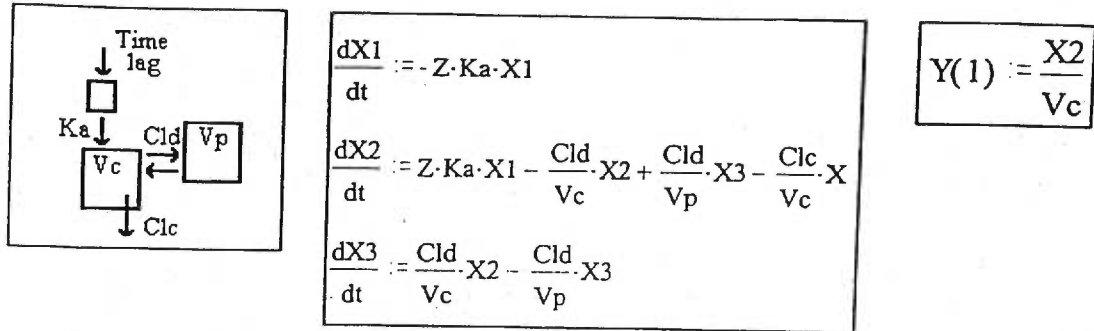
	1 sample	2 samples	3 samples
$\Delta$ me +/- se $\Delta$ me	-16.54+/- 80.71	-35.92 +/- 74.77	-25.85+/- 110.02
$\Delta$ me +/- se $\Delta$ me	0 +/- 1.00	-1.235 +/- 1.52	0.1 +/- 1.40

**Legends for figures**

- Figure 1. Structural representation of the two PK models. See text for definitions of abbreviations.
- Figure 2. Graphical representations of fitted (-) and observed (•) (+/- SD) population cyclosporine blood concentrations versus time for the two models.
- Figure 3. Graphical representations of fitted (-) and observed (•) cyclosporine blood concentrations versus time for the best and worst patient fits for model 1 (2cpt+ time-lag).
- Figure 4. Graphical representations of fitted (-) and observed (•) cyclosporine blood concentrations versus time for the best and worst patient fits for model 2 (2cpt+lag time+first-pass).

FIGURE 1. Structural representation of the two PK models. See text for definitions of abbreviations.

Model 1 : Two-compartment model with lag-time process



Model 2 : Two-compartment model with lag-time and first-pass processes

8) 2-compartment with first-pass and time-lag

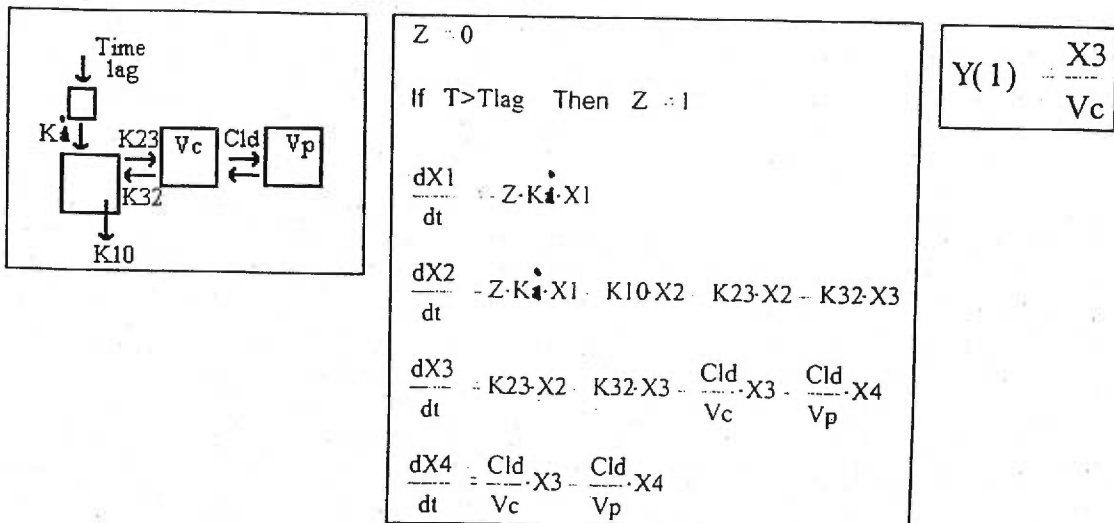


FIGURE 2. Graphical representations of fitted (-) and observed (•) (+/- SD) population cyclosporine blood concentrations versus time for the two models.

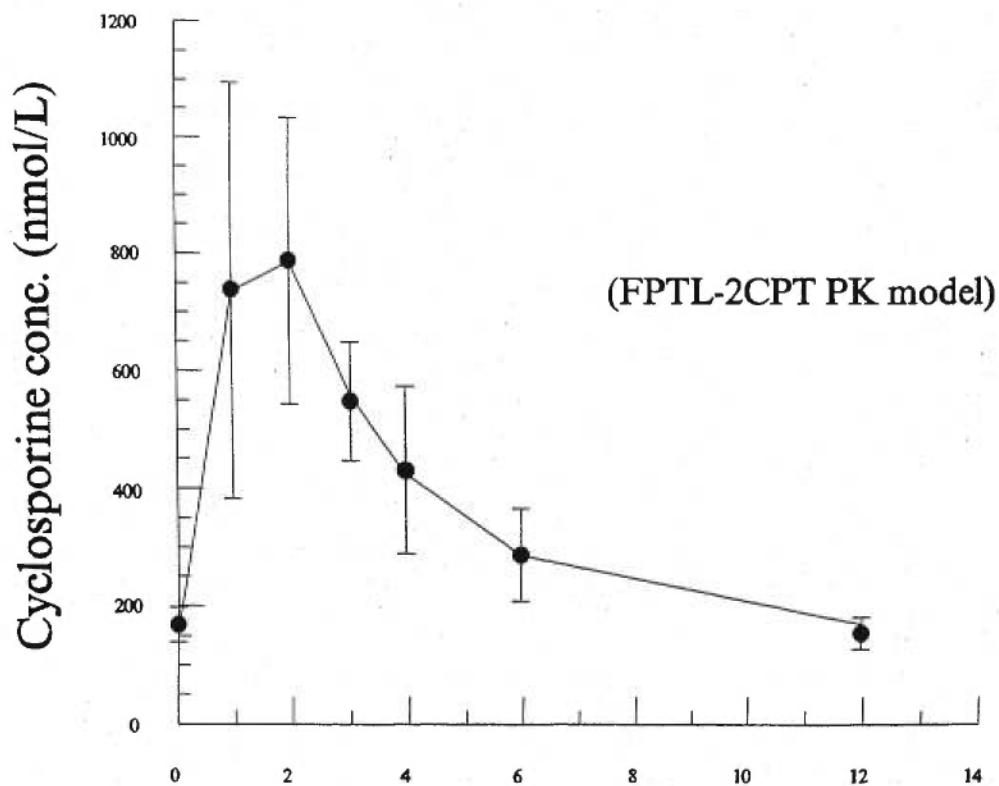
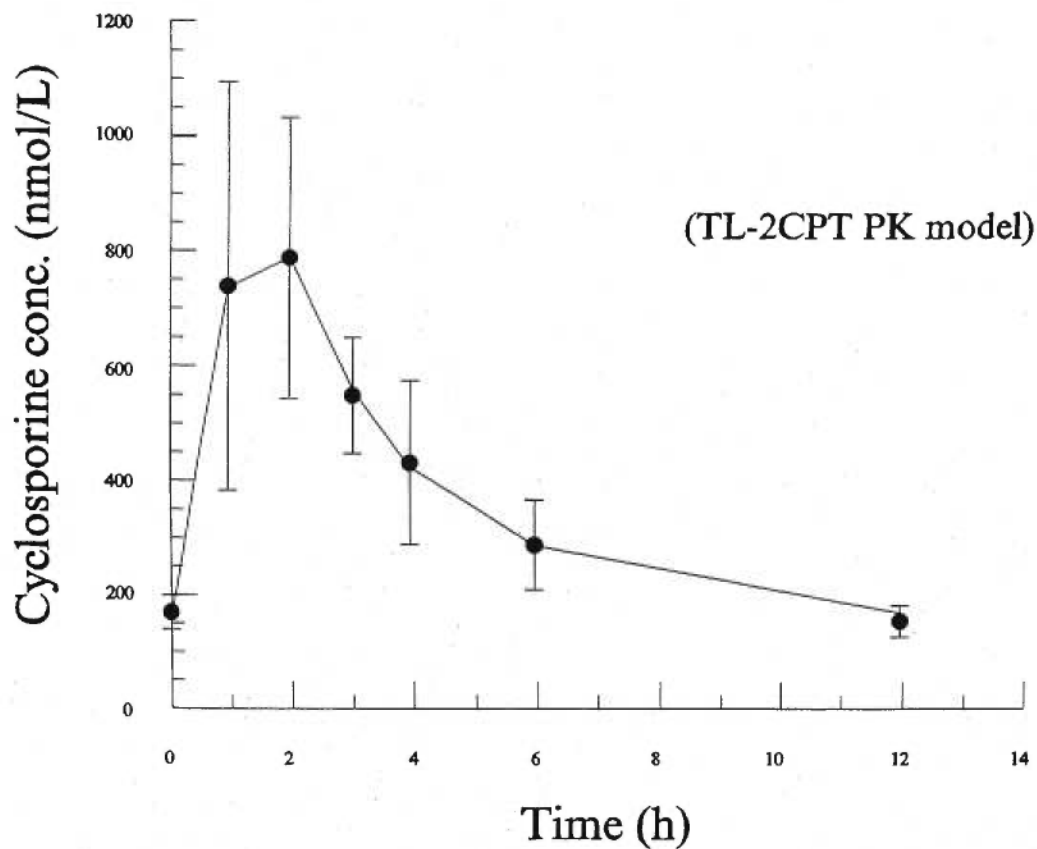




FIGURE 3. Graphical representations of fitted (-) and observed (•) cyclosporine blood concentrations versus time for the best and worst patient fits for model 1 (2cpt+ time-lag).

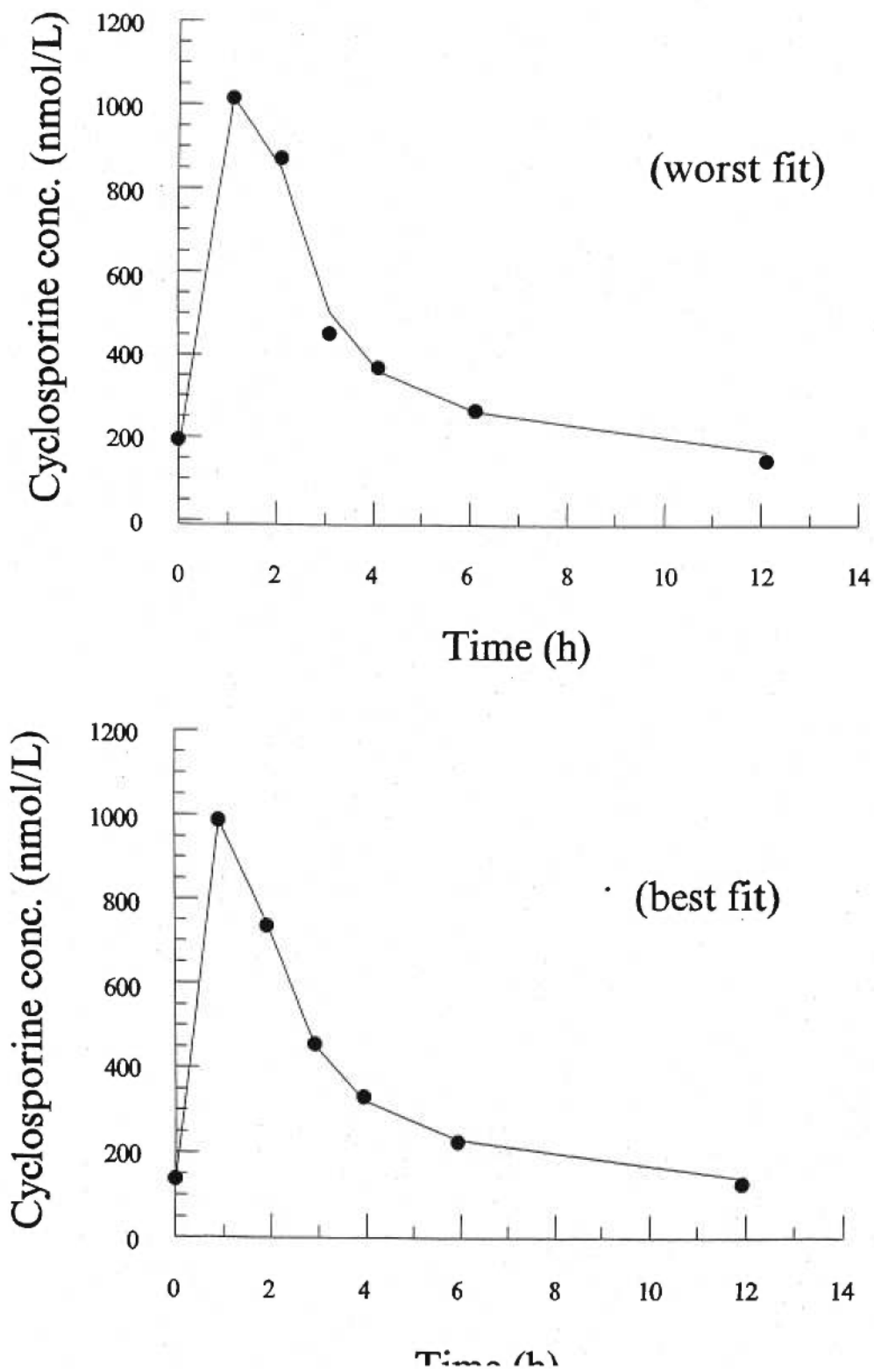
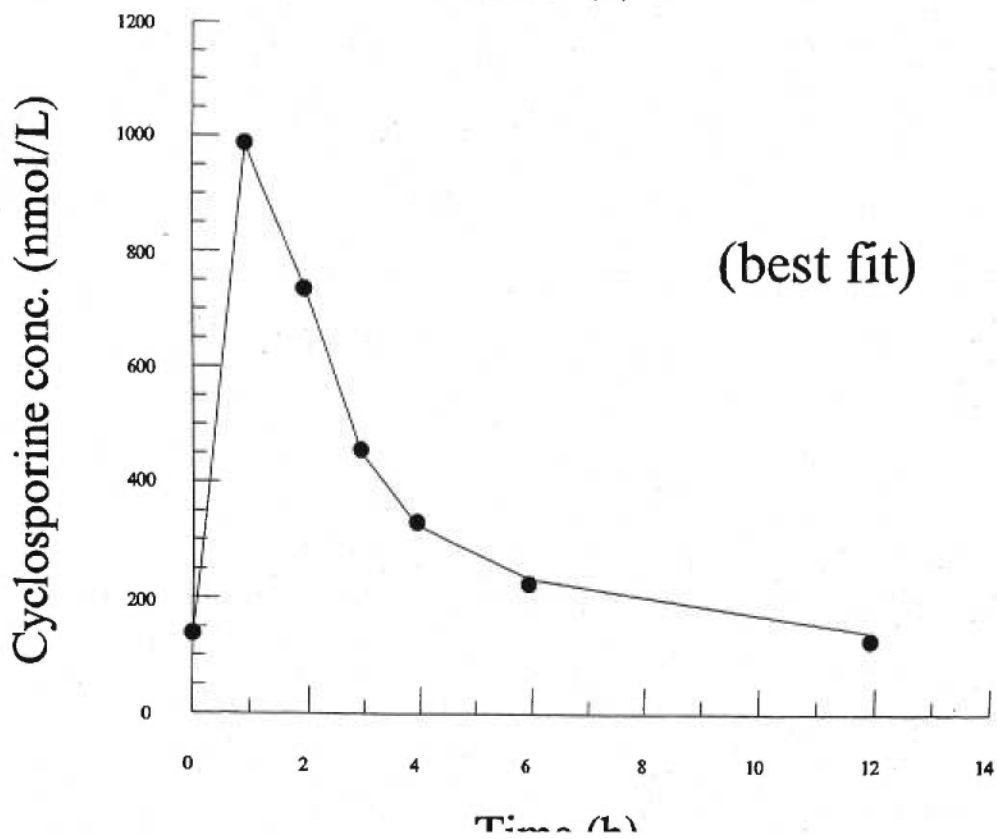
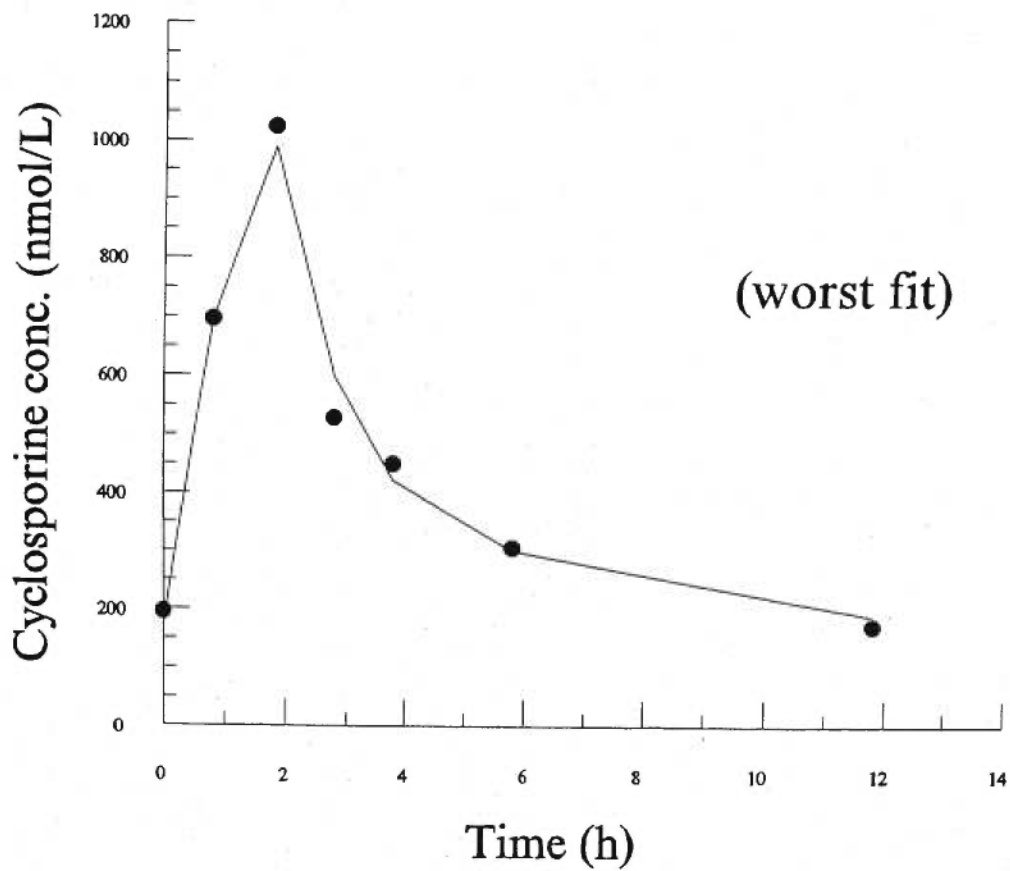


FIGURE 4. Graphical representations of fitted (-) and observed (•) cyclosporine blood concentrations versus time for the best and worst patient fits for model 2



## 12. DISCUSSION

L'utilisation de la méthode bayésienne demande que les paramètres pharmacocinétiques de la population soient définis à priori. Ceux-ci doivent être précis et représenter le plus près possible notre population pour que les prédictions effectuées par la méthode bayésienne soient optimales. Pour y parvenir, le modèle pharmacocinétique utilisé pour définir les paramètres pharmacocinétiques de la population doit représenter le plus possible la cinétique du médicament dans l'organisme. Le but de la première partie de notre travail de recherche était de déterminer le modèle compartimental qui décrivait le mieux les concentrations de cyclosporine administrées sous les deux formes posologiques (Néoral<sup>®</sup> et Sandimmune<sup>®</sup>) chez les patients avec une greffe cardiaque. Ce fut le sujet du premier article.

Huit modèles ayant un ou deux compartiments ont été analysés. Les modèles à un compartiment, ne réussissaient pas à tenir compte des faibles concentrations sanguines de cyclosporine après l'administration de l'une ou l'autre des formulations. Par conséquent, la phase d'élimination terminale ne pouvait être déterminée adéquatement. Ils ont donc été éliminés.

Comme la cyclosporine est un substrat important pour les enzyme du CYP3A de la muqueuse digestive et du foie, l'ajout d'un paramètre supplémentaire, représentant l'effet de premier passage a été évalué. C'est la première fois qu'un modèle incluant ce paramètre dans une étude pharmacocinétique est présenté. Toutefois, Wagner avait proposé que ce genre de modèle pourrait être utile pour caractériser la pharmacocinétique de plusieurs médicaments (Wagner JG 1993). Dans notre analyse, le modèle avec le

paramètre de premier passage ajouté, représente les concentrations sanguines de cyclosporine de façon comparable à un modèle à deux compartiments. Ceci, en dépit d'une augmentation de la complexité du modèle. À ce moment, cela nous permettait de croire que ce modèle pourrait être plus précis qu'un simple modèle à deux compartiments pour représenter les concentrations sanguines de cyclosporine. C'est pourquoi nous avons retenu ce modèle pour une analyse pharmacocinétique de population ultérieure avec la cyclosporine Néoral<sup>®</sup> qui nous renseignera davantage sur son utilité.

Un temps de latence a aussi été ajouté à certains modèles étudiés. Trois de nos vingt patients inclus dans l'étude ont présenté un délai dans le processus d'absorption après l'administration de la formulation Néoral de cyclosporine, comparativement à huit après la formulation Sandimmune (Ducharme MP, Verret L, Brouillette D, Sirois G 1998). Certains patients (quatre) ont présenté un double pic d'absorption avec la formulation Sandimmune. Un temps de latence est donc nécessaire et peut être même deux temps de latence pour décrire les concentrations après l'administration de l'ancienne formulation de cyclosporine. Tous les patients présentant un retard dans l'absorption de la cyclosporine Néoral<sup>®</sup> ont aussi présenté un délai d'absorption avec la Sandimmune<sup>®</sup>. Par contre, les concentrations de ces patients ayant reçu le Néoral<sup>®</sup> étaient bien représentées avec un modèle à deux compartiments. Nos modèles avec un temps de latence ont été incapables de donner un lissage supérieur des concentrations sanguines de cyclosporine Néoral<sup>®</sup>, comme le démontre les coefficients de détermination. Cette incapacité peut être liée au simple fait d'ajouter un paramètre supplémentaire si l'on considère le nombre limité de concentrations sanguines de médicament par patient. Pour cette raison, nous avons choisi d'ajouter le paramètre supplémentaire représentant le temps de latence à

notre modèle retenu. Ce paramètre obtiendra tout simplement la valeur zéro lorsque non nécessaire et ne fera qu'aider à obtenir une meilleure représentation des concentrations de cyclosporine lors de notre analyse pharmacocinétique de population.

Suite à cette première partie, nous avons donc retenu deux modèles pour l'analyse pharmacocinétique de population et pour les prédictions avec la méthode bayésienne. Des modèles à deux compartiments incluant un paramètre représentant le temps de latence. À l'un des deux modèles, l'effet de premier passage a été ajouté.

La deuxième partie de notre recherche consistait à définir, dans un premier temps, les paramètres pharmacocinétiques de la population de patients ayant reçu un greffon cardiaque puis, dans un deuxième temps, d'évaluer le pouvoir de prédiction de la méthode bayésienne chez une autre population de patients transplantés.

Les paramètres pharmacocinétiques de population obtenus avec les deux modèles représentent très bien la population étudiée, tel que le confirme le coefficient de détermination et la représentation graphique de la modélisation. Il n'y a que très peu de différence dans la modélisation du patient le moins bien représenté et le mieux représenté. Pour des modèles complexes comme ceux que nous avons utilisés, comme il y a plusieurs paramètres pharmacocinétiques à évaluer en même temps, la précision de chacun de ces paramètres aurait pu être affectée de façon significative et obtenir des résultats moins intéressants. Le choix de la méthode IT2S est approprié puisque peu de patients ont été inclus dans l'étude mais que pour chaque patient, sept échantillons sanguins étaient prélevés. Le peu de patients utilisé pour définir les paramètres

pharmacocinétiques de la population de référence, peut être insuffisant pour caractériser la variabilité pharmacocinétique qui peut exister dans toute la population de patients avec une transplantation cardiaque. Par contre, puisque les patients avec une transplantation cardiaque représentent déjà une sous population de patients transplantés, la variabilité de cette population est peut être moins importante comparativement à d'autres populations de patients. De plus, le fait d'avoir beaucoup de prélèvements sanguins par patient nous permet de bien évaluer la pharmacocinétique de la cyclosporine chez ces patients et minimise pour le peu de patients inclus dans l'étude.

La méthode bayésienne a été utilisée pour prédire les concentrations sanguines de cyclosporine. À notre connaissance, c'est la première fois que l'utilité de la méthode bayésienne est évaluée avec l'utilisation de la cyclosporine Neoral<sup>®</sup>. Les paramètres pharmacocinétiques de chacun des patients ont d'abord été évalués en se basant sur 1, 2 ou 3 concentrations sanguines de cyclosporine. Une quatrième concentration était par la suite prédite par la méthode bayésienne en se basant sur les paramètres pharmacocinétiques obtenus soit avec 1, 2 ou 3 concentrations. Ce processus nous permettait de vérifier si le pouvoir prédictif de la méthode bayésienne s'améliorait avec le nombre d'échantillons sanguins. Nous avons appliqué cette procédure pour les deux modèles choisis. La performance de la méthode bayésienne a été évaluée suivant la méthodologie de Sheiner et Beal (Sheiner LB 1981). Les deux modèles choisis permettent d'obtenir de bons résultats. Le carré de l'erreur moyenne qui donne la précision ou la reproductibilité (RMSE) varie de 45 nmol/L (26%) à 31 nmol/L (18%) selon le nombre de prélèvements sanguins sur lequel on se base. L'erreur moyenne de

prédiction ou le biais (ME) nous montre que nos deux modèles tendent à surestimer les prédictions des concentrations de cyclosporine.

L'erreur de prédiction obtenue est acceptable en tenant compte que l'index thérapeutique recherché se situe habituellement entre 100 et 200 nmol/L. Il est intéressant de constater que l'erreur de prédiction diminue lorsque le nombre d'échantillons sanguins augmente. Ceci correspond aux attentes puisque la fonction de Bayes permet d'augmenter la valeur des observations du patient lorsque ceux-ci augmentent. L'erreur de prédiction obtenue peut s'expliquer par plusieurs éléments. Premièrement, tel que discuté précédemment, le faible nombre de patients inclus dans l'étude pour définir les paramètres pharmacocinétiques de population peut être insuffisant pour représenter adéquatement la variabilité d'une population avec une transplantation cardiaque. C'est pourquoi nous avons inclus, pour l'application de la méthode bayésienne, une population de vingt patients différents de la population initiale utilisée pour définir les paramètres pharmacocinétiques de la population. Il est fort probable que si les mêmes patients avaient été étudiés, les prédictions auraient été plus exactes puisque les paramètres pharmacocinétiques de population ont été déterminés à partir de cette population initiale. Nous voulions éviter ce biais pour bien évaluer si nos paramètres pharmacocinétiques de population étaient robustes et s'ils pouvaient être applicables à tous les patients avec une transplantation cardiaque. Le poids moyen de la population initiale est plus important (84 kg) que le poids de la seconde population. Le volume de distribution n'est pas ajusté en fonction du poids, ce qui peut augmenter l'erreur. Cette erreur est cependant minimisée par le fait que la cyclosporine ne semble pas se distribuer dans les graisses (Fahr A 1993). En effet, même si la cyclosporine est lipophile, les études pharmacocinétiques

démontrent que le volume de distribution n'est pas supérieur chez les personnes obèses comparativement à celles non-obèses.

Un autre élément pouvant expliquer l'erreur de prédiction est l'utilisation rétrospective des résultats de cyclosporinémies des patients de notre seconde population ne pouvait nous permettre de contrôler l'heure exacte des prélèvements des échantillons sanguins. Aussi, l'utilisation seule de la concentration minimale ou du creux pour chaque patient nous permet difficilement d'évaluer le volume de distribution. Une seconde concentration, deux heures après l'administration de cyclosporine Néoral, aurait sûrement augmenté le pouvoir prédictif de la méthode bayésienne.

Les résultats de notre étude ne nous ont pas permis de conclure qu'ajouter un paramètre supplémentaire représentant l'effet de premier passage lors de l'absorption gastro-intestinale du médicament donnerait de meilleurs résultats. Les résultats obtenus avec les deux modèles sont sensiblement les mêmes. Il est possible que ce modèle soit trop complexe ou encore que le nombre de patients sur lequel les paramètres pharmacocinétique de population soient dérivés soit trop limité pour observer une différence significative entre les deux modèles. Néanmoins, ce modèle demeure intéressant pour évaluation future.



### 13. CONCLUSION

En conclusion, deux modèles ont été choisis pour l'analyse pharmacocinétique de population. Ce sont des modèles à deux compartiments avec un temps de latence. À l'un de ces modèles, nous avons ajouté un paramètre supplémentaire soit l'effet de premier passage que la cyclosporine subie par les enzymes de la muqueuse digestive et du foie lors de l'absorption. Les paramètres de population obtenus avec les deux modèles donnaient une très bonne représentation du profil des concentrations sanguines de cyclosporine chez la population étudiée. L'utilisation de la méthode bayésienne pour prédire les concentrations de cyclosporine après l'administration de la formulation Néoral<sup>®</sup> donne de bons résultats. L'erreur de prédiction variant de 45 à 31 nmol/L (26% à 18%). Cette erreur diminue lorsque le nombre de concentrations sanguines de cyclosporine augmente pour un patient. Aucune différence n'est observée entre les deux modèles mais le modèle avec l'effet de premier passage est un nouveau modèle intéressant, qui nécessitera d'autres études pour conclure à son utilité. L'utilisation de la méthode bayésienne, pour sa part, est une méthode efficace et peut devenir un outil très pratique pour le monitoring des concentrations sanguines après l'administration de cyclosporine Néoral<sup>®</sup>. Pour notre part, nous avons proposé cette méthode d'ajustement à l'Institut de Cardiologie de Montréal et nous croyons qu'elle sera utilisée sous peu.

#### 14. RÉFÉRENCES

Anderson JE, Munday AS, Kelman AW et al. Evaluation of a bayesian approach to the pharmacokinetic interpretation of cyclosporin concentrations in renal allograft recipients. *Ther Drug Monit.* 1994; 16 (2): 160-165.

Bernabeu M, Krupp P, Wiskott E. Long-term safety of cyclosporine in renal transplant recipients: Worldwide experience. *Transpl proc.* 1993; 25 (4) suppl. 3:17-19.

Bowers LD, Canafx DM, Singh J and al. Studies of cyclosporine blood levels : analysis, clinical utility, pharmacokinetics, metabolites and chronopharmacology. *Transplant Proc* 1986;18 (suppl 5) :137-143

Chandler MHH. Bayesian forecasting: theoretical and practical considerations in clinical pharmacokinetics. *Clinical trends in hospital pharmacy.* 1990; 4 (2): 17-21.

Desoky EEL, Meinshausen J, Bühl K et al. Generation of pharmacokinetic data during routine therapeutic drug monitoring: Bayesian approach vs pharmacokinetic studies. *Ther Drug Ther.* 1993; 15 (4): 281-287.

Ducharme M .P., Verret L., Brouillette D. and al. Ability of a First-Pass pharmacokinetic model to characterize cyclosporine blood concentrations after administration of sandimmune or Neoral formulations. *Ther.Drug.Mon.* 20(2):165-71 (1998).

Ducharme M.P, Warbasse L.H., Edwards D.J.. Disposition of intravenous and oral cyclosporine after administration with grapefruit juice. *Clin.Pharmacol.Ther.* 57:485-91 (1995).

Fahr A. Cyclosporin clinical pharmacokinetics. *Clin Pharmacokinet.* 1993; 24 (6): 472-495.

Ferraro , Carrier M, White M et al. Antithymocyte globulin and methotrexate therapy of severe or persistent cardiac allograft rejection. *Ann Thorac Surg.*1995 ;60 :372-6.

Ferraro P, Carrier M. Acute cardiac allograft rejection : diagnosis and treatment. Chapitre 12. P.119-128.

Fiocchi R, Mamprin F, Gamba A et al. Pharmacokinetic profile of cyclosporine in long-term heart transplanted patients treated with a new oral formulation. *Transplant Proc.* 1994; 26 (5): 2994-2995.

First R. Tansplantation in the nineties. *Transplant.* 1992; 53 (1): 1-11.

First MR. Renal allograft survival after 1 and 10 years: comparaison between pre-cyclosporine and cyclosporin data. *Nephrol Dial Transplant.* 1993; 9: 60-97.

Freeman D, Grant D, Levy G and al. Pharmacokinetics of a new oral formulation of cyclosporin in liver transplant recipients. *Ther Drug Monit* 1995;17 :213-16.

Grevel J, Napoli KL, Kahan BD. Covariables in cyclosporine immunosuppression. *Transplant Proc.* 1990; 22 (3): 1113-1115.

Grevel J. Optimisation of immunosuppressive therapy using pharmacokinetic principles. *Clin Pharmacokinet.* 1992; 23 (5): 380-390.

Grevel J. Area-under-the-curve versus trough level monitoring of cyclosporine concentration: critical assessment of dosage adjustment practices and measurement of clinical outcome. *Ther Drug Monit.* 1993; 15 (6): 488-491.

Haverich A, Costard-Jäckle A, Cremer J et al. Cyclosporine A and transplant coronary disease after heart transplantation: facts and fiction. *Transplant Proc.* 1994; 26 (5): 2713-2715.

Hosenpud JD, Novick RJ, Breen TJ et al. The registry of the international society for heart and lung transplantation: eleventh official report-1994. *J Heart Lung transpl:* 1994; 13(4): 561-570.

Holt DW, Fashola TOA, Johnston A. Monitoring cyclosporin: is it still important?. *Immunol Lett.* 1991; 29 (1-2): 99-103.

Holt DW, Mueller EA, Kovarik JM. The pharmacokinetics of sandimmun neoral: a new formulation of cyclosporine. *Transpl Proc.* 1994; 26 (5):2935-2939.

Holt DW, Johnston A, Roberts NB and al. Methodological and clinical aspects of cyclosporin monitoring : report of the association of clinical biochemists task force. *Ann Clin Biochem* 1994;31 :420-446

Irschik E, Tilg H, Niederwieser D et al. Cyclosporin blood levels do correlate with clinical complications. *Lancet.* 1984: 692-93.

Jelliffe RW, Iglesias T, Hurst AK et al. Individualising gentamicin dosage regimens. A comparative review of selected models, data fitting methods and monitoring strategies. *Clin Pharmacokinet.* 1991; 21 (6): 461-478.

Jelliffe RW, Schumitzky A, Van Guilder MV et al. Individualizing drug dosage regimens: Roles of population pharmacokinetic and dynamic models, bayesian fitting and adaptive control. *Ther Drug Monit.* 1993; 15 (5): 380-392.

Jennison SH, Wesp AG, McBride LR et al. Limited utility of early trough cyclosporine level monitoring to predict the rate of acute rejection in the first three months after cardiac transplantation. *Transplant Proc.* 1994; 26 (5):2732-2735.

Kahan BD. Optimization of cyclosporine therapy. *Transpl Proc.* 1993; 25 (4): 5-9.

Keown P, Kahan B.D., Levy G. and al. Optimization of cyclosporine therapy with new therapeutics drug monitoring strategies : Report from the international neoral TDM advisory consensus meeting (vancouver, november 1997). *Transpl Proc.* 30: (1998). IN PRESS

Kobashigawa J,A. Mycophenolate mofetil in cardiac transplantation. *Curr Opin Cardiol.* 1998 ;13 :117-121.

Kolars JC, Awni W.M., Merion R.M.and al . First pass metabolism of cyclosporin by the gut. *Lancet.* 338:1488-90 (1991).

Kovarik JM, Mueller EA, Van Bree JB et al. Within-day consistency in cyclosporine pharmacokinetics from a microemulsion formulation in renal transplant patients. *Ther Drug Monit.* 1994; 16 (3): 232-237.

Kovarik JM, Vermillet L, Mueller EA et coll. Cyclosporine disposition and metabolite profiles in renal transplant patients receiving a microemulsion formulation. *Ther Drug Monit.* 1994; 16: 519-525.

Kronbach T, Fisher V, U.A. Meyer. Cyclosporine metabolism in human liver : identification of a cytochrome P-450 III gene family as the major cyclosporine-metabolizing enzyme explains interactions of cyclosporine with other drugs. *Clin.Pharmacol.Ther.* 43:630-35 (1988).

Lemaire M, Fahr A, Maurer G. Pharmacokinetics of cyclosporine: Inter-and Intra-individual variations and metabolic pathways. *Transpl Proc.* 1990; 22 (3): 1110-1112

Levy G, Grant D. Potential for Csa-Neoral in organ transplantation. *Transplant Proc.* 1994; 26 (5): 2932-2934.

Lindholm A, Dahlqvist R, Groth GG et al. A prospective study of concentration in relation to its therapeutic effect and toxicity after renal transplantation. *Br J Clin Pharmac.* 1990; 30: 443-452.

Lindholm A, Kahan BD. Influence of cyclosporine pharmacokinetics, trough concentrations and AUC monitoring on outcome after kidney transplantation. *Clin pharmacol ther.* 1993; 54 (2): 205-217.

Mallet A, Mentré F, Steimer JL et al. Non parametric maximum likelihood estimation for population pharmacokinetics with application to cyclosporine. *J Pharmacokinet Biopharm.* 1988; 16 (3): 311-327.

Mikhail G, Eadon H, Leaver N et al. Use of neoral in heart transplant recipients. *Transplant Proc.* 1994; 26 (5): 2985-2987.

Miller LW. Optimal use of cyclosporine cardiac transplantation. *Transplant Proc.* 1994; 26 :2700-2703.

Moyer TP, Post GR, Sterioff SS and al. Cyclosporine nephrotoxicity is minimized by adjusting dosage on the basis of drug concentration in blood. *Mayo Clin Proc.* 1988;63 :241.

Mueller EA, Kovarik JM, van Bree JB et al. Influence of a fat-rich meal on the pharmacokinetics of a new oral formulation of cyclosporine in a crossover comparison with the market formulation. *Pharmaceut Res.* 1994; 11 (1): 151-155.

Niven AA, Greven J, Al-Banna M et al. Pharmacokinetics of cyclosporin in the early-post operative period following renal transplantation. *Proc of PBS.* 1988; 626P-627P.

Olson L.J, Rodeheffer R.J. Management of patients after cardiac transplantation. *Mayo Clin Proc.* 1992 ; 67 :775-784

Opelz G. Collaborative transplant study-10 year report. *Transpl Proc.* 1992; 24 (6): 2342-2355.

Opelz G for the Collaborative Transplant Study. Multicenter evaluation of immunosuppressive regimens in heart transplantation. *Transplant Proc.* 1997;29:617-619.

Peck CC, Rodman JH. Analysis of clinical pharmacokinetic data for individualizing drug dosage regimens In : Evans WE, Schentag JJ, Jusko WJ, eds. *Applied Pharmacokinetics, principles of therapeutic drug monitoring*, 3<sup>rd</sup> edition. Applied Therapeutics Inc., Vancouver : 1992; 55-82

Perico N, Remuzzi G. Prevention of transplant rejection. Current treatment guidelines and future developments. *Drugs* 1997 ;54(4) :533-570.

Schroeder TJ, Hariharan S, First MR. Relationship between cyclosporine bioavailability and clinical outcome in renal transplant recipients. *Transplant Proc.* 1994; 26 (5): 2787-2790.

Serino F, Citterio F, Pozzetto U et al. Abbreviated three-point kinetic profile in the 12 hours area under the curve for pharmacokinetic monitoring of cyclosporine. *Transplant Proc.* 1994; 26 (5): 2807-2808.

Serre-Debeauvais, Iliadis A, Tranchand B et al. Bayesian estimation of cyclosporine clearance in bone marrow graft. *Ther Drug Monit.* 1990; 12 (1).

Sheiner LB, Beal SI. Some suggestions for measuring predictive performance. *J Pharmacokinetic Biopharm* 1981; 9: 503-12

SheinerLB, Beal SL. Evaluation of methods for estimating population pharmacokinetic parameters II. Biexponential model and experimental pharmacokinetic data. *J Pharmacokinetic Biopharm* 1981. 9 :635-51.

Sketris IS, Lawen JG, Beauregard-Zollinger L et al. Comparison of the pharmacokinetics of cyclosporine sandimmune with sandimmune neoral in stable renal transplant patients. *Transplant Proc.* 1994; 26 (5): 2961-2963.

Spencer C.M., Goa K.L, Gillis J.C. Tacrolimus. An update of its pharmacology and clinical efficacy in the management of organ transplantation. *Drugs.* 1997 ;54(6) :925-975.

Steimer JL, Mallet A, Golmard JL and al. Alternative approaches to estimation of population pharmacokinetic parameters : comparaison with the Nonlinear Mixed-Effect Model. *Drug Metab Rev.* 1984;15 :265-92.

Steimer JL, Vozech S, Racine-Poon A and al. The population approach : Rationale methods and applications in clinical pharmacology and drug development. In Welling PG, Balant LP,eds. *Pharmacokinetics of drugs.* Springer-Verlag, Berlin :1994.

Takahara S, Kokado Y, Kameoka H et al. Clinical evaluation of trough levels and area under the curve in cyclosporine - and FK 506 treated kidney transplant recipients. *Transplant Proc.* 1994; 26 (5): 2802-2806.

Taylor D.O. The use of tacrolimus and mycophenolate mofetil after cardiac transplantation. *Curr Opin Cardiol.* 1997 ;12 :161-165.

Thomson AH, Whiting B. Bayesian parameter estimation and population pharmacokinetics. *Clin Pharmacokinet.* 1992; 22 (6): 447-467.

Trull AK, Tan KKC, Uttridge J. Cyclosporin absorption from microemulsion formulation in liver transplant recipient. *Lancet.* 1993; 341:433.

Venkataramanan R, Burckart GJ, Ptachcinski RJ et al. Cyclosporine pharmacokinetics in heart transplant patients. *Transpl Proc.* 1986; 18 (4): 768-770.

Wagner J.G. *Pharmacokinetics for the pharmaceutical scientist.* Lancaster :Technomic Publishing Company Inc. 59-62. (1993).

White M., Pelletier G., Tan A. and al. Pharmacokinetic, hemodynamic, and metabolic effects of cyclosporin sandimmune versus the microemulsion Neoral in heart transplant recipients. *J.Heart.Lung.Transplant.* 16(8):787-94 (1997).

Winkler M, Ringe B, Schneider K et al. Enhanced bioavailability of cyclosporine using a new oral formulation (Sandimmun Neoral) in liver-grafted patients with severe cholestasis. *Transplantation Int.* 1994; 7: 147-8.

Yee GC, Salomon DR. Cyclosporine. In : Evans WE, Schentag JJ, Jusko WJ, eds. Applied Pharmacokinetics, principles of therapeutic drug monitoring, 3<sup>rd</sup> edition. Applied Therapeutics Inc., Vancouver : 1992.