

	<p>Rapport d'Analyse Statistique et de Sécurité</p> <p><b>DFGHep</b></p>	<p><b>Version : 1.0</b></p> <p><b>Date : 25/02/2020</b></p>
CONFIDENTIEL		

Description de l'évolution des concentrations plasmatiques et urinaires de l'iohexol dans une population de patients cirrhotiques. « Etude pilote sur 9 patients »

## DFGHep

Code promoteur : 87RI18\_0008

# Rapport d'Analyse Statistique et de Sécurité

## Recommandations CONSORT

### Analyse statistique :

Jean-Baptiste WOILLARD, Biostatisticien

### Analyse de sécurité :


Docteur Sabrina CREPIN, responsable de l'UVEC




---

Centre Hospitalier Universitaire de Limoges  
2 Avenue Martin Luther King  
87042 Limoges Cedex

---

	<p>Rapport d'Analyse Statistique et de Sécurité</p> <p><b>DFGHep</b></p>	<p><b>Version : 1.0</b></p> <p><b>Date : 25/02/2020</b></p>
CONFIDENTIEL		

## 1. Résumé / Synopsis

N° VERSION DU SYNOPSIS	2.0 du 11 octobre 2018
PROMOTEUR	CHU de Limoges 2 avenue Martin Luther King 87042 Limoges Cedex
INVESTIGATEUR PRINCIPAL	Dr Paul Carrier Service d'Hépatogastro-Entérologie CHU de Limoges
TITRE	DFGHEP : Description de l'évolution des concentrations plasmatiques et urinaires de l'iohexol dans une population de patients cirrhotiques. Etude pilote sur 9 patients.
JUSTIFICATION / CONTEXTE	<p><i>Sur la pathologie :</i></p> <p>La cirrhose est souvent compliquée d'insuffisance rénale dont le rôle pronostique est fondamental. L'une des atteintes rénales spécifiques de la cirrhose est le syndrome hépato-rénal, responsable d'une mortalité élevée. En dehors de cette situation, la valeur de la créatinine sérique est un facteur indépendant de mortalité chez les patients cirrhotiques. Les patients avec cirrhose souffrent souvent de lésions rénales infra-cliniques qui impactent significativement le pronostic hépatique. La valeur pronostique de la fonction rénale (indirectement évaluée par la créatinine sérique) au cours de la cirrhose est incluse dans le score MELD (Model for End-Stage Liver Disease), modèle prédictif de mortalité à 3 mois. De plus, l'atteinte rénale chronique (prévalence 15%) après transplantation hépatique est aussi un facteur indépendant de mortalité.</p> <p>A cet effet, une double greffe foie-rein doit être envisagée en cas de Débit de Filtration Glomérulaire (DFG) inférieur à 30 ml/minute/1,73m<sup>2</sup> (Eason, Gonwa et al. 2008).</p> <p>Une évaluation précise du DFG est ainsi primordiale pour optimiser la prise en charge des patients cirrhotiques et pour établir un diagnostic qui permettra de prioriser les patients pour la transplantation hépatique (TH) et éventuellement proposer une double greffe foie-rein.</p> <p><i>Sur les stratégies de référence et à l'étude :</i></p> <p>Le DFG est rarement mesuré et souvent estimé. Les équations utilisées peuvent conduire à des surestimations importantes, particulièrement chez les patients atteints de maladies hépatiques et/ou de maladies hépatiques associées à des comorbidités rénales.</p>



# Rapport d'Analyse Statistique et de Sécurité

## DFGHep

Version : 1.0  
Date : 25/02/2020

CONFIDENTIEL

De très nombreuses formules existent actuellement pour l'évaluation approximative du DFG en pratique quotidienne, basées sur la créatinine plasmatique (MDRD6, CKD EPI...).

Les équations basées sur la créatinine sérique surestiment usuellement le DFG du patient cirrhotique d'environ  $23 \pm 23$  ml/min/1.73 m<sup>2</sup> (Rognant, Bacchetta et al. 2010). De plus, la présence d'une hyperbilirubinémie peut interférer avec le dosage de la créatinine sérique et artificiellement le diminuer avec les techniques colorimétriques (Badiou, Dupuy et al. 2003, Cholongitas, Marelli et al. 2007). Une valeur normale de la créatinine sérique n'exclut pas toujours une insuffisance rénale puisque ce paramètre varie aussi sous l'influence de facteurs non liés à la fonction rénale (Sherman, Fish et al. 2003, Francoz, Glotz et al. 2010).

Ces formules présentent de nombreuses limites dues aux variations interindividuelles des concentrations de la créatinine sérique (sécrétion tubulaire de la créatinine...) et manquent de précision chez les patients atteints de maladie hépatique avancée.

Dans les guidelines récentes de la double transplantation rénale et hépatique de 2012, l'équation MDRD6 est recommandée pour l'estimation du DFG, cette équation risquant moins de surestimer le DFG (par rapport à la technique de référence, clairance rénale de l'inuline) chez les patients atteints de cirrhose comparativement au MDRD4 ou à la formule de Cockcroft-Gault (Nadim, Sung et al. 2012).

Des équations basées sur le dosage sanguin de la cystatine C pourraient être utiles, subissant moins l'influence de la masse musculaire ou de la valeur de la bilirubinémie notamment. Mais le dosage de la cystatine n'est pas standardisé (Eckfeldt, Karger et al. 2015, Francoz, Nadim et al. 2016) et présente plusieurs inconvénients, notamment un prix élevé ou encore une sensibilité à certaines interactions médicamenteuses (inhibiteurs de l'enzyme de conversion....) (Foster, Reisman et al. 2006).

L'équation CKD-EPI, combinant la créatinine sérique et la cystatine C, est supérieure à toutes les autres équations évaluant le DFG dans la cirrhose (biais -0.12, précision 16.1, RMSE 16.1, précision 10% : 49%, précision 30% : 84%), mais encore très inférieure au gold standard, (clairance rénale à l'équilibre de l'inuline) notamment chez les patients Child Pugh C (Krones, Fickert et al. 2015). Le DFG estimé avant transplantation hépatique est prédictif de la survie à long terme quand déterminé par l'équation CKD-EPI cystatine C mais pas avec le MDRD4 et la CKD-EPI-créatinine (Uguen, Jézéquel et al. 2014).

D'autres équations spécifiques aux patients cirrhotiques, et basées sur la créatinine sérique, ont été proposées, comme la RFH (Kalafateli, Wickham et al. 2017).

Plusieurs méthodes de mesures du DFG ont déjà été décrites. Elles utilisent des traceurs exogènes tels que l'inuline, l'EDTA-[<sup>51</sup>Cr] ou encore l'iohexol. Le DFG est mesuré soit à partir de l'analyse de la décroissance plasmatique du traceur exogène injecté en bolus (clairance plasmatique), soit à l'équilibre par mesure directe de la clairance rénale ce qui nécessite des



## Rapport d'Analyse Statistique et de Sécurité

### DFGHep

**Version : 1.0**  
**Date : 25/02/2020**

*CONFIDENTIEL*

prélèvements urinaires répétés. Cependant, l'utilisation des traceurs radioactifs est réservée à des services d'explorations fonctionnelles spécialisés. Quant à l'inuline, elle présente un coût élevé et nécessite l'atteinte d'un état d'équilibre en perfusion prolongée.

La clairance de l'iohexol (CLiox) est un outil potentiellement intéressant dans l'évaluation de la fonction rénale (Gaspari, Perico et al. 1995). L'iohexol est filtré par le glomérule, sans subir de sécrétion ou de réabsorption tubulaire (Soveri, Berg et al. 2014). Il est utilisé comme produit de contraste (Mutzel, Siefert et al. 1980) et commercialisé en France sous le nom d'Omnipaque®. Son utilisation apparaît intéressante dans l'objectif de mieux estimer la fonction rénale chez le patient cirrhotique, mais peu de données sont disponibles dans cette population (Francoz, Nadim et al. 2014, Slack, Tredger et al. 2014).

La CLiox a déjà été proposée comme mesure (gold standard) du DFG chez des patients cirrhotiques. Cependant des limites méthodologiques présentes dans ces études justifient de confirmer la validité de cet outil pour la mesure du DFG chez le patient cirrhotique. Ces limites méthodologiques sont :

Période de recueils sanguins trop courte, limitée à 5h, alors que le produit n'est pas totalement éliminé.

Existence d'un troisième secteur (ascite) dans lequel se concentre l'iohexol au cours du temps, laissant présager que la décroissance des concentrations plasmatiques ne reflète pas uniquement l'élimination rénale mais, pour une part aussi, la distribution lente dans un secteur de diffusion.

Application d'une méthode d'approximation (Formule de Brochner-Mortensen) pour le calcul de la CLiox, celle-ci n'ayant pas été validée dans cette population alors qu'elle est possiblement inadaptée du fait des particularités pharmacocinétiques du patient cirrhotique.

Ainsi, notre objectif est de déterminer précisément le comportement pharmacocinétique de l'iohexol, chez des patients atteints de maladie hépatique, au moyen d'une cinétique prolongée de 24H. Ceci permettra d'objectiver l'existence et l'intensité des éventuels rebonds de concentration liés au 3ème secteur ainsi que de déterminer la durée de prélèvements nécessaire et suffisante pour capturer la phase d'élimination terminale chez ces patients.

En parallèle, nous recueillerons les urines sur toute la durée de la cinétique afin de mesurer la clairance rénale de l'iohexol et de vérifier si la décroissance plasmatique correspond bien à une élimination rénale totale du produit, condition sine qua non de son utilisation comme marqueur du DFG.

Des données individuelles à même de modifier la pharmacocinétique de l'iohexol seront recueillies afin d'être testées comme covariables associées à la CLiox.

Des cinétiques riches seront collectées chez les 9 patients de cette étude pilote. Elles serviront de support à l'élaboration d'une



# Rapport d'Analyse Statistique et de Sécurité

## DFGHep

**Version : 1.0**  
**Date : 25/02/2020**

CONFIDENTIEL

	stratégie utilisant moins de prélèvements (stratégie de prélèvements limités) qui, associée le cas échéant à des covariables pertinentes, permettra de rendre ces explorations plus faciles à réaliser en routine aux services d'Hépatogastroentérologie.
OBJECTIFS	<p><i>Objectif principal :</i></p> <p>Décrire l'évolution des concentrations plasmatiques et urinaires de l'iohexol dans une population de 9 patients cirrhotiques à partir de cinétiques riches.</p> <p><i>Objectifs secondaires :</i></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Calculer la clairance rénale de l'iohexol.</li> <li>2. Calculer la clairance plasmatique de l'iohexol.</li> <li>3. Construire un modèle de pharmacocinétique permettant d'estimer la clairance rénale à partir de la clairance plasmatique.</li> <li>4. Evaluer la concordance entre la clairance plasmatique de l'iohexol obtenue par le modèle et : <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Le DFG estimé par la formule CKD-EPI</li> <li>✓ Le DFG estimé par les formules MDRD4 et MDRD6</li> <li>✓ Le DFG estimé par la clairance rénale de la cystatine C (Uguen, Jezequel et al. 2016)</li> </ul> </li> <li>5. Déterminer dans le modèle de la clairance plasmatique (cf. objectif 3) les covariables pertinentes pouvant l'influencer. L'ascite ainsi que les stades Child et Meld feront partie des covariables testées.</li> </ol>
CRITERES DE JUGEMENT	<p><i>Principal :</i></p> <p>Courbes de concentrations plasmatiques et urinaires de l'iohexol en fonction du temps.</p> <p><i>Secondaires :</i></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Clairance rénale de l'iohexol obtenue par analyse non-compartmentale.</li> <li>2. Clairance plasmatique de l'iohexol obtenue par analyse non-compartmentale.</li> <li>3. L'évaluation de la performance du modèle sera basée sur sa capacité à prédire les concentrations d'iohexol, exprimée par le biais (%) et la précision (racine de la moyenne des biais au carré = RMSE) entre les concentrations urinaires et plasmatiques prédites et les concentrations urinaires et plasmatiques observées.</li> <li>4. Coefficients de corrélations linéaires et nuages de points entre la clairance plasmatique de l'iohexol estimée par le modèle et les DFG calculés par les différentes méthodes. Des courbes de Bland Altman seront aussi tracées.</li> </ol>



# Rapport d'Analyse Statistique et de Sécurité

## DFGHep

**Version : 1.0**  
**Date : 25/02/2020**

CONFIDENTIEL

	<p>5. Evaluation des covariables par régression linéaire multiple et nuages de points (covariables continues) ou Mann Whitney et box plots (covariables catégorielles). Inclusion des covariables caractérisées par un <math>P &lt; 0.01</math> dans le modèle. Recherche des covariables qui vont influencer la relation entre la clairance plasmatique et la clairance rénale :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ grade d'intensité de l'ascite. 2 grades : minime (échographique) ou modéré et volumineux,</li> <li>✓ âge,</li> <li>✓ poids (du jour et H24),</li> <li>✓ sexe,</li> <li>✓ diurèse des 24H,</li> <li>✓ albumine,</li> <li>✓ natriurèse,</li> <li>✓ prise de diurétiques (nature et dose),</li> <li>✓ autres médicaments pouvant influencer le DFG,</li> <li>✓ stigmates biologiques d'insuffisance hépatique ou d'hypertension portale : bilirubine, albumine, INR, phosphatases, score de Child Pugh, score de MELD,</li> </ul>
SCHEMA DE LA RECHERCHE	Etude pilote prospective
CRITERES D'INCLUSION	<p>1. Patients suivis habituellement dans le service d'Hépatogastro-Entérologie et atteints de maladie hépatique avancée, dont l'état nécessite une mesure exacte du débit de filtration glomérulaire, avec indication potentielle de transplantation hépatique, avec ou sans ascite :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Sans ascite : 3 patients</li> <li>- Grade OMS 1 (minime) : ascite uniquement détectable par échographie : 3 patients.</li> <li>- Grade OMS 2 (modéré) ou grade OMS 3 (volumineux) : ascite cliniquement significative à l'origine d'une distension symétrique modérée de l'abdomen ou causant une distension abdominale marquée : 3 patients</li> </ul> <p><i>Dans la mesure du possible, différents profils représentatifs de DFG calculés seront inclus. Cependant, ce critère n'est pas déterminant.</i></p> <p>2. Patients âgés de 18 ans à 70 ans</p> <p>3. Affiliés à un régime de sécurité sociale</p> <p>4. Ayant donné leur consentement éclairé écrit</p>
CRITERES DE NON INCLUSION	<p>1. Hypersensibilité à la substance active aux produits de contrastes iodés ou à l'un des excipients mentionnés dans la rubrique Composition</p> <p>2. Antécédent de réaction immédiate majeure ou cutanée retardée à l'injection du produit de contraste iodé</p>



# Rapport d'Analyse Statistique et de Sécurité

## DFGHep

**Version : 1.0**  
**Date : 25/02/2020**

*CONFIDENTIEL*

	<p>(Omnipaque)</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>3. Patients atteints de thyrotoxicose</li> <li>4. Patients asthmatiques</li> <li>5. Patient ayant des antécédents de dysthyroïdie</li> <li>6. Patients atteints de maladies cardiovasculaires sévères</li> <li>7. Patients atteints de troubles du système nerveux central notamment vasculaires</li> <li>8. Patients atteints de phéochromocytome</li> <li>9. Patients atteints de myasthénie</li> <li>10. Patients porteurs d'une drépanocytose</li> <li>11. Patients présentant une maladie auto-immune</li> <li>12. Patients traités par metformine</li> <li>13. Patients devant avoir une anesthésie le premier jour des prélèvements</li> <li>14. Patients devant avoir une injection de produit de contraste iodé pendant l'hospitalisation et dans les deux semaines précédentes. Les injections de gadolinium ne sont pas contre-indiquées</li> <li>15. Patients sous tutelle ou curatelle ou en incapacité de donner leur consentement éclairé</li> <li>16. Patients déjà inclus dans un autre protocole de recherche interventionnel ou en période d'exclusion</li> <li>17. Femmes enceintes ou allaitantes</li> </ol>
TRAITEMENTS/STRATEGIES/PROCEDURES DE LA RECHERCHE	<p>La participation au protocole sera proposée par les hépatologues du service d'Hépatogastro-Entérologie aux patients atteints de cirrhose. Les sujets recrutés seront hospitalisés au CIC-P 1435 pour 24H.</p> <p>Après injection de 5 ml d'une solution d'Iohexol (Omnipaque 300 mg Iode/ml, dose 40 fois plus faible que celle utilisée en radiologie comme produit de contraste), les prélèvements à réaliser sont :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Plasma : T15' 30' 1H 1H30 2H, 3H, 4H, 6H, 8H, 12H et 24H par prélèvement de tubes de 4,5 ml.</li> <li>✓ Urines : recueil de chaque miction avec mesure du volume exact et relevée des horaires pendant 24h. Prélèvement d'un aliquote pour dosage de l'iohexol urinaire.</li> <li>✓ L'hydratation du patient sera comptabilisée. Une hydratation systématique du patient par 300 ml d'eau per os (l'hydratation pourra être adaptée par le médecin selon l'état clinique du patient) a pour objectif de déclencher la diurèse.</li> </ul> <p>Aucune hyperhydratation n'est à prévoir, la dose d'Iohexol utilisée ne présentant pas de risque rénal. De plus, une hyperhydratation modifierait l'évaluation de la fonction rénale.</p>




# Rapport d'Analyse Statistique et de Sécurité

## DFGHep

**Version : 1.0**  
**Date : 25/02/2020**


*CONFIDENTIEL*

	Les dosages d'iohexol seront effectués dans le service de Pharmacologie du CHU de Limoges.
TAILLE D'ETUDE	Le calcul du nombre de sujets nécessaire pour les études PK est difficile car les analyses « classiques » sont basées sur la comparaison entre 2 groupes ou plus. Une méthode propose d'inclure un nombre de sujets suffisant pour s'assurer de la précision de la variance pour un paramètre PK donné distribué normalement. Nous avons donc utilisé une fonction implémentée dans le package Pmetrics (Neely, van Guilder et al. 2012) permettant d'estimer le nombre de sujets à inclure sur la base de l'estimation de l'élimination de l'iohexol (Clairance apparente ; CL/F). Nous sommes partis d'une valeur observée dans une précédente étude (Benz-de Bretagne, Le Guellec et al. 2012) (moyenne = 0.00354 h <sup>-1</sup> , Sd= 0.000531h <sup>-1</sup> ). Le nombre de sujets nécessaire ici, est donc de 9 sujets pour une précision de 10%.
DUREE DE LA RECHERCHE	Durée de la période d'inclusion : 1an Durée de participation de chaque patient : 7 jours
ANALYSE STATISTIQUE DES DONNEES	<p>L'analyse pharmacocinétique sera réalisée avec le Package Pmetrics (Neely, van Guilder et al. 2012) dans le logiciel R 3.2.4 par méthode non paramétrique.</p> <p>Plusieurs modèles structuraux seront évalués (un, deux ou trois compartiments avec élimination d'ordre 1, modèle avec clairance dépendante du temps) (Woillard, Debord et al. 2017). L'influence des covariables sur les paramètres PK sera ensuite étudiée dans le modèle par mesure du biais, de la précision et du paramètre statistique BIC. Le modèle final sera validé par la méthode des Visuals Predictive Check et des NPDE.</p> <p>La clairance observée à partir des points expérimentaux sera calculée par analyse non-compartmentale dans Pmetrics (=dose/Aire Sous la Courbe, utilisée comme gold standard pour les analyses ultérieures).</p> <p>L'ajustement entre les différentes méthodes d'estimation du DFG, la clairance rénale de l'iohexol et la référence (clairance calculée par analyse non compartmentale) sera réalisé par un calcul du biais, de la précision et par courbes de Bland-Altman.</p>
RETOMBEES ATTENDUES	L'étude DFGHep permettra de disposer de données préliminaires permettant d'élaborer une méthode valide, fiable, et simple à mettre en place, afin de mesurer la fonction rénale des patients atteints de cirrhose. Ceci permettra d'améliorer la prise en charge des patients pour lesquels l'estimation du DFG par les formules actuelles (CKD-EPI, MDRD, cystatine, RFH) est insuffisante.

	<p>Rapport d'Analyse Statistique et de Sécurité</p> <p><b>DFGHep</b></p>	<p><b>Version : 1.0</b></p> <p><b>Date : 25/02/2020</b></p>
CONFIDENTIEL		

## Table des matières

<b>Résumé / Synopsis</b>	<b>2</b>
<b>Table des matières</b>	<b>9</b>
<b>Liste des abréviations et définition des termes</b>	<b>10</b>
<b>1 Introduction</b>	<b>11</b>
1.1 Contexte scientifique	11
1.2 Objectifs	11
<b>2 Méthodes</b>	<b>12</b>
2.1 Suivi de la réglementation	12
2.2 Schéma de l'étude	12
2.3 Participants	14
2.4 Interventions	15
2.5 Critères de jugement	15
2.6 Nombre de sujets nécessaires	16
2.7 Randomisation	16
2.8 Méthodes statistiques	16
<b>3 Résultats</b>	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
3.1 Flux des participants	17
3.2 Recrutement	187
3.3 Analyses descriptives	Erreur ! Signet non défini.
3.4 Analyse principale	19
3.5 Analyses secondaires	21
3.6 Evaluation de la tolérance/toxicité	Erreur ! Signet non défini.7
<b>4 Discussion</b>	<b>Erreur ! Signet non défini.4</b>
4.1 Résumé des résultats	Erreur ! Signet non défini.4
4.2 Limitations	35
<b>5 Informations supplémentaires</b>	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
5.1 Enregistrement	Erreur ! Signet non défini.
5.2 Financements	Erreur ! Signet non défini.

	<p>Rapport d'Analyse Statistique et de Sécurité</p> <p><b>DFGHep</b></p>	<p><b>Version : 1.0</b></p> <p><b>Date : 25/02/2020</b></p>
<p><i>CONFIDENTIEL</i></p>		

## Liste des abréviations et définition des termes

LLT : lowest level term (MedDRA)

MedDRA : Medical dictionary for regulatory activities

PT : Preferred terme (MedDRA)

RCP : résumé des caractéristiques du produit

SOC : Syctem organ class (MedDRA)

SUSAR : Suspected unexpected serious adverse event

TEAE : Treatment emergent adverse event

	<p>Rapport d'Analyse Statistique et de Sécurité</p> <p><b>DFGHep</b></p>	<p><b>Version : 1.0</b></p> <p><b>Date : 25/02/2020</b></p>
CONFIDENTIEL		

## 1. Introduction

### 1.1 Contexte scientifique

La cirrhose est souvent compliquée d'insuffisance rénale dont le rôle pronostique est fondamental. L'une des atteintes rénales spécifiques de la cirrhose est le syndrome hépato-rénal, responsable d'une mortalité élevée. En dehors de cette situation, la valeur de la créatinine sérique est un facteur indépendant de mortalité chez les patients cirrhotiques. Les patients avec cirrhose souffrent souvent de lésions rénales infra-cliniques qui impactent significativement le pronostic hépatique. La valeur pronostique de la fonction rénale (indirectement évaluée par la créatinine sérique) au cours de la cirrhose est incluse dans le score MELD (Model for End-Stage Liver Disease), modèle prédictif de mortalité à 3 mois. De plus, l'atteinte rénale chronique (prévalence 15%) après transplantation hépatique est aussi un facteur indépendant de mortalité.

A cet effet, une double greffe foie-rein doit être envisagée en cas de Débit de Filtration Glomérulaire (DFG) inférieur à 30 ml/minute/1,73m<sup>2</sup> (Eason, Gonwa et al. 2008).

Une évaluation précise du DFG est ainsi primordiale pour optimiser la prise en charge des patients cirrhotiques et pour établir un diagnostic qui permettra de prioriser les patients pour la transplantation hépatique (TH) et éventuellement proposer une double greffe foie-rein.


Le DFG est rarement mesuré et souvent estimé. Les équations utilisées peuvent conduire à des surestimations importantes, particulièrement chez les patients atteints de maladies hépatiques et/ou de maladies hépatiques associées à des comorbidités rénales.

Notre objectif est de déterminer précisément le comportement pharmacocinétique de l'iohexol, chez des patients atteints de maladie hépatique, au moyen d'une cinétique prolongée de 24H. Ceci permettra d'objectiver l'existence et l'intensité des éventuels rebonds de concentration liés au 3ème secteur ainsi que de déterminer la durée de prélèvements nécessaire et suffisante pour capturer la phase d'élimination terminale chez ces patients.

En parallèle, nous recueillerons les urines sur toute la durée de la cinétique afin de mesurer la clairance rénale de l'iohexol et de vérifier si la décroissance plasmatique correspond bien à une élimination rénale totale du produit, condition sine qua non de son utilisation comme marqueur du DFG.

Des données individuelles à même de modifier la pharmacocinétique de l'iohexol seront recueillies afin d'être testées comme covariables associées à la CLiox.

Des cinétiques riches seront collectées chez les 9 patients de cette étude pilote. Elles serviront de support à l'élaboration d'une stratégie utilisant moins de prélèvements (stratégie de prélèvements limités) qui, associée le cas échéant à des covariables pertinentes, permettra de rendre ces explorations plus faciles à réaliser en routine aux services d'Hépatogastroentérologie.

	<p>Rapport d'Analyse Statistique et de Sécurité</p> <p><b>DFGHep</b></p>	<p><b>Version : 1.0</b></p> <p><b>Date : 25/02/2020</b></p>
CONFIDENTIEL		

## 1.2 Objectifs

### Objectif principal

Décrire l'évolution des concentrations plasmatiques et urinaires de l'iohexol dans une population de 9 patients cirrhotiques à partir de cinétiques riches.

### Objectifs secondaires

1. Calculer la clairance rénale de l'iohexol.
2. Calculer la clairance plasmatique de l'iohexol.
3. Construire un modèle de pharmacocinétique de population permettant d'estimer la clairance rénale à partir de la clairance plasmatique.
4. Evaluer la concordance entre la clairance plasmatique de l'iohexol obtenue par le modèle et :
  - Le DFG estimé par la formule CKD-EPI,
  - Le DFG estimé par les formules MDRD4 et MDRD6,
  - Le DFG estimé par la clairance rénale de la cystatine C (Uguen, Jezequel et al. 2016).
5. Déterminer dans le modèle de la clairance rénale (cf. objectif 3) les covariables pertinentes pouvant l'influencer. L'ascite ainsi que les stades Child Pugh et MELD feront partie des covariables testées.

## 2. Méthodes

### 2.1 Suivi de la réglementation

Organisme	Date	Objet
CPP Sud Est V Grenoble	06/11/2018	Avis favorable
ANSM	26/11/2018	Pour information

### 2.2 Schéma de l'étude

Recherche interventionnelle pilote prospective et monocentrique.

CONFIDENTIEL

**Tableau récapitulatif de suivi du participant**

	(V-1)	Inclusion (V0)	Hospitalisation (V1)														Suivi (V2) <sup>5</sup>
			T0	T5mn	T15mn	T30mn	T60mn	T1h30	T2h	T3h	T4h	T6h	T8h	T10h	T12h	T24h	T7J
Information orale	✓																
Remise de la note d'information	✓																
Vérification des critères d'éligibilité	✓	✓	✓														
Consentement éclairé écrit		✓															
Recueil des antécédents <sup>1</sup> et des traitements habituels		✓	✓														
Examen clinique <sup>2</sup>		✓	✓														
Test de grossesse urinaire			✓														
Pression artérielle				✓							✓		✓		✓	✓	
Hydratation PO				✓							✓			✓			
Injection d'Iohexol (5ml)			✓														
Vidange vésicale complète				✓							✓		✓		✓	✓	
Prélèvements sanguins		✓ <sup>3</sup>	✓ <sup>4*</sup>		✓*	✓*	✓*	✓*	✓*	✓*	✓*	✓*	✓*		✓*	✓*	
Prélèvements urinaires		✓ <sup>3</sup>	✓ <sup>4*</sup>								✓*		✓*		✓*	✓*	
Recherche des EI		✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓

<sup>1</sup> Antécédents importants, Néphrologiques, cardiologiques, digestifs, neurologiques, autres pertinents

<sup>2</sup> Examen clinique : Age, Sexe, Poids, Taille, IMC, Surface corporelle, Pression artérielle et la fréquence cardiaque, présence d'une ascite ou d'OMI

<sup>3</sup> Bilan biologique : Sanguin : créatinine plasmatique, Urée sanguine, ionogramme sanguin, réserve alcaline, calcémie, phosphorémie, NFS et plaquettes, TP, INR, acide urique, bilan hépatique : ALAT, ASAT, PAL, GammaGT, bilirubine totale, albumine. Sur un échantillon urinaire : Protéinurie, créatininurie, sodium, potassium.

<sup>4</sup> Bilan biologique : Sanguin : créatinine plasmatique, Urée sanguine, ionogramme sanguin, réserve alcaline, calcémie, phosphorémie, NFS et plaquettes, TP, INR, acide urique, albumine, pré-albumine, bilan hépatique : ALAT, ASAT, PAL, GammaGT, bilirubine totale. Sur un échantillon urinaire : Protéinurie, créatininurie, sodium, potassium.

\* Dosage de l'Iohexol : XXXX Prélèvement réalisé spécifiquement pour la recherche

<sup>5</sup> Appel téléphonique du patient pour recherche des éventuels événements indésirables

	<p>Rapport d'Analyse Statistique et de Sécurité</p> <p><b>DFGHep</b></p>	<p><b>Version : 1.0</b></p> <p><b>Date : 25/02/2020</b></p>
CONFIDENTIEL		

## 2.3 Participants

### Critères d'éligibilité

#### **Critères d'inclusion :**

- Patients suivis habituellement dans le service d'Hépatogastro-Entérologie et atteints de maladie hépatique avancée, dont l'état nécessite une mesure exacte du débit de filtration glomérulaire, avec indication potentielle de transplantation hépatique, avec ou sans ascite :

1. Sans ascite : 3 patients.
2. Grade OMS 1 (minime) : ascite uniquement détectable par échographie: 3 patients.
3. Grade OMS 2 (modéré) et grade OMS 3 (volumineux) : ascite cliniquement significative à l'origine d'une distension symétrique modérée de l'abdomen ou causant une distension abdominale marquée : 3 patients.


Dans la mesure du possible différents profils représentatifs de DFG calculés seront inclus. Cependant ce critère n'est pas déterminant.

- Patients âgés de 18 ans à 70 ans.
- Affiliés à un régime de sécurité sociale.
- Ayant donné leur consentement éclairé écrit.

#### **Critères de non-inclusion :**

-Hypersensibilité à la substance active aux produits de contrastes iodés ou à l'un des excipients mentionnés dans la rubrique Composition

- Antécédent de réaction immédiate majeure ou cutanée retardée à l'injection du produit de contraste iodé (Omnipaque)
- Patients atteints de thyrotoxicose
- Patients ayant des antécédents de dysthyroïdie
- Patients asthmatiques
- Patients atteints de maladies cardiovasculaires sévères
- Patients atteints de troubles du système nerveux central notamment vasculaires
- Patients atteints de phéochromocytome
- Patients atteints de myasthénie
- Patients porteurs d'une drépanocytose
- Patients atteints d'une maladie auto-immune
- Patients traités par metformine
- Patients devant nécessiter une anesthésie le premier jour des prélèvements
- Patients devant avoir une injection de produit de contraste iodé pendant l'hospitalisation et dans les deux semaines précédentes. Les injections de gadolinium ne sont pas contre-indiquées
- Patients sous tutelle ou curatelle ou en incapacité de donner leur consentement éclairé
- Patients déjà inclus dans un autre protocole de recherche interventionnel ou en période d'exclusion
- Femmes enceintes ou allaitantes

	<p>Rapport d'Analyse Statistique et de Sécurité</p> <p><b>DFGHep</b></p>	<p><b>Version : 1.0</b></p> <p><b>Date : 25/02/2020</b></p>
<p><i>CONFIDENTIEL</i></p>		

## **Structures et lieux de recueil des données**

Tous les patients inclus ont été pris en charge dans le service d'hépatogastro-entérologie du CHU de Limoges.

## **2.4 Interventions**

Les patients répondant aux critères d'éligibilité de l'étude, seront pris en charge par le CIC 1435. Cette étape permettra de procéder aux prélèvements sanguins et urinaires pour les mesures de clairance plasmatique et rénale de l'iohexol.

Après injection d'une dose de charge de 5ml d'iohexol en bolus, les prélèvements sanguins seront réalisés à des temps donnés. Les prélèvements urinaires seront effectués à chaque miction, avec mesure du volume exact et relevée des horaires.

La courbe d'élimination du traceur sera déterminée pour chaque patient. A l'issue de la V1, le DFG sera mesuré par les 2 méthodes suivantes :

- clairance plasmatique de l'iohexol
- clairance rénale de l'iohexol


## **2.5 Critères de jugement**

### **Critère de jugement principal**

Courbes de concentrations plasmatiques et urinaires de l'iohexol en fonction du temps.

### **Critères de jugement secondaires**

1. Clairance rénale de l'iohexol obtenue par analyse non-compartmentale.
2. Clairance plasmatique de l'iohexol obtenue par analyse non-compartmentale.
3. L'évaluation de la performance du modèle sera basée sur sa capacité à prédire les concentrations d'iohexol, exprimée par le biais (%) et la précision (racine de la moyenne des biais au carré = RMSE) entre les concentrations urinaires et plasmatiques prédites et les concentrations urinaires et plasmatiques observées.
4. Coefficients de corrélations linéaires et nuages de points entre la clairance plasmatique du iohexol estimée par le modèle et DFG calculés par les différentes méthodes. Des courbes de Bland Altman seront aussi tracées.
5. Evaluation des covariables par régression linéaire multiple et nuages de points (covariables continues) ou Mann Whitney et box plots (covariables catégorielles). Inclusion des covariables

	<p>Rapport d'Analyse Statistique et de Sécurité</p> <p><b>DFGHep</b></p>	<p><b>Version : 1.0</b></p> <p><b>Date : 25/02/2020</b></p>
CONFIDENTIEL		

caractérisées par un  $P < 0.01$  dans le modèle. Recherche des covariables qui vont influencer la relation entre la clairance plasmatique et la clairance rénale :

- grade d'intensité de l'ascite (2 grades : minime (échographique) ou modéré - volumineux),
- âge,
- poids (du jour et H24),
- sexe,
- diurèse des 24H,
- albumine,
- natriurèse,
- prise de diurétiques (nature et dose),
- autres médicaments pouvant influencer le DFG,
- stigmates biologiques d'insuffisance hépatique ou d'hypertension portale et BH complet : bilirubine, transaminases, albumine, INR, phosphatases, score de Child Pugh, score de MELD.

## 2.6 Nombre de sujets nécessaires

Le calcul du nombre de sujets nécessaire pour les études PK est difficile car les analyses « classiques » sont basées sur la comparaison entre 2 groupes ou plus. Une méthode propose d'inclure un nombre de sujets suffisants pour s'assurer de la précision de la variance pour un paramètre PK donné distribué normalement. Nous avons donc utilisé une fonction implémentée dans le package Pmetrics (Neely, van Guilder et al. 2012) permettant d'estimer le nombre de sujets à inclure sur la base de l'estimation de l'élimination de l'iohexol (Clairance apparente ; CL/F). Nous sommes partis d'une valeur observée dans l'étude de Benz de Bretagne et al (Benz-de Bretagne, Le Guellec et al. 2012) (moyenne =  $0.00354 \text{ h}^{-1}$ , Sd=  $0.000531 \text{ h}^{-1}$ ). Le nombre de sujets nécessaire ici, est donc de 9 sujets, pour une précision de 10%).

## 2.7 Randomisation

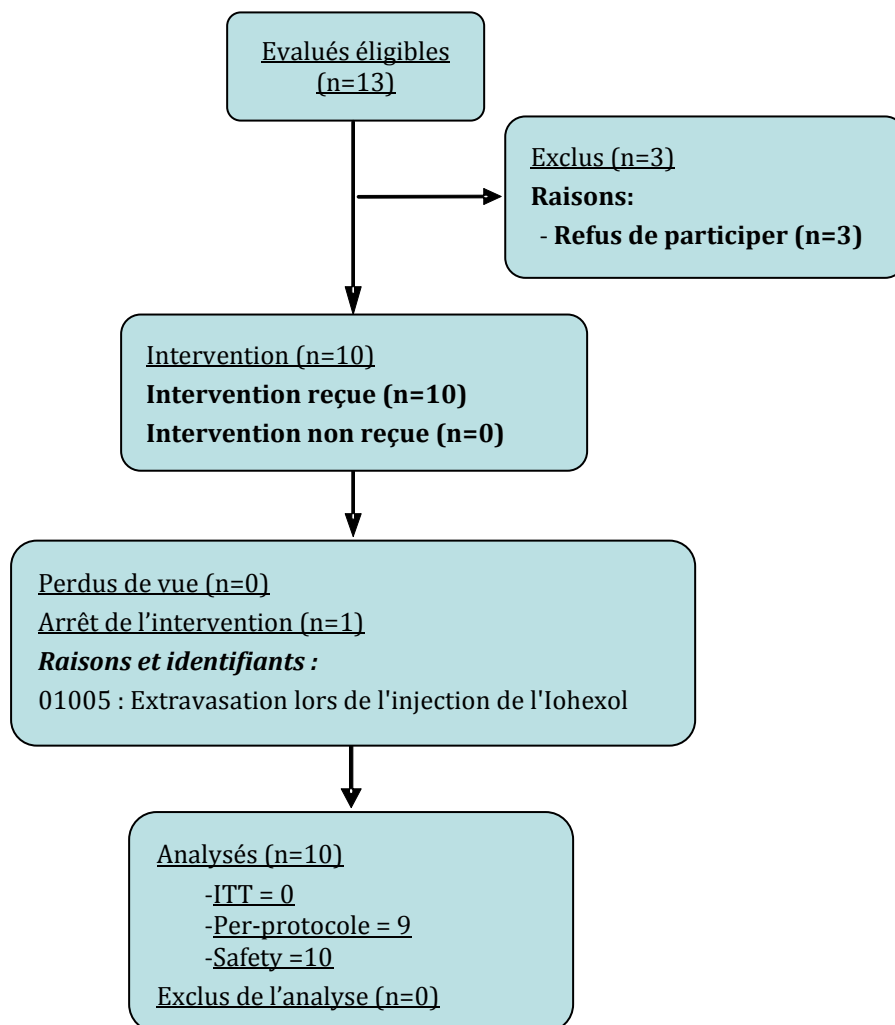
Non Applicable

## 2.8 Méthodes statistiques

A non compartmental analysis was applied to determine the plasma and urinary clearance of iohexol (calculated as Dose/AUC) in PKanalix ( Lixoft, Antony, France). Comparisons between reference iohexol clearance and other methods were performed using linear correlation and bland altman plots. Covariates were investigated on reference clearance using linear regression and scatter plot (continuous covariates) with calculation of the coefficient of determination ( $R^2$ ) or Mann Whitney and boxplots (categorical covariates).


### 3. Résultats

#### 3.1 Flux des participants



#### 3.2 Recrutement

Etat	Date
Début des inclusions	11/02/2019
Fin des inclusions	17/08/2019
Fin de suivi du dernier participant	28/08/2019

	<p>Rapport d'Analyse Statistique et de Sécurité</p> <p><b>DFGHep</b></p>	<p><b>Version : 1.0</b></p> <p><b>Date : 25/02/2020</b></p>
CONFIDENTIEL		


### 3.3 Analyses descriptives

A total of 9 patients were consecutively included in our study, exclusively men. It should be noted that during the inclusion period, 3 other patients were screened, signed their informed consent at the V0 visit, but secondarily withdrew their consent. The characteristics of the patients are shown in Table 1.

**Table 1.** Patient's main characteristics median (min-max).

Age	60 (47 - 70)
Sexe ratio (M:F)	1,0
Etiology	Alcohol 78% - Mixte 22%
MELD	17 (8 - 33)
Child Pugh	7 (5 - 12)
Serum creatinine (micromol/L)	87 (53 - 142)
CKD - EPI (mL/min/1,73m <sup>2</sup> )	83 (46 - 120)
MDRD4 (mL/min/1,73m <sup>2</sup> )	82,7 (47 - 153,9)
MDRD6 (mL/min/1,73m <sup>2</sup> )	77,2 (46,5 - 134)
RFH (mL/min/1,73m <sup>2</sup> )	54,6 (31,9 - 105)
BM formula (mL/min/1,73m <sup>2</sup> )	59,7 (38,4 - 115,1)
mCl plas (mL/min)	63,7 (41,3 - 111,3)
mCl urin (mL/min)	53,6 (32,7 - 76,7)
Serum albumin (g/L)	34,2 (26 - 37,7)
SBP (mmHg)	120 (101 - 140)
DBP (mmHg)	70 (60 - 89)
Weight (kg)	96 (70 - 143)
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	32,8 (22,3 - 48,3)
Natremia (mmol/L)	132 (118 - 139)
Diuretics	yes : 56% ; no : 44%
Bilirubine (micromol/L)	29,9 (10,2 - 159)
ALKP (UI/L)	136 (73 - 323)

*RFH : Royal Free Hospital formula, BM : Brochner-Mortensen formula, mCl plas : measured plasmatic clearance, mCl urin : extrapolated urinary clearance, SBP : systolic blood pressure, DBP : diastolic blood pressure, BMI : Body Mass Index, ALKP : Alkaline Phosphatase.*

	<p>Rapport d'Analyse Statistique et de Sécurité</p> <p><b>DFGHep</b></p>	<p><b>Version : 1.0</b></p> <p><b>Date : 25/02/2020</b></p>
CONFIDENTIEL		

### 3.4 Analyse principale

*“Description of the pharmacological curves of plasma and urinary concentrations of iohexol as a function of time.”*

The non-compartmental analysis of blood and urine concentrations of iohexol, are presented in Table 2.

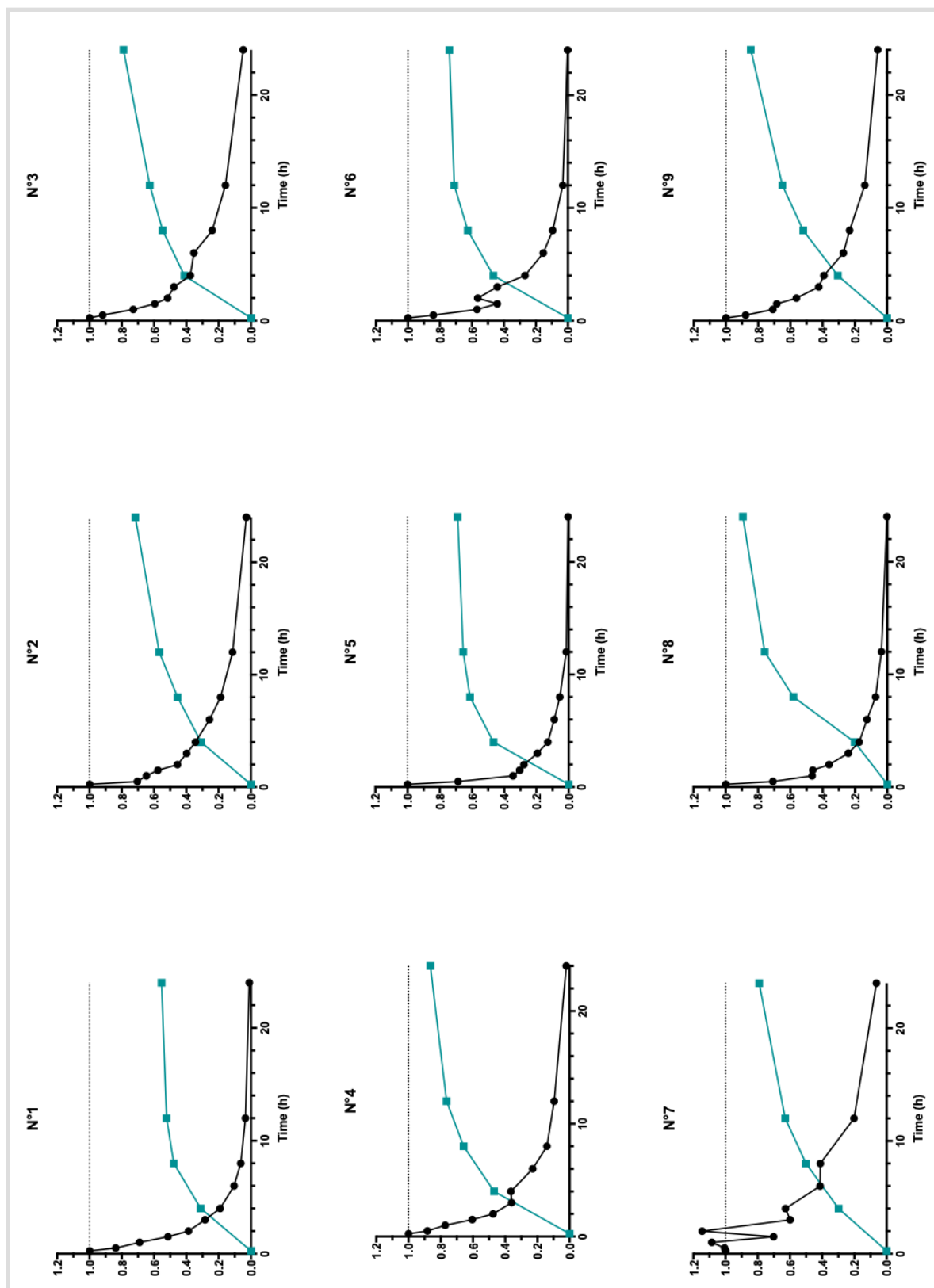
**Table 2.** *Non - compartmental Analysis (NCA) : iohexol pharmacokinetic parameters.*


Patient no.	Cl plas (mL/min)	Cl urin (mL/min)	k plas (min <sup>-1</sup> )	C max (mg/L)	Vd (mL)	AUC 0 > inf (mg/h/L)	AUC 0 > 24h (mg/h/L)	%
1	63,71	35,30	0,003211	284	19839,7	846,26	830,171	- 1.9
2	55,92	40,07	0,002345	196	23852,5	964,113	924,802	- 4.1
3	58,70	46,38	0,002031	148	28897,5	918,45	860,117	- 6.4
4	76,25	65,98	0,002644	154	28830,0	707,119	686,323	- 2.9
5	111,26	76,69	0,003635	227	30607,4	484,599	480,014	- 0.9
6	79,01	58,60	0,004057	202	19475,6	682,396	680,013	- 0.3
7	41,27	32,68	0,001994	173	20689,5	1306,38	1226,09	- 6.1
8	79,88	71,44	0,003817	247	20924,1	674,929	671,568	- 0.5
9	63,39	53,64	0,001947	140	32556,8	850,604	779,724	- 8.3
Median	63,71	53,64	0,002644	196	23853	846,3	779,7	-5
Min - Max	41,27 - 111,3	32,68 - 76,69	0,001947 - 0,004057	140 - 284	19476 - 32557	484,6 - 1306	480 - 1226	-9 ; -1,9

*Cl plas : measured plasma clearance of Iohexol, Cl urin : extrapolated urinary clearance of Iohexol, k plas : plasmatic elimination constant, C max : plasma maximal concentration, Vd : distribution volume, AUC : Area Under the Curve.*

Overall, the plasma concentration decay is homogeneous for all patients with typically two phases a rapid phase 1 corresponding to the distribution phase (first two hours) and a slower phase II corresponding to the elimination phase (figure 1). Iohexol is almost no longer detected in plasma at the 24th hour which allowed us to extrapolate the AUC 0 - 24 hours to AUC 0 - ∞.

**Figure 1.** Plasma (black) and urinary (grey) iohexol concentration curves in percentage of the injected dose as a function of time for each patient.



	<p>Rapport d'Analyse Statistique et de Sécurité</p> <p><b>DFGHep</b></p>	<p><b>Version : 1.0</b></p> <p><b>Date : 25/02/2020</b></p>
CONFIDENTIEL		

It should be noted that patient #7 presented a high and isolated concentration at 2 hours, perhaps because he had received a not scheduled iodine injection for radiographic examination 15 days before inclusion.

The urinary curves are homogeneous with an inverse behavior of the plasma curves. However, at the 24th hour, the urinary elimination was not complete varying at H24 from 60 to 90% of the overall dose administered. Thus the urinary clearance of iohexol was not directly measurable and the urine clearance was extrapolated from the plasma clearance and the total urinary excretion of iohexol, according to the formula :

*Urinary clearance of iohexol = Measured Plasma clearance X Total urinary excretion of iohexol in 24 hours / total dose of iohexol injected*

Plasma and urinary clearances of iohexol obtained by non-compartmental analysis.

### 3.5 Analyses secondaires

The median plasma and urinary clearance [min; max] of iohexol over 24 hours were 63.7 mL/min [41.3 ; 111.3] and 53.6 mL/min [32.7 ; 76.7] respectively. Indexed to body surface area for each patient, the median plasma clearance was 59.4 mL/min/1.73 m<sup>2</sup> [30.6 ; 103.3].

The median bias between plasma and urinary clearance was -16.5 mL/min, with 95% concordance limits of - 35 to 2 mL/min.

The linear regression and Bland-Altman comparisons are shown in Figure 2.


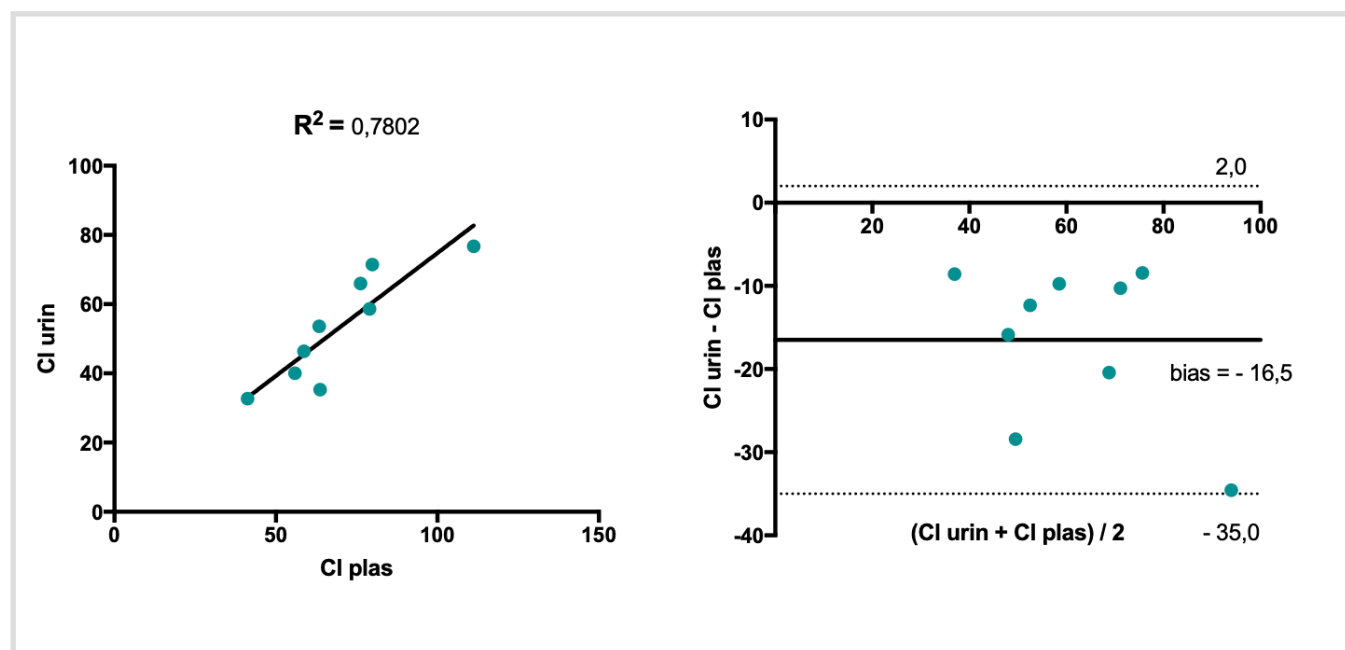
	<p>Rapport d'Analyse Statistique et de Sécurité</p> <p><b>DFGHep</b></p>	<p>Version : 1.0</p> <p>Date : 25/02/2020</p>
CONFIDENTIEL		

Figure 2. Comparison between plasma and urinary clearances of Iohexol by linear regression and Bland-Altman method. Clearances are expressed in mL/min/m<sup>2</sup>.



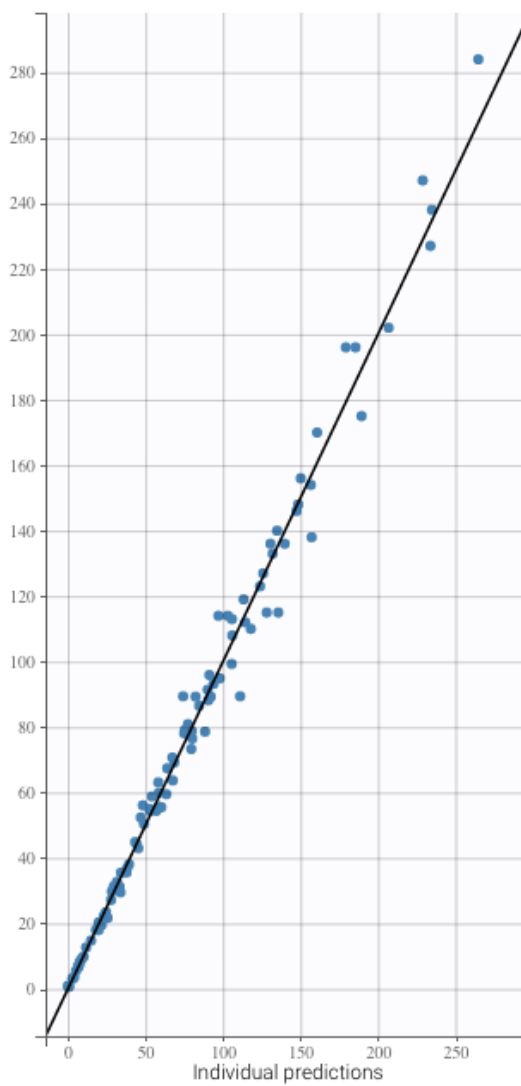
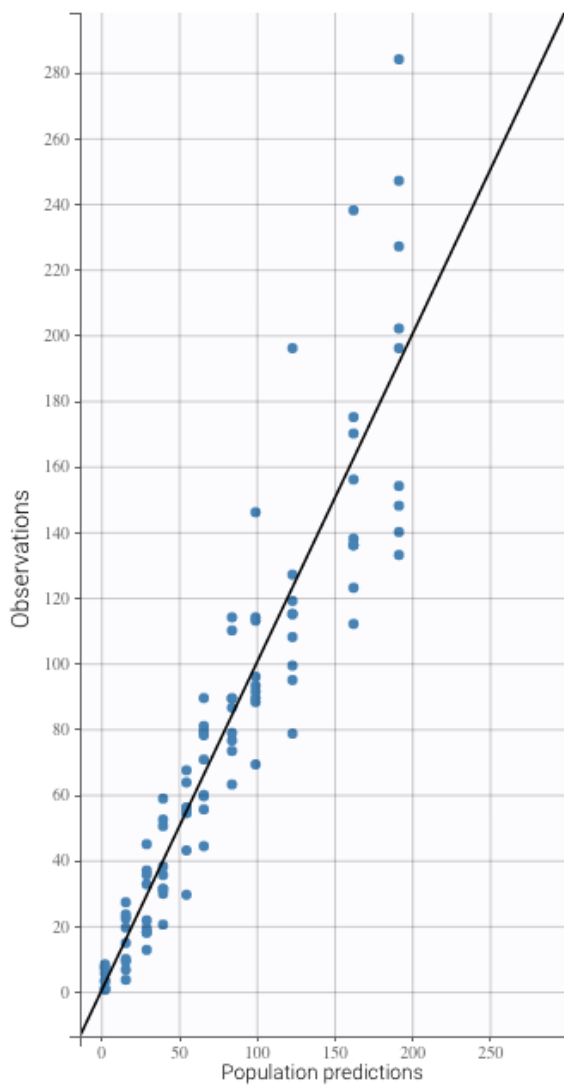
	<p>Rapport d'Analyse Statistique et de Sécurité</p> <p><b>DFGHep</b></p>	<p><b>Version : 1.0</b></p> <p><b>Date : 25/02/2020</b></p>
CONFIDENTIEL		

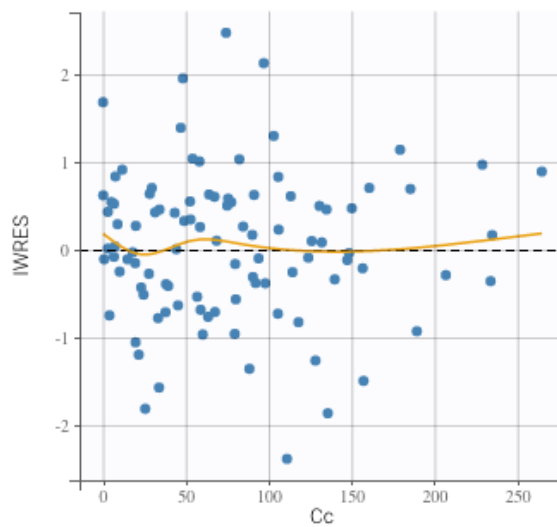
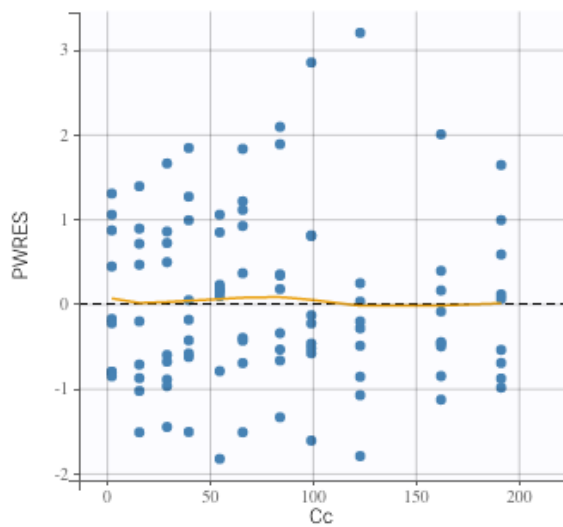
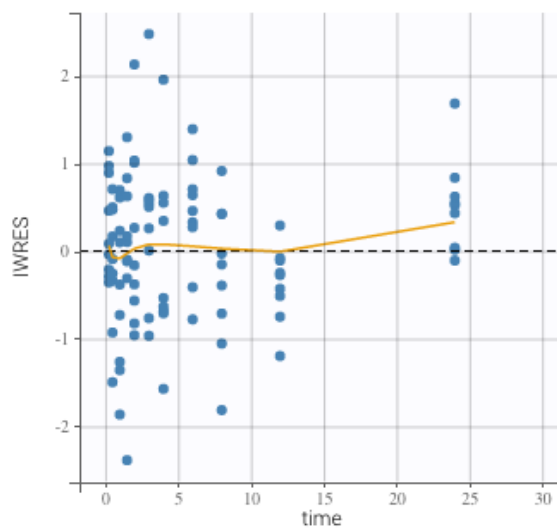
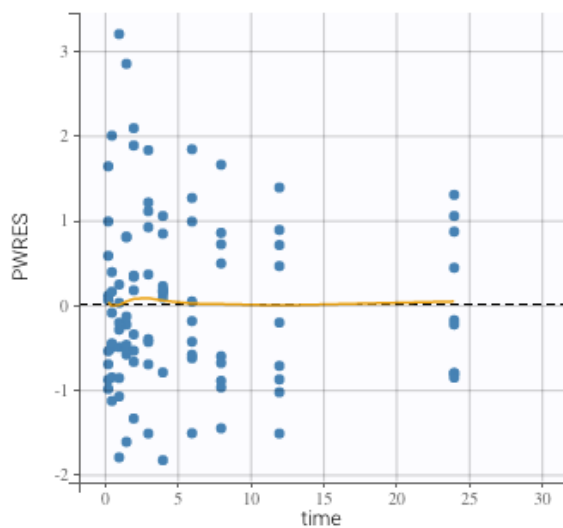
**Construire un modèle de pharmacocinétique de population permettant d'estimer la clairance rénale à partir de la clairance plasmatique.**

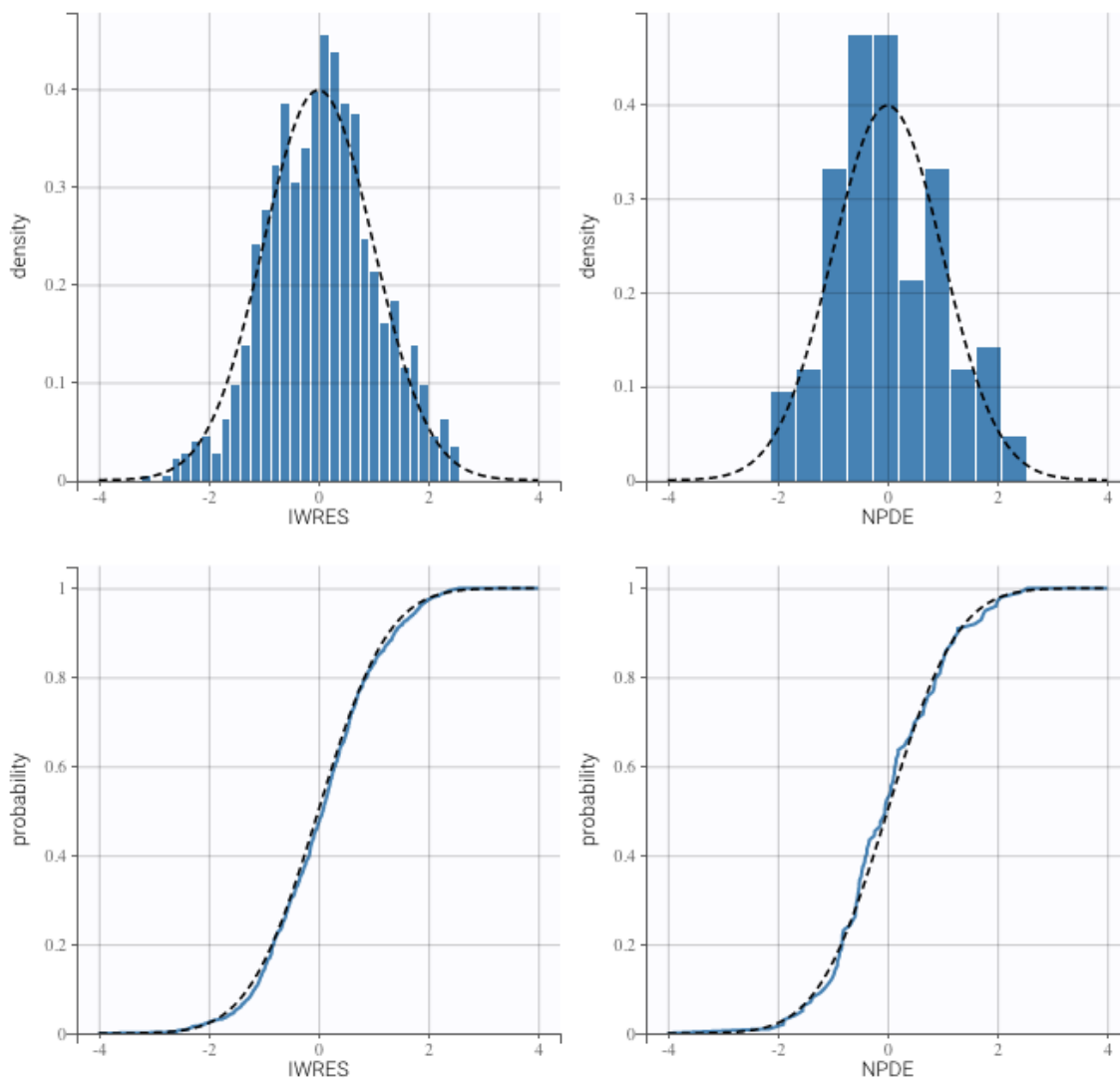
The population pharmacokinetic analysis was performed in Monolix. The parameters of the 2 compartment model developed are presented in the table below:

VALUE		STOCH. APPROX.	
		S.E.	R.S.E.(%)
Fixed Effects			
Cl_pop	4.28	0.322	7.53
V1_pop	14.1	1.82	12.9
Q_pop	6.58	2.1	31.8
V2_pop	10.5	1.04	9.88
Standard Deviation of the Random Effects			
omega_Cl	0.224	0.0536	24
omega_V1	0.36	0.0998	27.7
omega_Q	0.863	0.232	26.9
omega_V2	0.23	0.0794	34.5
Correlations			
corr_V1_Cl	-0.729	0.183	25.1
Error Model Parameters			
a	0.495	0.178	35.9
b	0.0817	0.00726	8.88

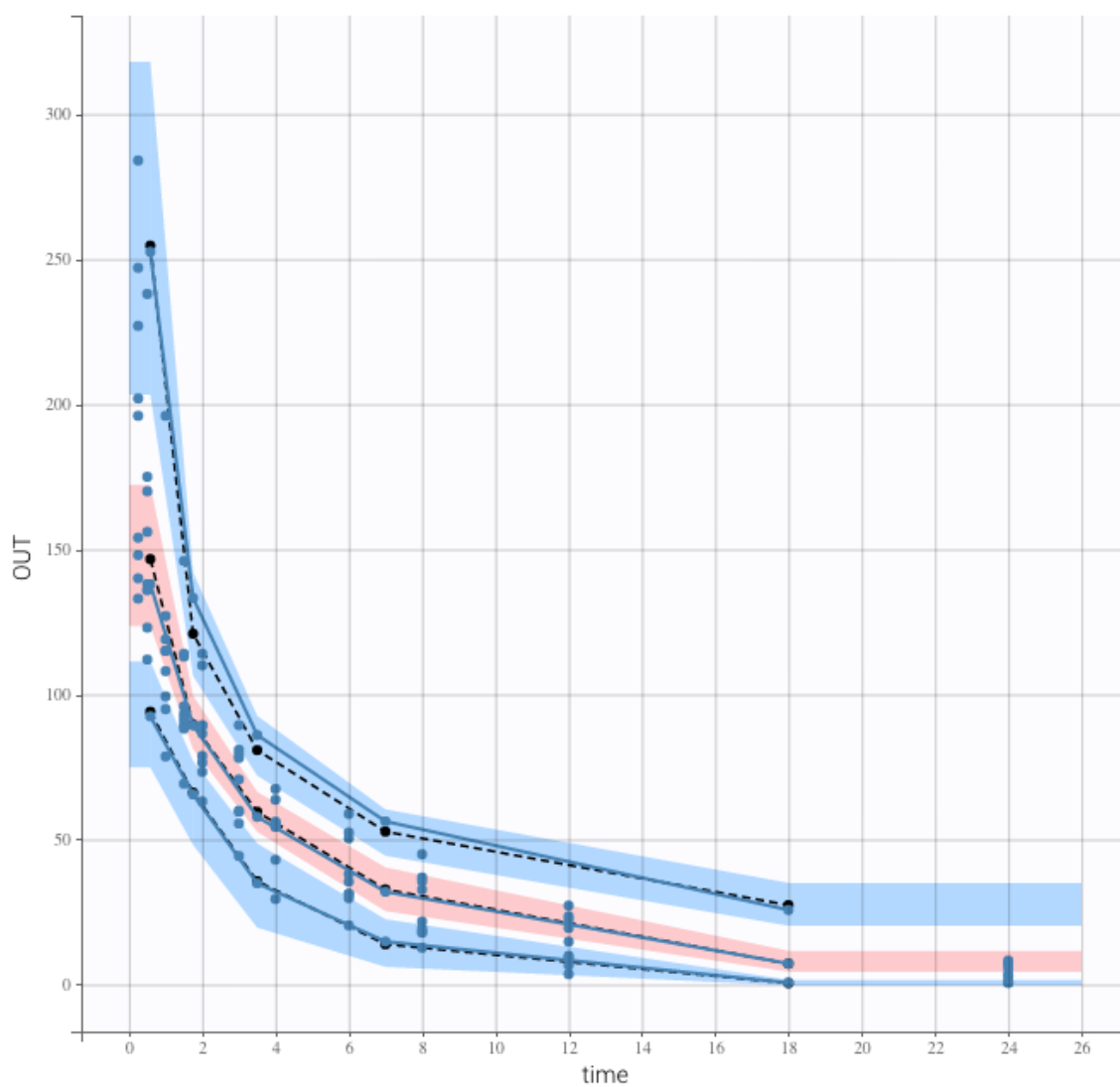
Goodness of fit graph are presented below



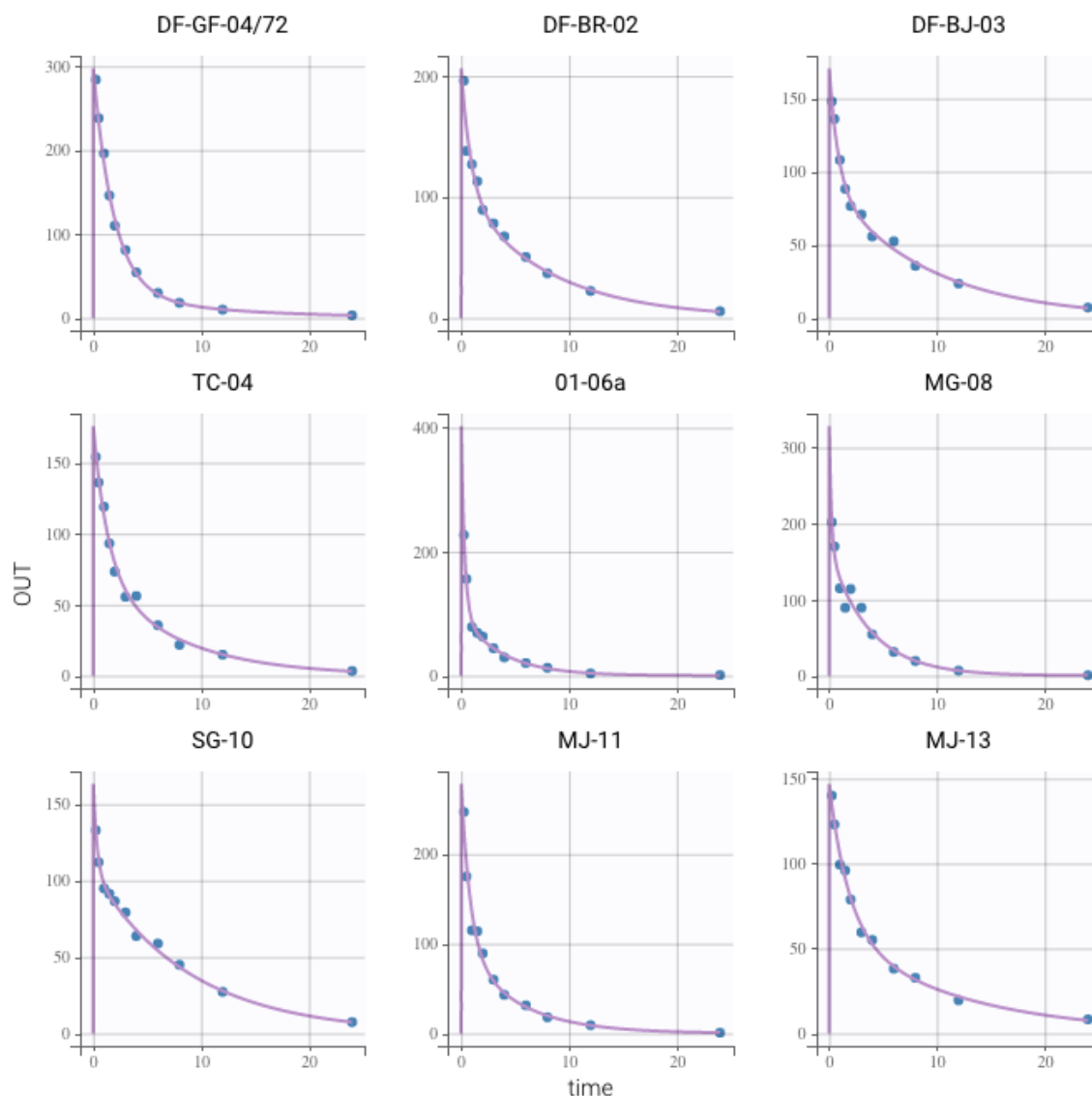




Visual predictive check are presented below



The individual fitted profiles are presented below

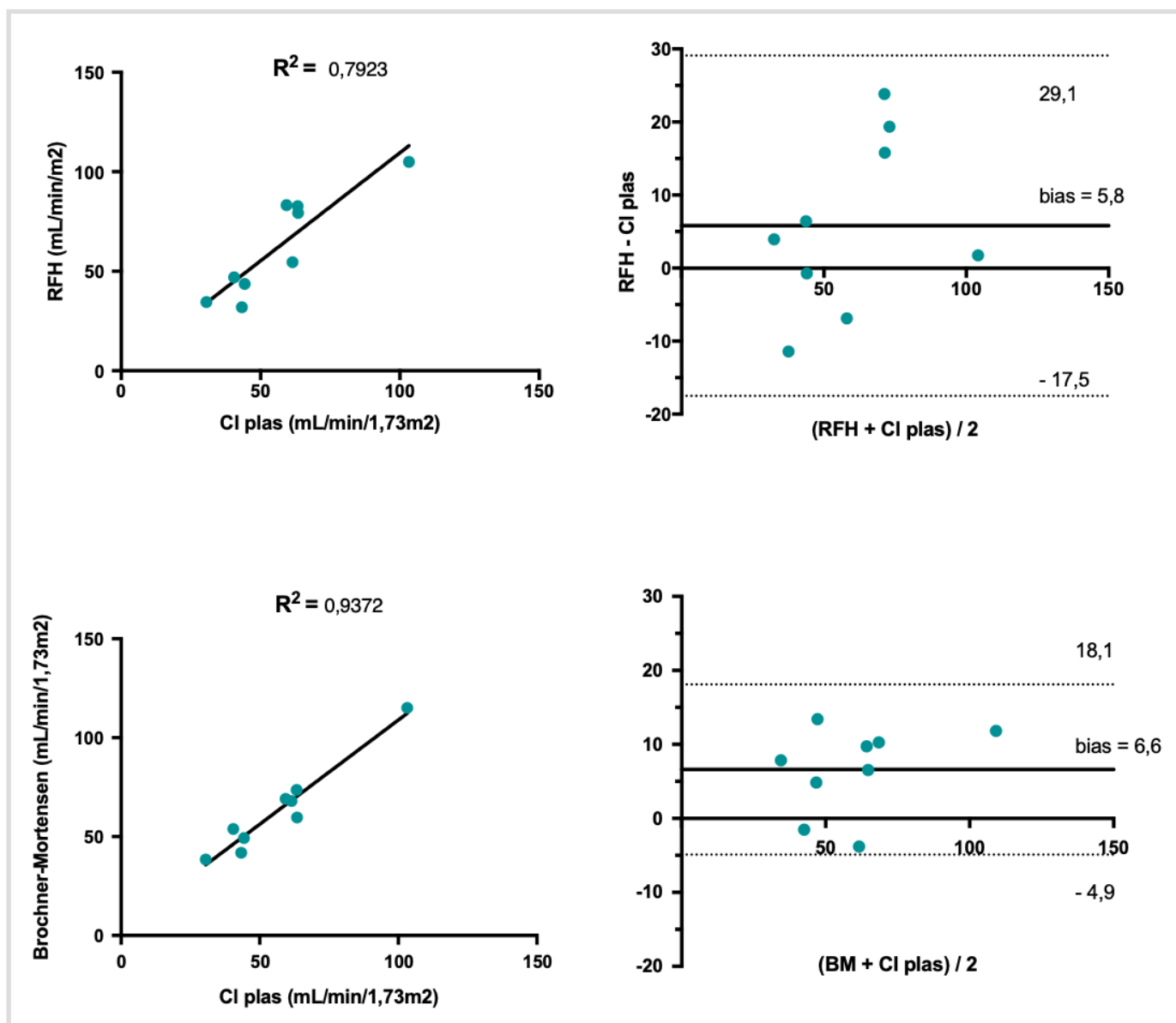


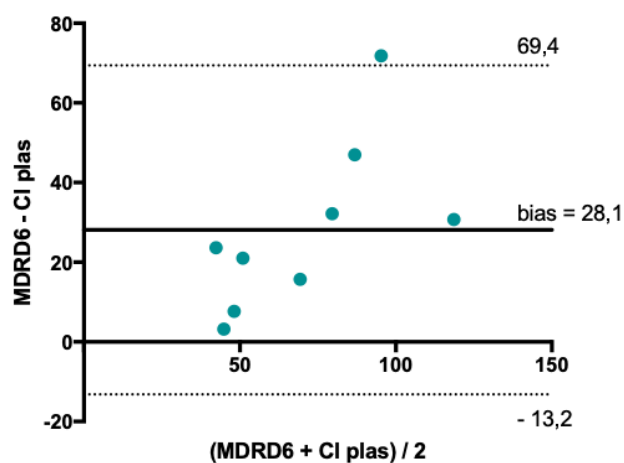
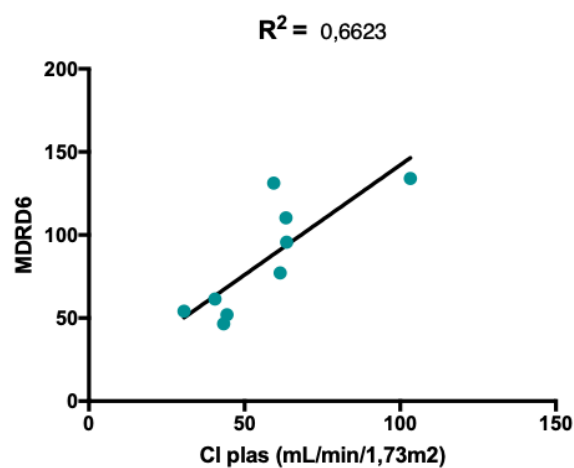
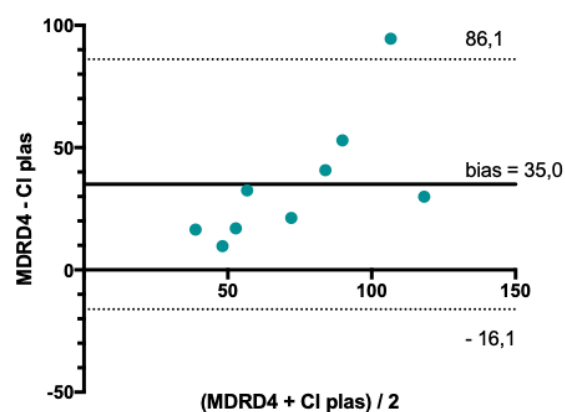
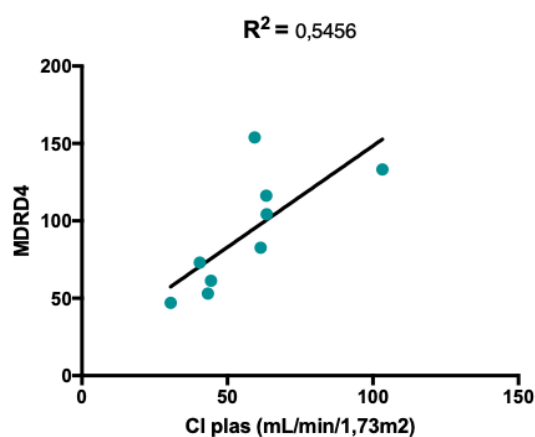
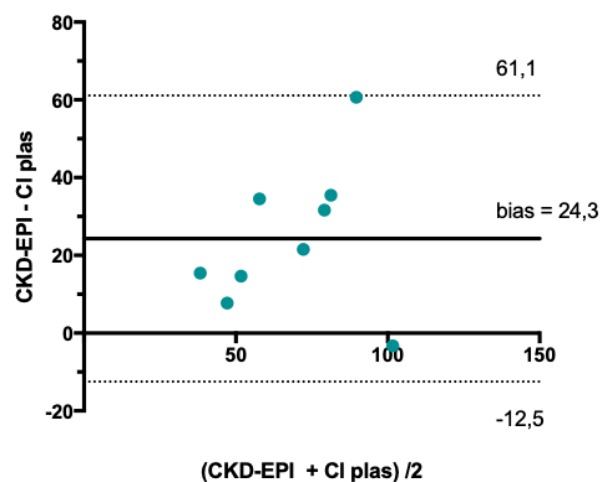
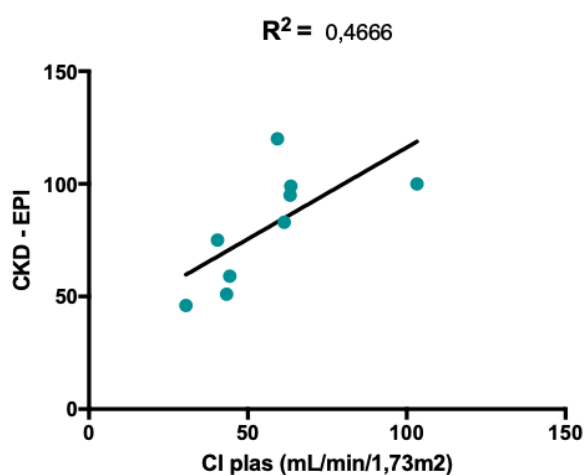
The mean relative prediction error between the CL predicted by the model and the CL obtained from the trapezoidal rule AUC was -0.2% and the relative imprecision (Root mean square error) was 1.8%.


### Concordance between the measured plasma clearance of iohexol and other formulas estimating the GFR.

All comparisons between the measured plasma clearance of Iohexol and creatinine based equations are presented in Figure 3. In the same way we compared the measured plasma clearance with the renal clearance estimated by the Royal Free Hospital formula and the plasma clearance of iohexol extrapolated with the Brochner-Mortensen formula.

**Figure 3.** Comparisons between the measured plasma clearance of Iohexol and creatinine based equations by linear regression and Bland-Altman method.





	<p>Rapport d'Analyse Statistique et de Sécurité</p> <p><b>DFGHep</b></p>	<p>Version : 1.0</p> <p>Date : 25/02/2020</p>
CONFIDENTIEL		

***Comparison between measured plasma clearance of Iohexol and CKD-EPI equation.***

The median bias between measured plasma clearance of Iohexol versus estimated clearance according to CKD-EPI equation is + 24.3 mL/min/1.73m<sup>2</sup> with 95% concordance limits of - 12.5 to 61.1 mL/min/1.73m<sup>2</sup>.

***Comparison between measured plasma clearance of Iohexol and MDRD4 and MDRD 6 equations.***

The median bias between measured plasma clearance of Iohexol versus estimated clearance by MDRD 4 equation is + 35.0 mL/min/1.73m<sup>2</sup> with 95% concordance limits of - 16.1 to + 86.1 mL/min/1.73m<sup>2</sup>.

The median bias between measured plasma clearance of Iohexol versus estimated clearance by MDRD 6 equation is + 28.1 mL/min/1.73m<sup>2</sup> with 95% concordance limits of - 13.2 to + 69.4 mL/min/1.73m<sup>2</sup>.

***Comparison between measured plasma clearance of Iohexol and RFH equation.***

The median bias between measured plasma clearance of Iohexol versus estimated renal clearance according to RFH equation is + 5,8 mL/min/1.73m<sup>2</sup> with 95% concordance limits of - 17.5 to + 29.1 mL/min/1.73m<sup>2</sup>.

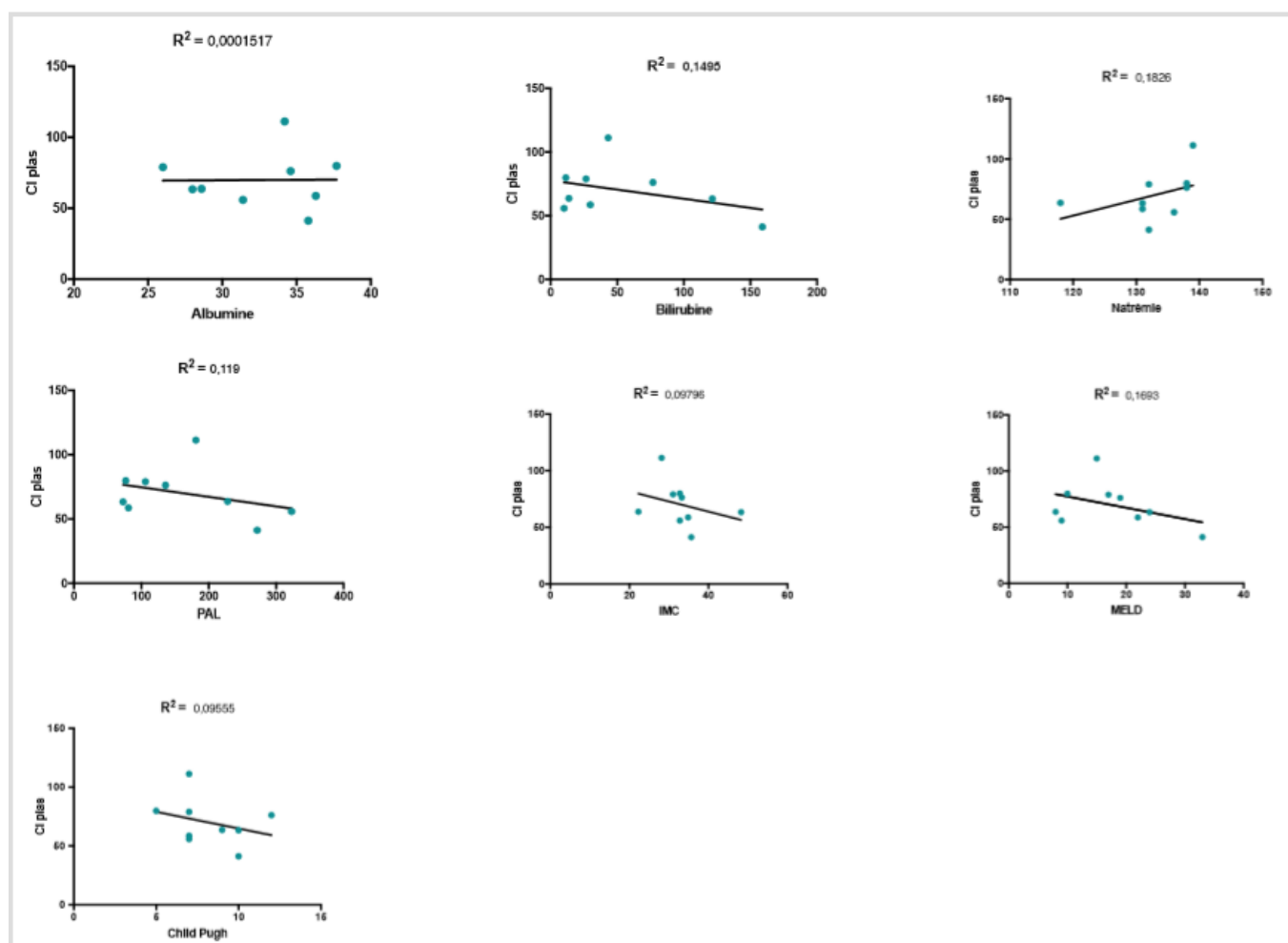
***Comparison between measured plasma clearance of Iohexol and plasma clearance of Iohexol extrapolated with the Brochner-Mortensen formula.***

The median bias between measured plasma clearance of Iohexol versus plasma clearance of Iohexol extrapolated with the Brochner-Mortensen formula is + 6,6 mL/min/1.73m<sup>2</sup> with 95% concordance limits of - 4.9 to + 18.1 mL/min/1.73m<sup>2</sup>.

**Evaluation of covariates.**

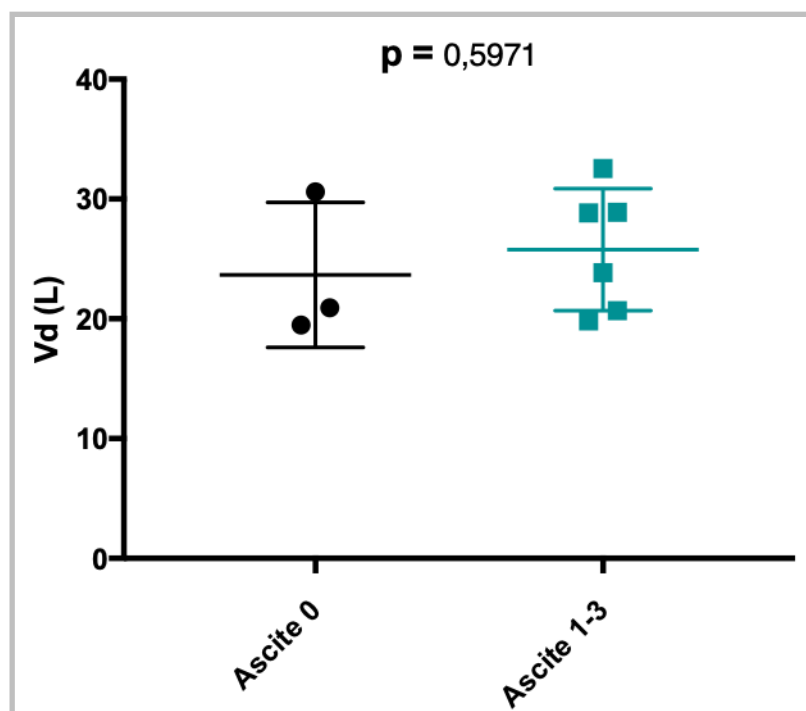
None of the clinically and biologically relevant covariates significantly influenced the measured plasma clearance of Iohexol.

**Figure 4.** Scatter plot and regression and calculation of coefficient of determination ( $R^2$ ) between covariates and measured plasma clearance of Iohexol.



In addition, the volume of distribution of Iohexol for the nine patients was compared according to the presence or not of ascites : grade I to III versus absence of ascites. This comparison is presented in Figure 5. The volume of distribution does not differ significantly between the two groups.

**Figure 5.** Comparison of the influence of ascite or not on the distribution volume.



### Development of a population pharmacokinetics model

## 3.6 Evaluation de la tolérance/toxicité

### 3.6.1 Réconciliation, codage


Une réconciliation finale entre la base de vigilance et le CRF a été faite en septembre 2019 avant le gel de la base. Aucune discordance ne persistait.

Les événements indésirables du CRF ont été codés à l'aide du dictionnaire MedDRA v22.0.

La sévérité a été évaluée selon l'échelle à 3 niveaux : léger, modéré, sévère.

En cas de date d'événement indésirable (EI) manquante ou incomplète :

- en cas de date ??/mm/yyyy : 01/mm/yyyy pour une date de début d'EI et 31/mm/yyyy pour une date de fin d'EI. Si l'EI est survenu les mêmes mois et années que la date de première prise de traitement, alors, le jour de début de l'événement correspond au jour de début du traitement expérimental
- en cas de date ??/ ??/yyyy : 01/01/yyyy pour une date de début d'EI et 31/12/yyyy pour une date de fin d'EI

	<p>Rapport d'Analyse Statistique et de Sécurité</p> <p><b>DFGHep</b></p>	<p><b>Version : 1.0</b></p> <p><b>Date : 25/02/2020</b></p>
CONFIDENTIEL		

### **3.6.2 Définition de la Safety Data Set**

Les patients inclus dans la safety dataset seront ceux qui ont été exposé au traitement expérimental. Les événements indésirables inclus dans cette Safety dataset sont ceux survenus entre la date de première administration du traitement expérimental et la date de « end-of-treatment » + 7 jours. Les événements indésirables survenus avant la date de première administration du traitement mais qui ont eu une augmentation de leur sévérité à partir de la date de première administration du traitement seront aussi inclus dans l'analyse. Ces événements décrits correspondent aux Treatment-emergent adverse events (TEAE).

13 patients ont été inclus dans l'étude et 10 patients ont été exposés au traitement expérimental. Trois patients ont retiré leur consentement avant l'exposition au traitement expérimental (0107, 0109, 0112). L'analyse porte donc sur les 10 patients exposés.

### **3.6.3 Liste des EI survenus entre la date de signature du consentement et la date de première prise du traitement expérimental**

Un EI est survenu entre la signature du consentement et l'administration du traitement expérimental. Il s'agissait d'un EI grave.

Patient	Nom SOC	PT	Date de première exposition au traitement ou à la procédure expérimentale	Date de survenue de l'EI	Gravité	Evolution
0104	Infections et infestations	Péritonite	04/06/2019	21/05/2019	Hospitalisation ou prolongation d'hospitalisation	Résolu/guérison

### **6.6.4 Evaluation de l'exposition au traitement expérimental**

10 patients ont été exposés au traitement expérimental (administration unique).

### **6.6.5 Événements indésirables (EI)**

	n
Nombre de TEAE	4
Nombre de patients ayant présenté au moins un TEAE	4
Nombre de TEAE graves	3
Nombre de patients ayant présenté au moins un TEAE grave	3

	<p>Rapport d'Analyse Statistique et de Sécurité</p> <p><b>DFGHep</b></p>	<p><b>Version : 1.0</b></p> <p><b>Date : 25/02/2020</b></p>
CONFIDENTIEL		

### Concordance Verbatim – LLT

Intitulé de l'EI	Nom LLT (niveau 5 du dictionnaire MedDRA)
Prostatite aiguë	Prostatite aiguë
Extravasation lors injection iohexol	Extravasation de médicament
Ulcère hémorragique	Ulcère hémorragique
Fibrillation auriculaire	Fibrillation auriculaire

### Répartition des TEAE en fonction des SOC

SOC	Nb patients	Nb de TEAE
Affections des organes de reproduction et du sein	1	1
Troubles généraux et anomalies au site d'administration	2	2
Affections cardiaques	1	1

### Répartition des TEAE en fonction des PT

AEPTNAME	SUBJID	Nb de TEAE
PROSTATITE	1	1
EXTRAVASATION AU SITE D'ADMINISTRATION	1	1
ULCÈRE HÉMORRAGIQUE	1	1
FIBRILLATION AURICULAIRE	1	1



Rapport d'Analyse Statistique et de Sécurité

**DFGHep**

**Version : 1.0**  
**Date : 25/02/2020**

*CONFIDENTIEL*

Patient	SOC	PT	Gravité	Intensité	Evolution	
0102	Affections des organes de reproduction et du sein	Prostatite	Hospitalisation ou prolongation d'hospitalisation	Modérée	Non résolu/non rétabli	Non raisonnablement lié
0105	Troubles généraux et anomalies au site d'administration	Extravasation au site d'administration	Non grave	Leger	Guérison en cours	Raisonnement lié
0106	Troubles généraux et anomalies au site d'administration	Ulcère hémorragique	Hospitalisation ou prolongation d'hospitalisation	Sévère	Résolu/guérison	Non raisonnablement lié
0113	Affections cardiaques	Fibrillation auriculaire	Hospitalisation ou prolongation d'hospitalisation	Leger	Non résolu/non rétabli	Non raisonnablement lié



Rapport d'Analyse Statistique et de Sécurité  
**DFGHep**

**Version : 1.0**  
**Date : 25/02/2020**


CONFIDENTIEL

### **3.6.6 Événements indésirables graves (EIG) et Événement indésirable d'intérêt particulier**

3 TEAE graves ont été déclarés.

Aucun des TEAE graves n'a été relié au traitement expérimental par l'investigateur ou le promoteur.

Code patient	Nom SOC	Nom PT	Date de première exposition au traitement ou à la procédure expérimentale	Date de survenue de l'EI	Gravité	Intensité	Evolution	Imputabilité à la prise en charge expérimentale de l'étude
0102	Affections des organes de reproduction et du sein	Prostatite	15/04/2019	21/04/2019	Hospitalisation ou prolongation d'hospitalisation	Modérée	Non résolu/non rétabli	Non raisonnablement lié
0106	Troubles généraux et anomalies au site d'administration	Ulcère hémorragique	13/06/2019	14/06/2019	Hospitalisation ou prolongation d'hospitalisation	Sévère	Résolu/guérison	Non raisonnablement lié
0113	Affections cardiaques	Fibrillation auriculaire	21/08/2019	22/08/2019	Hospitalisation ou prolongation d'hospitalisation	Léger	Non résolu/non rétabli	Non raisonnablement lié

	<p>Rapport d'Analyse Statistique et de Sécurité</p> <p><b>DFGHep</b></p>	<p><b>Version : 1.0</b></p> <p><b>Date : 25/02/2020</b></p>
CONFIDENTIEL		

### **3.6.7 Décès**

Aucun décès n'est survenu dans cette étude.

### **3.6.8 Evolution**

AEOU	Nb de TEAE
Non résolu/non rétabli	1
Guerison en cours	1
Résolu/guerison	1
Non résolu/non rétabli	1

### **3.6.9 Caractère attendu/inattendu**

Le document de référence pour cette étude était le RCP de l'OMNIPAQUE. Aucun des TEAE grave n'était relié au traitement expérimental donc le caractère attendu/inattendu n'a pas été évalué.


Il n'y a pas eu de SUSAR pour cette étude.

### **3.6.10 Délai de survenue/durée des EI**

Code patient	Nom PT (niveau 4 du dictionnaire MedDRA)	Date de première exposition au traitement ou à la procédure expérimentale	Date de survenue de l'EI
0102	Prostatite	15/04/2019	21/04/2019
0105	Extravasation au site d'administration	25/06/2019	25/06/2019
0106	Ulcère hémorragique	13/06/2019	14/06/2019
0113	Fibrillation auriculaire	21/08/2019	22/08/2019

### **3.6.11 Arrêt d'administration de traitement pour événement indésirable (définitif ou temporaire)/Réduction de dose**

L'administration du traitement expérimental a été arrêtée prématurément chez le patient 0105 en raison de la survenue d'une extravasation. Le patient a présenté un œdème localisé au niveau du site d'extravasation et est sorti d'étude. Cet EI s'est résolu et le patient a été de nouveau inclus dans l'essai (0111) pour une nouvelle administration de iohexol qui s'est déroulée sans problème.

	<p>Rapport d'Analyse Statistique et de Sécurité</p> <p><b>DFGHep</b></p>	<p><b>Version : 1.0</b></p> <p><b>Date : 25/02/2020</b></p>
CONFIDENTIEL		

Code patient	Nom PT (niveau 4 du dictionnaire MedDRA)	Raison de l'arrêt prématuré
0102	Prostatite	Aucune raison d'arrêt prématuré renseignée
0105	Extravasation au site d'administration	Survenu d'un EI ou d'un EIG
0106	Ulcère hémorragique	Aucune raison d'arrêt prématuré renseignée
0113	Fibrillation auriculaire	Aucune raison d'arrêt prématuré renseignée

### **3.6.12 Traitement symptomatique des événements indésirables**


Code patient	Nom PT	Autre Action	Préciser, autre
0102	Prostatite	Traitement(s) symptomatique(s) et hospitalisation	Oflocet
0105	Extravasation au site d'administration	Traitement(s) symptomatique(s)	Surélévation du bras et application glace
0106	Ulcère hémorragique	Traitement(s) symptomatique(s) et hospitalisation	
0113	Fibrillation auriculaire	Traitement(s) symptomatique(s) et hospitalisation	Anticoagulant

### **3.6.13 Autres informations**

Aucune information de sécurité n'a été mise en évidence durant l'étude.

### **3.6.14 Conclusion sur la sécurité**

Aucun problème de sécurité n'a été mis en évidence durant l'étude ou à l'issu de cette analyse.

	<p>Rapport d'Analyse Statistique et de Sécurité</p> <p><b>DFGHep</b></p>	<p><b>Version : 1.0</b></p> <p><b>Date : 25/02/2020</b></p>
CONFIDENTIEL		

## 4. Discussion

### 4.1 Résumé des résultats

In this study, we achieved our goal of describing, after a single injection, the evolution of iohexol kinetics in blood and urine obtained from rich samples collected over a 24 hour period.

To our knowledge, no study has so far described both the plasma and the urinary clearance of iohexol using complete rich pharmacokinetics (eleven samples) in a population of cirrhotic patients with different grades of ascites. In fact few data are available in the cirrhotic population, and methodological limitations in these studies warrant confirmation of the validity of iohexol for the measurement of GFR in this setting: period of blood collections too short, limited to 5 hours, while the product is not completely eliminated; second, very early plasma sampling reflecting the distribution phase are often lacking.

#### Urinary or plasma clearance of iohexol ?


Our data highlighted that urinary clearance of iohexol could not be directly measured as iohexol was not completely eliminated at H24 in the urine.

Urinary clearance is theoretically the most physiologic and accurate method to measure the filtering capacity of the kidney especially in patients presenting a third sector like ascites and voluminous edema. Theoretically, urinary samples should be collected until the complete elimination of iohexol in urine if we want to conclude that plasma clearance is equal to urinary clearance.

Our first observation was that the urinary elimination of iohexol was very slow, all patients still having iohexol in urine in significant proportions at H24, regardless of the grade of ascites. Urinary elimination was between 60 and 90% and three patients only achieved 90% elimination of iohexol while none of our patients had an estimated GFR < 30 mL/min/1.73m<sup>2</sup> at baseline. Therefore, we could not optimally measure the urinary clearance of iohexol in order to use it as a gold standard.

By observing the urinary elimination curves, three hypotheses can be advanced. The first would be that iohexol is not a good marker for GFR measurement. However, numerous publications showed that the clearance of iohexol gives similar results as inulin and 51-Cr-EDTA. Furthermore, it appears clearly as a reference tool in GFR measurement in the literature and plasma clearance is generally considered as accurate as urinary clearance.

The second would be that samples should have been extended over more than 48 hours until the complete elimination of iohexol in the urine, which is difficult to do in routine practice. Most studies focusing on the urinary clearance of other markers such as inulin or CR EDTA demonstrated that they were systematically subject to the difficulties of urine collection that is rarely complete, and thus the interpretation of results was prone to errors. In our study, we encountered difficulties in obtaining full urine in patient number 1 and we had approximately sixty percent of the initially injected dose collected in urine at 24 hours. The third hypothesis is that iohexol is stored in a

	<p>Rapport d'Analyse Statistique et de Sécurité</p> <p><b>DFGHep</b></p>	<p><b>Version : 1.0</b></p> <p><b>Date : 25/02/2020</b></p>
<p><i>CONFIDENTIEL</i></p>		

massive way in ascites or edema. Slack and al. were the first to analyze iohexol concentrations in the ascites of three patients at the same time as in the plasma. Iohexol equilibrated between blood and ascitic compartments after 4 h, but unfortunately, in this study blood and ascites samples were not available beyond 4 h, limiting the interpretation of the results. The authors also compared simultaneously GFR obtained with iohexol and chrome EDTA and showed a very small bias (-1.3 mL/min/1.73m<sup>2</sup> (18 to 16)). The design of our study did not include a dosage of iohexol in ascites but we evaluated the ascites concentration of iohexol in one patient with grade 2-3 ascites who had benefited from a paracentesis, immediately after the collection of plasma and urine samples at H24: iohexol was present but at low concentration (14mg/L). Finally, the volume of distribution was not impacted by the presence of ascites (Figure 4) within the estimated GFR of our patients who did not include values lower than 30 mL/min/1.73m<sup>2</sup> or higher than 120 mL/min/1.73m<sup>2</sup>.


A strong point of this study is that we were able to collect all plasma samples which allowed us to very accurately describe the plasma concentration curves of iohexol over time. Plasma elimination of iohexol in phase 2 (elimination phase) followed a constant linear or "first order" elimination and the amount of iohexol detected in blood at H24 was under or at the limit of detection (10ng/mL). Thus the half-life of iohexol, integrating clinical conditions and volume of distribution, did not vary significantly between ascites grades and between the presence or absence of ascites. This suggests that the specificities of cirrhotic patients, such as ascites, seem to have a minor impact on the plasma and urinary clearance of iohexol. We so calculated urinary clearance of iohexol from the plasma clearance, the total urinary excretion and the total injected dose of iohexol. However this proposal is only acceptable for the estimated values of GFR above 30 mL/min/1.73m<sup>2</sup> and under 120 mL/min/1.73m<sup>2</sup>. In practice, a very precise evaluation of the true GFR is mainly useful in this value range and patients with an eGFR < 30mL/min/1.73m<sup>2</sup> are immediately considered for double transplantation.

We thus conclude that plasma clearance is probably accurate, less cumbersome and more feasible than urinary clearance of iohexol to measure GFR in cirrhotic patients taking into account the restrictions mentioned above. We therefore chose rich plasma clearance as a reference for the GFR assessment and for the different comparisons in this study.

## 4.2 Limitations

The main one is the number of patients included. However the design of this study was pilot and descriptive, aiming to describe the behavior of iohexol in plasma and urine with rich kinetics, including early and late samples over a period of at least 24 hours, which had not been done yet in the cirrhotic population.

A recruitment bias is also related to gender. Patients with different grades of ascites were recruited prospectively and successively, with only men unfortunately. Although cirrhosis mainly affects men, women are equally affected by overestimation of GFR by serum creatinine based formulas, especially in the pre-transplant period. Women have relatively low serum creatinine levels and are therefore likely to be disadvantaged by graft allocation systems based on Meld's score. For illustration, after the adoption of the Meld's score in the allocation of liver transplants, the proportion of male transplant recipients increased, and the waiting list mortality rate for women was much higher than for men. Women scored higher when Cr was switched to mGFR in

	<p>Rapport d'Analyse Statistique et de Sécurité</p> <p><b>DFGHep</b></p>	<p><b>Version : 1.0</b></p> <p><b>Date : 25/02/2020</b></p>
CONFIDENTIEL		

the MELD scoring system. It is therefore an essential precaution in ensuring equal access to liver transplantation between genders.

Finally, we noted that one patient experienced a Cmax superior to the iohexol measured at the end of the perfusion (patient #7). We explained it by an injection of iodine for a CT scan 15 days before. We so need to warn about the fact that patients with severe cirrhosis are likely to benefit from radiological examinations with iodine injection that may interfere with plasma iohexol clearance.

## 5. Informations supplémentaires

### 5.1 Enregistrement

Numéro EudraCT	2018-002778-35
Numéro ClinicalTrial	NCT03769597

### 5.2 Financements

Financier 1	Soutien local du CHU de Limoges
Financier 2	Conseil Régional de la Nouvelle Aquitaine