



**HAL**  
open science

**Effet du posaconazole utilisé en prophylaxie des infections fongiques invasives sur le traitement immunosuppresseur des patients allogreffés de cellules souches hématopoïétiques présentant une maladie du greffon contre l'hôte**

Marion Decisier

► **To cite this version:**

Marion Decisier. Effet du posaconazole utilisé en prophylaxie des infections fongiques invasives sur le traitement immunosuppresseur des patients allogreffés de cellules souches hématopoïétiques présentant une maladie du greffon contre l'hôte. Sciences pharmaceutiques. 2011. dumas-00648430

**HAL Id: dumas-00648430**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-00648430v1>**

Submitted on 5 Dec 2011

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

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

Année : 2011

N°

---

---

Effet du posaconazole utilisé en prophylaxie des infections fongiques  
invasives sur le traitement immunosuppresseur des patients  
allogreffés de cellules souches hématopoïétiques présentant une  
maladie du greffon contre l'hôte.

---

---

MEMOIRE DU DIPLOME D'ETUDES SPECIALISEES DE PHARMACIE  
HOSPITALIERE ET DES COLLECTIVITES  
*Conformément aux dispositions de l'arrêté ministériel du 4 octobre 1988 modifié par l'arrêté du 9  
mai 2003, tient lieu de*  
THESE  
PRESENTEE POUR L'OBTENTION DU TITRE DE DOCTEUR EN PHARMACIE  
DIPLOME D'ETAT

Marion DECISIER  
Née le 3 mars 1983 à Annecy

THESE SOUTENUE PUBLIQUEMENT A LA FACULTE DE PHARMACIE DE GRENOBLE  
Le 30 novembre 2011

DEVANT LE JURY COMPOSE DE :

Monsieur le Professeur Christophe RIBUOT, président du jury

Madame le Docteur Julia TONINI, directrice de thèse

Monsieur le Docteur Olivier MATHIEU

Madame le Docteur Chrystelle REY

Madame le Docteur Anne THIEBAUT-BERTRAND

*La Faculté de Pharmacie de Grenoble n'entend donner aucune approbation ni improbation aux opinions  
émises dans les thèses ; ces opinions sont considérées comme propres à leurs auteurs.*

## UFR de Pharmacie de Grenoble

DOMAINE DE LA MERCI  
38706 LA TRONCHE CEDEX – France  
TEL : +33 (0)4 75 63 71 00  
FAX : +33 (0)4 75 63 71 70



Directeur de l'UFR : **M. Pr. Christophe RIBUOT**  
Vice-doyen et Directeur des Etudes : **Mme Delphine ALDEBERT**

Année 2011-2012

### PROFESSEURS A L'UFR DE PHARMACIE (n = 18)

<b>BAKRI</b>	Aziz	Pharmacie Gélénique et Industrielle, Formulation et Procédés Pharmaceutiques (TIMC-IMAG)
<b>BOUMENDJEL</b>	Ahcène	Chimie Organique (D.P.M.)
<b>BURMEISTER</b>	Wim	Biophysique (U.V.H.C.I)
<b>CALOP</b>	Jean	Pharmacie Clinique (TIMC-IMAG, PU-PH)
<b>CORNET</b>	Murielle	Parasitologie – Mycologie Médicale (LAPM, PU-PH)
<b>DANEL</b>	Vincent	Toxicologie (SMUR SAMU / PU-PH)
<b>DECOUT</b>	Jean-Luc	Chimie Inorganique (D.P.M.)
<b>DROUET</b>	Christian	Immunologie Médicale (TIMC-IMAG)
<b>DROUET</b>	Emmanuel	Microbiologie (U.V.H.C.I)
<b>FAURE</b>	Patrice	Biochimie (HP2/PU-PH)
<b>GODIN-RIBUOT</b>	Diane	Physiologie-Pharmacologie (HP2)
<b>GRILLOT</b>	Renée	Parasitologie – Mycologie Médicale (LAPM, PU-PH) (Eméritat)
<b>LENORMAND</b>	Jean Luc	Ingénierie Cellulaire, Biothérapies (THEREX, TIMC, IMAG)
<b>MOSSUZ</b>	Pascal	Hématologie (PU-PH)
<b>PEYRIN</b>	Eric	Chimie Analytique (D.P.M.)
<b>SEVE</b>	Michel	Biochimie – Biotechnologie (IAB, PU-PH)
<b>RIBUOT</b>	Christophe	Physiologie – Pharmacologie (HP2)
<b>WOUESSIDJEWE</b>	Denis	Pharmacotechnie (D.P.M.)

### PROFESSEURS ASSOCIES (PAST) (n=3)

<b>BELLETT</b>	Béatrice	Pharmacie Clinique
<b>RIEU</b>	Isabelle	Qualitologie (Praticien Attaché – CHU)
<b>TROUILLER</b>	Patrice	Santé Publique (Praticien Hospitalier – CHU)

ATER : Attachés Temporaires d'Enseignement et de Recherches  
CHU : Centre Hospitalier Universitaire  
CIB : Centre d'Innovation en Biologie  
DPM : Département de Pharmacochimie Moléculaire  
HP2 : Hypoxie Physiopathologie Respiratoire et Cardiovasculaire  
IAB : Institut Albert Bonniot, Centre de Recherche « Oncogenèse et Ontogénèse »  
IBS : Institut de Biologie Structurale  
JR : Jean Roget  
LAPM : Laboratoire Adaptation et Pathogénèse des Microorganismes  
LBF A : Laboratoire Bioénergétique Fondamentale et Appliquée

Dernière mise à jour : 05/09/11

Rédacteur : L.FAURE, Secrétaire du Directeur

DOMAINE DE LA MERCI – 38706 LA TRONCHE CEDEX – France - TEL : +33 (0)4 75 63 71 00 – FAX : +33 (0)4 75 63 71 70

Directeur de l'UFR : **M. Pr. Christophe RIBUOT**

Vice-doyen et Directeur des Etudes : **Mme Delphine ALDEBERT**

Année 2011-2012

## MAITRE DE CONFERENCES DE PHARMACIE (n = 35)

<b>ALDEBERT</b>	Delphine	Parasitologie-Mycologie (L.A.P.M)
<b>ALLENET</b>	Benoît	Pharmacie Clinique (ThEMAS TIMC-IMAG / MCU-PH)
<b>BATANDIER</b>	Cécile	Nutrition et Physiologie (L.B.F.A)
<b>BOURGOIN</b>	Sandrine	Biochimie – Biotechnologie (IAB)
<b>BRETON</b>	Jean	Biologie Moléculaire / Biochimie (L.C.I.B – LAN)
<b>BRIANCON-MARJOLLET</b>	Anne	Physiologie Pharmacologie (HP2)
<b>BUDAYOVA SPANO</b>	Monika	Biophysique (I.B.S)
<b>CAVAILLES</b>	Pierre	Biologie Cellulaire et génétique (L.A.P.M)
<b>CHOISNARD</b>	Luc	Pharmacotechnie (D.P.M)
<b>DELETRAZ-DELPORTE</b>	Martine	Droit Pharmaceutique
<b>DEMEILLIERS</b>	Christine	Biochimie (L.B.F.A)
<b>DURMORT-MEUNIER</b>	Claire	Biotechnologies (I.B.S)
<b>GEZE</b>	Annabelle	Pharmacotechnie (D.P.M)
<b>GERMI</b>	Raphaëlle	Microbiologie (U.V.H.C.I / MCU-PH)
<b>GILLY</b>	Catherine	Chimie Thérapeutique (D.P.M)
<b>GROSSET</b>	Catherine	Chimie Analytique (D.P.M)
<b>GUIEU</b>	Valérie	Chimie Analytique (D.P.M)
<b>HININGER-FAVIER</b>	Isabelle	Biochimie (L.B.F.A)
<b>JOYEUX-FAURE</b>	Marie	Physiologie - Pharmacologie (HP2)
<b>KHALEF</b>	Nawel	Pharmacie Galénique (TIMC-IMAG)
<b>KRIVOBOK</b>	Serge	Biologie Végétale et Botanique (L.C.B.M)
<b>MOUHAMADOU</b>	Bello	Cryptogamie, Mycologie Générale (L.E.C.A)
<b>MORAND</b>	Jean-Marc	Chimie Thérapeutique (D.P.M)
<b>MELO DE LIMA</b>	Christelle	Biostatistiques (L.E.C.A)
<b>NICOLLE</b>	Edwige	Chimie Thérapeutique (D.P.M)
<b>PERES</b>	Basile	Pharmacognosie (D.P.M)
<b>PEUCHMAUR</b>	Marine	Chimie Organique (D.P.M.)
<b>PINEL</b>	Claudine	Parasitologie - Mycologie Médicale (GIN / MCU-PH)
<b>RACHIDI</b>	Walid	Biochimie (L.C.I.B)
<b>RAVEL</b>	Anne	Chimie Analytique (D.P.M)
<b>RAVELET</b>	Corinne	Chimie Analytique (D.P.M)
<b>SOUARD</b>	Florence	Pharmacognosie (D.P.M)
<b>TARBOURIECH</b>	Nicolas	Biophysique (U.V.H.C.I.)
<b>VANHAVERBEKE</b>	Cécile	Chimie Organique (D.P.M.)
<b>VILLET</b>	Annick	Chimie Analytique (VP Form Adjoint UJF, D.P.M.)

## UFR de Pharmacie de Grenoble

DOMAINE DE LA MERCI  
38706 LA TRONCHE CEDEX – France  
TEL : +33 (0)4 75 63 71 00  
FAX : +33 (0)4 75 63 71 70



### ASSISTANTS HOSPITALO-UNIVERSITAIRES (AHU) (n=2)

<b>BUSSER</b>	Benoît	Biochimie (IAB, AHU-Biochimie)
<b>VAN NOOLEN</b>	Laëtitia	Biochimie (HP2, AHU-Biochimie, à partir du 1 <sup>er</sup> novembre)

### ENSEIGNANTS ANGLAIS (n=3)

<b>FITE</b>	Andrée	Professeur Certifié
<b>GOUBIER</b>	Laurence	professeur Certifié

### ATER (n= 6)

<b>BIROS Camille</b>	ATER	Anglais Master ISM (JR)
<b>DEFENDI Frédérica</b>	ATER	Immunologie Médicale (GREPI-TIMC)
<b>EL BAKKALI Abdellatif</b>	ATER	Pharmacie Galénique (Therex/TIMC, La serve)
<b>HENRI Marion</b>	ATER	Physiologie (HP2,LER)
<b>NGO TOM Esther</b>	½ ATER	Pharmacologie (HP2,LER)
<b>REGENT Myriam</b>	½ ATER	Biochimie Biotechnologie (IAB)

### MONITEUR ET DOCTORANTS CONTRACTUELS (n=8)

<b>BOUCHET</b>	Audrey	(01-10-2009 au 30-09-2012)	Biotechnologie (GIN, ESRF)
<b>CAVAREC</b>	Fanny	(01-10-2011 au 30-09-2014)	Laboratoire HP2 (JR)
<b>FAVIER</b>	Mathieu	(01-10-2009 au 30-09-2012)	Laboratoire HP2 (JR)
<b>GRAS</b>	Emmanuelle	(01-10-2010 au 30-09-2013)	Laboratoire HP2 (JR)
<b>HAUDECOEUR</b>	Romain	(01-10-2008 au 30-09-2011)	Chimie Thérapeutique (DPM)
<b>LESART</b>	Anne-Cécile	(01-10-2009 au 30-09-2013)	Informatique C2i
<b>POULAIN</b>	Laureline	(01-10-2009 au 30-09-2012)	Laboratoire HP2 (JR)
<b>THOMAS</b>	Amandine	(01-10-2011 au 30-09-2014)	Laboratoire HP2 (JR)

**ATER** : Attachés Temporaires d'Enseignement et de Recherches  
**CHU** : Centre Hospitalier Universitaire  
**CIB** : Centre d'Innovation en Biologie  
**DPM** : Département de Pharmacochimie Moléculaire  
**HP2** : Hypoxie Physiopathologie Respiratoire et Cardiovasculaire  
**IAB** : Institut Albert Bonniot, Centre de Recherche « Oncogenèse et Ontogenèse »  
**IBS** : Institut de Biologie Structurale  
**JR** : Jean Roget  
**LAPM** : Laboratoire Adaptation et Pathogenèse des Microorganismes  
**LBFA** : Laboratoire Bioénergétique Fondamentale et Appliquée  
**LCBM** : Laboratoire Chimie et Biologie des Métaux  
**LCIB** : Laboratoire de Chimie Inorganique et Biologie  
**LECA** : Laboratoire d'Ecologie Alpine  
**LR** : Laboratoire des Radio pharmaceutiques  
**PAST** : Professeur Associé à Temps Partiel  
**PRAG** : Professeur Agrégé  
**TIMC-IMAG** : Laboratoire Technique de l'Imagerie, de la Modélisation et de Cognition  
**UVHCI** : Unit of Virus Host Cell Interactions

Dernière mise à jour : 08/09/201108/09/2011

Rédacteur : L.FAURE; Secrétaire du Doyen

DOMAINE DE LA MERCI – 38706 LA TRONCHE CEDEX – France - TEL : +33 (0)4 75 63 71 00 – FAX : +33 (0)4 75 63 71 70

## **Remerciements**

*Je tiens tout d'abord à remercier les membres du jury*

Au **Professeur Christophe RIBUOT**, qui m'a fait découvrir et aimer la pharmacologie au cours de mes études. Je vous remercie de me faire l'honneur de présider ce jury.

Au **Docteur Julia TONINI**, ma directrice de thèse. Merci pour son encadrement et sa disponibilité tout au long de ce travail, et surtout pour tout le temps passé sur ce projet. Ce fut une chance pour moi de travailler ensemble.

Au **Docteur Olivier MATHIEU**. Je vous suis très reconnaissante d'avoir accepté de juger ce travail.

Au **Docteur Chrystelle REY**, pour tout ce qu'elle m'a appris au cours de mes stages en onco-hématologie, pour sa disponibilité et sa sympathie, et avec qui ce fut un plaisir de travailler.

Au **Docteur Anne THIEBAUT-BERTRAND**, pour ces deux semestres passés en soins intensifs d'hématologie au cours desquels j'ai beaucoup appris, mais aussi pour m'avoir proposé ce sujet de thèse. Merci pour son regard de clinicienne sur ce travail, et pour avoir accepté de prendre part à ce jury.

A **mes parents** qui m'ont permis de faire les études que j'ai choisies et m'ont toujours encouragée.

A mes sœurs, **Sophie et Virginie**, que je suis ravie de retrouver très prochainement sur Lyon...

A mes cocos : **Arthur, Babou, Cléclé et Nathan** !

A **tous mes amis rencontrés sur les bancs de la fac** avec qui j'ai passé des années fort sympathiques, j'espère avoir l'occasion de vous voir plus souvent à l'avenir.

A **tous les internes** que j'ai rencontrés au cours de ces 4 années, que ce soit à Toulouse ou à Grenoble, et qui ont permis de faire de mon internat une succession de bons souvenirs.

Spéciale dédicace à Prue Prue pour le coaching et le footing ! (et la musique zen...)

Claclaou, merci d'avoir vécu les derniers moments de la thèse avec moi !

A tous mes amis extérieurs à la pharmacie (**Mélan, Chacha, Alex, Vir,...**) pour m'avoir soutenue au cours de cette année et pour tous ces bons moments sans parler boulot !

A **toute l'équipe d'hématologie** (médecins, internes, cadre, infirmier(e)s,...), pour leur accueil au cours de ces deux semestres très enrichissants.

A **toute l'équipe de la mut** qui m'a supportée au cours de mes derniers mois en tant qu'interne ! Merci pour l'ambiance de travail plus qu'agréable (j'en avais bien besoin !).

# Table des matières

INDEX DES FIGURES .....	9
INDEX DES TABLEAUX.....	10
LISTE DES ABREVIATIONS.....	<b>11</b>
<b>INTRODUCTION .....</b>	<b>12</b>
I. L'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques .....	13
II. La maladie du greffon contre l'hôte (GVHD).....	14
1) <i>Définition</i> .....	14
2) <i>Prévention de la GVHD</i> .....	16
3) <i>Traitement de la GVHD</i> .....	16
III. Les différents immunosuppresseurs utilisés dans l'allogreffe de CSH .....	18
1) <i>La ciclosporine (Néoral®, Sandimmun®)</i> .....	18
2) <i>Le tacrolimus (Prograf®)</i> .....	19
3) <i>L'évérolimus (Certican®)</i> .....	20
4) <i>Mycophénolate mofétil (Cellcept®)/ Acide mycophénolique (Myfortic®)</i> .....	21
IV. La prophylaxie antifongique chez le patient allogreffé de CSH .....	22
V. Le posaconazole (Noxafil®) .....	23
1) <i>Mécanisme d'action</i> .....	23
2) <i>Indications</i> .....	23
3) <i>Pharmacocinétique</i> .....	24
4) <i>Suivi thérapeutique</i> .....	25
VI. Interactions posaconazole/immunosuppresseurs .....	26
<b>TRAVAIL PERSONNEL.....</b>	<b>29</b>
I. Justification de l'étude .....	30
II. Matériel et méthode .....	32
1) <i>Patients</i> .....	32
2) <i>Consignes de prise des différents traitements</i> .....	32
3) <i>Design de l'étude et recueil de données</i> .....	33
4) <i>Détermination des concentrations résiduelles de PCZ et d'IS</i> .....	34
5) <i>Analyse statistique</i> .....	36



III. Résultats .....	38
1) <i>Patients</i> .....	38
2) <i>Données pour chaque IS</i> .....	42
3) <i>Relation entre les concentrations plasmatiques de traitement et l'état clinique</i> .....	58
IV. Discussion .....	59
1) <i>Patients</i> .....	59
2) <i>Analyses des données pour chaque IS</i> .....	60
4) <i>Relation entre les concentrations plasmatiques de traitement et l'état clinique</i> .....	64
V. Conclusion et perspectives .....	67
<b>CONCLUSION</b> .....	69
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....	72

## **Index des figures**

<b>Figure 1</b> : Répartition des pathologies hématologiques .....	38
<b>Figure 2</b> : Evolution des $C_{min}$ , posologie et du rapport $C_{min}/Posologie$ d'évérolimus avant l'instauration du PCZ, en aigu (jusqu'à J21) et en chronique (après J21) après l'instauration du PCZ. ....	44
<b>Figure 3</b> : Evolution individuelle de la $C_{min}$ d'IS chez les patients du groupe évérolimus.	45
<b>Figure 4</b> : Evolution de la $C_{min}$ (A), de la dose (B) et du rapport $C_{min}/D$ (C) d'évérolimus au cours du temps après instauration du PCZ .....	46
<b>Figure 5</b> : Evolution des $C_{min}$ , posologie et du rapport $C_{min}/Posologie$ de ciclosporine avant l'instauration du PCZ, en aigu et en chronique après l'instauration du PCZ. ....	47
<b>Figure 6</b> : Evolution individuelle de la $C_{min}$ d'IS chez les patients du groupe ciclosporine en fonction de l'ATF avant la mise sous PCZ .....	49
<b>Figure 7</b> : Evolution de la $C_{min}$ (A), de la dose (B) et du rapport $C_{min}/D$ (C) de la ciclosporine au cours du temps après instauration du PCZ. ....	51
<b>Figure 8</b> : Evolution de la $C_{min}$ (A), de la dose (B) et du rapport $C_{min}/D$ (C) de la ciclosporine au cours du temps après instauration du PCZ, en fonction de l'ATF antérieur à la mise sous PCZ. ....	53
<b>Figure 9</b> : Evolution de la $C_{min}$ (A), de la dose (B) et du rapport $C_{min}/D$ (C) de la ciclosporine au cours du temps après instauration du PCZ, en fonction de l'association du MPA à la ciclosporine. ....	55
<b>Figure 10</b> : Evolution de la $C_{min}$ (A), de la dose (B) et du rapport $C_{min}/D$ (C) de la ciclosporine au cours du temps après instauration du PCZ, en fonction de la modification de posologie d'IS. ....	57

## **Index des tableaux**

<b>Tableau 1</b> : Classification de la GVHD aiguë .....	15
<b>Tableau 2</b> : Caractéristiques des patients en fonction de l'ATF utilisé avant le PCZ .....	40
<b>Tableau 3</b> : Caractéristiques des patients dans les groupes ciclosporine et évérolimus..	42

## **Liste des abréviations**

AMM : Autorisation de Mise sur le Marché  
ATF : Antifongique  
AUC : Aire sous la Courbe  
CHU : Centre Hospitalier Universitaire  
 $C_{\min}$  : Concentration résiduelle  
CSH : Cellules Souches Hématopoïétiques  
CSP : Cellules Souches Périphériques  
CYP450 : Cytochrome P450  
D : Dose  
FDA : Food and Drugs Administration  
FLC : Fluconazole  
 $\gamma$ GT : gamma Glutamyl Transférase  
GVHD : Maladie du greffon contre l'hôte  
IFI : Infection Fongique Invasive  
IFN $\gamma$  : Interféron gamma  
IL2 : Interleukine 2  
IM : Intéraction Médicamenteuse  
IMC : Indice de Masse Corporelle  
IS : Immunosuppresseur  
LAL : Leucémie Aiguë Lymphoblastique  
LAM : Leucémie Aiguë Myéloblastique  
LLC : Leucémie Lymphoïde Chronique  
LNH : Lymphome Non Hodgkinien  
MO : Moelle Osseuse  
MMF : Mycophénolate Mofétil  
MPA : Acide Mycophénolique  
MTX : Méthotrexate  
PCE : Photochimiothérapie Extra-Corporelle  
PCZ : Posaconazole  
P-gp : glycoprotéine P  
STP : Suivi Thérapeutique Pharmacologique  
USP : Unité de Sang Placentaire  
VRC : Voriconazole

# **INTRODUCTION**

## **I. L'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques**

L'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques (CSH) est une technique de thérapie cellulaire pour laquelle des CSH d'un donneur vont être injectées à un patient receveur.

Elle est utilisée pour traiter différentes pathologies hématologique : les hémopathies malignes principalement (LAM, LAL, lymphomes, LLC, myélome, ...), certains déficits immunitaires congénitaux, l'aplasie médullaire, etc. L'intérêt de l'allogreffe est l'action immunologique du greffon contre la maladie. En effet, cette action peut avoir une action curative sur cette pathologie.

Les CSH peuvent avoir différentes origines : la moelle osseuse (MO), les cellules souches périphériques (CSP), le sang de cordon (unité de sang placentaire = USP).

S'il existe un donneur compatible (typage HLA) dans la fratrie, cette solution sera privilégiée (greffe génoïdétique). Si aucun frère ou sœur n'est compatible, une recherche de donneur non apparenté est alors effectuée sur le fichier international de donneurs (greffe phénoïdétique). Si aucun donneur n'est identifié, on se tourne alors vers la banque de sang de cordon.

Avant la greffe, le patient reçoit un protocole de chimiothérapie à doses élevées, associée ou non à de la radiothérapie (irradiation corporelle totale). Ce protocole est appelé conditionnement. Il en existe 2 types : myéloablatif ou non.

- Le conditionnement myéloablatif a trois objectifs : éradiquer les cellules malignes résiduelles, détruire la MO afin de faciliter la prise du greffon, et obtenir une immunosuppression afin d'éviter le rejet du greffon. La greffe de CSH va alors permettre la sortie d'aplasie. Le greffon va également jouer un rôle dans la destruction des cellules tumorales, par une action immunologique. Ce type de

conditionnement étant associé à un taux de survenue de complications important, il est réservé aux patients jeunes et présentant un bon état général.

- Le conditionnement à intensité réduite (ou conditionnement non myéloablatif) a été développé afin de pouvoir proposer l'allogreffe à un plus grand nombre de patients, sa toxicité étant plus faible. On compte ici surtout sur l'effet immunologique du greffon pour détruire les cellules malignes. Le conditionnement a alors principalement pour objectif d'obtenir une immunosuppression suffisante pour obtenir une prise de la greffe.

## **II. La maladie du greffon contre l'hôte (GVHD)**

### 1) Définition

Le greffon possède un effet immunologique sur les cellules malignes, cependant cet effet n'est pas spécifique. Le système immunitaire du donneur va également avoir une action contre les cellules saines du receveur, ce qui peut entraîner un certain nombre de complications. Ces manifestations constituent la maladie du greffon contre l'hôte (Graft Versus Host Disease = GVHD).

On distingue 2 types de GVHD selon la chronologie de son apparition.

- La GVHD aiguë, qui survient généralement dans les 90 premiers jours après l'allogreffe. Elle se manifeste principalement au niveau cutané, digestif et hépatique. Elle est cotée en grade I à IV en fonction des signes cliniques (Tableau I).
- La GVHD chronique survient après le 90<sup>ème</sup> jour post-allogreffe. Elle peut présenter de nombreuses formes cliniques selon l'organe atteint. On retrouve notamment des

atteintes de la peau, du tube digestif, des muqueuses, du foie, des poumons. Elle est classée en GVHD limitée ou extensive selon l'importance des signes cliniques.

**Tableau 1** : Classification de la GVHD aiguë

**GVHD aiguë : stades cliniques**

Stade	Peau Eruption maculopapuleuse	Intestin Diarrhées	Foie Bilirubine	
			µmol/L	mg/L
1	<25% SC	>500mL/j	34-50	20-30
2	25-50% SC	>1L/j	41-102	31-60
3	>50% SC	>1.5L/j	103-255	61-150
4	Bulles - Desquamation	>1.5L/j + douleurs abdominales ± iléus	>255	>150

SC : Surface corporelle

**GVHD aiguë : grades (classification de Glucksberg)**

Grade	Stades cliniques		
	Peau	Intestin	Foie
I	1-2	0	0
II	0-3	1	0-1
	0-3	0-1	1
	3	0	0
III	0-3	2-3	0-3
	0-3	0-3	2-4
IV	0-3	4	0-4
	4	0-4	0-4



## 2) Prévention de la GVHD

Afin de prévenir l'apparition de cette GVHD, un traitement immunosuppresseur (IS) est mis en place systématiquement. Les protocoles utilisés dans le service d'hématologie du CHU de Grenoble sont les suivants.

- Lors d'une greffe après un conditionnement myéloablatif, la prévention de la GVHD se fait en première intention par : ciclosporine par voie intraveineuse (IV) 3mg/kg/j débutée à J-3 de la greffe, associée au méthotrexate (MTX) 15mg/m<sup>2</sup> à J1 puis 10mg/m<sup>2</sup> à J3, J6 de la greffe. Dès que cela est possible, la ciclosporine est administrée *per os* (PO) (Néoral®), la dose journalière prescrite est le double de la dose IV)(1).
- Pour un conditionnement non myéloablatif, c'est l'association ciclosporine PO (Néoral®) 2.25 mg/kg x 2/j débutée à J-3 de la greffe et acide mycophénolique (MPA) (Myfortic®) 720 mg x 3/j débuté à J-1 de la greffe qui est utilisée.

La ciclosporine est administrée pendant au moins 6 mois. La posologie du MPA sera diminuée à partir de J28 en cas de greffe génoïdente, et à partir de J56 pour une greffe phénoïdente.

Dans tous les cas, l'arrêt de l'immunosuppression sera adapté à la présence éventuelle d'une GVHD ou d'une rechute.

## 3) Traitement de la GVHD

### a. GVHD aiguë

La GVHD aiguë est traitée en 1<sup>ère</sup> intention par des corticoïdes, administrés en plus du traitement immunosuppresseur prophylactique : une dose d'attaque de 2mg/kg/j et maintenue pendant 7 à 10 jours, puis une décroissance progressive sur 8 à 10 semaines

est réalisée. En revanche, il n'y a pas de recommandation pour sa prise en charge en cas de corticorésistance (absence d'amélioration après 5 jours de corticoïdes à forte dose) ou de corticodépendance (réapparition des signes de GVHD lors de la décroissance des corticoïdes). Différentes thérapeutiques immunosuppressives peuvent être utilisées : la ciclosporine, le MPA, l'évérolimus, le tacrolimus. La photochimiothérapie extra-corporelle (PCE), le budésonide à libération entérale (Entocort®), l'alemtuzumab et les anti-TNF $\alpha$  peuvent également être utilisés.

*b. GVHD chronique*

Le traitement standard de la GVHD chronique est l'association de prednisone (1mg/kg/j) et de ciclosporine (2). Selon *Koc et al.* (3), l'association de ciclosporine à la prednisone ne diminuerait pas la mortalité comparée à l'utilisation de la prednisone seule, elle permettrait cependant de diminuer les effets indésirables liés à la corticothérapie au long cours. En cas d'échec du traitement à base de corticoïdes, il n'y a pas de traitement type en deuxième ligne. Différentes molécules ont été testées, mais sur des petites cohortes de patients, et les critères de réponse sont variables selon les essais. Parmi les médicaments utilisables, on retrouve des IS (MPA, sirolimus, évérolimus, tacrolimus), la PCE, le rituximab, les anti-TNF $\alpha$ , la thalidomide ....

### **III. Les différents immunosuppresseurs utilisés dans l'allogreffe de CSH**

#### 1) Modes d'action pharmacologique

Les anti-calcineurines, ciclosporine A et tacrolimus, sont des inhibiteurs de la calcineurine, protéine phosphatase qui dans des circonstances normales active la transcription du gène de l'interleukine 2 et la synthèse d'anticorps.

L'évérolimus est un inhibiteur de la protéine mTOR responsable de la réponse à l'interleukine 2 des lymphocytes B et de la synthèse d'anticorps.

Le MPA agit comme inhibiteur de l'inosine monophosphate, enzyme impliquée dans la synthèse et la prolifération des lymphocytes B et T.

#### 2) La ciclosporine A (Néoral®, Sandimmun®)

##### *a. Mécanisme d'action*

La ciclosporine est l'immunosuppresseur de référence dans l'allogreffe de CSH (le seul à avoir l'AMM dans cette indication, que ce soit en préventif ou en curatif de la GVHD). Il s'agit d'un polypeptide cyclique qui peut se fixer à des protéines intracytoplasmiques (les cyclophilines). Le complexe formé va inhiber l'action de la calcineurine, enzyme nécessaire à la production de cytokines (IL-2, IFN $\gamma$ ) impliquées dans la réponse immunitaire à médiation cellulaire. L'action de la ciclosporine concerne principalement les lymphocytes T, par une inhibition de leur activation.

##### *b. Pharmacocinétique*

L'absorption de la ciclosporine est très variable d'un individu à un autre. Cette absorption est influencée par la prise concomitante de nourriture (diminution de l'absorption lors

d'une prise au cours d'un repas). La formulation du Néoral®, une microémulsion, a permis de diminuer la variabilité d'absorption interindividuelle (absorption non dépendante des sels biliaires) et d'augmenter la biodisponibilité de la ciclosporine par rapport à la forme galénique disponible précédemment (Sandimmun®). Elle est d'environ 40% en moyenne. L'élimination est essentiellement biliaire, seulement 6% sont éliminés dans les urines.

### *c. Suivi thérapeutique*

La ciclosporine est un médicament à marge thérapeutique étroite, nécessitant un STP. En effet, son efficacité et sa toxicité sont corrélées à sa concentration plasmatique. C'est la  $C_{\min}$  qui va être mesurée lors d'une prise PO. Lorsque la ciclosporine est administrée en IV continue, on mesurera la concentration à l'équilibre.

Cette concentration devra se situer entre 150 et 300 µg/mL.

La posologie de ciclosporine sera donc adaptée en fonction du résultat de ces dosages, mais aussi selon l'apparition d'effets indésirables qui peuvent nécessiter une diminution de la dose administrée (notamment en cas d'augmentation de la créatinine ou d'apparition d'une hypertension).

## 3) Le tacrolimus (Prograf®)

### *a. Mécanisme d'action*

Le tacrolimus est un macrolide dont le mode d'action est similaire à celui de la ciclosporine. Il se fixe aux protéines FKBP intracytoplasmiques pour former un complexe qui va inhiber la calcineurine.

### *b. Pharmacocinétique*

Sa biodisponibilité est de l'ordre de 20 à 25%. Comme pour la ciclosporine, l'absorption est diminuée lors de la prise concomitante de nourriture (notamment lors d'un repas riche en graisse). Il est fortement lié aux protéines plasmatiques (>98%). Son élimination se fait principalement dans les fécès (seulement 2% sont retrouvés dans les urines).

### *c. Suivi thérapeutique*

Le suivi thérapeutique se fait par le dosage de la  $C_{\min}$  lors de la prise de Prograf® PO, et par le dosage de la concentration à l'équilibre pour l'utilisation en IV continue. La concentration visée est de 5 à 20 ng/mL.

La posologie sera adaptée en fonction du dosage et de l'apparition d'éventuels effets indésirables (augmentation de la créatinine, hypertension...).

## 4) L'évérolimus (Certican®)

### *a. Mécanisme d'action*

L'évérolimus est un inhibiteur de m-TOR, protéine régulatrice qui contrôle le métabolisme, la croissance et la prolifération cellulaire. On observe une inhibition de la prolifération des lymphocytes T activés par un antigène. L'action des facteurs de croissance sur les cellules T est inhibée.

### *b. Pharmacocinétique*

L'absorption de l'évérolimus est diminuée par la prise concomitante de nourriture.

Il est principalement éliminé dans les fécès, seuls 5% sont retrouvés dans les urines.

*c. Suivi thérapeutique*

La corrélation  $C_{\min}$ /efficacité est bonne dans le cas de l'évérolimus. De plus, il existe une grande variabilité interindividuelle de sa pharmacocinétique. Le STP est donc nécessaire et se fait par le dosage de la  $C_{\min}$ . Celle-ci doit être comprise 3 et 8 ng/mL.

L'état d'équilibre est atteint en 4 jours de traitement.

5) Mycophénolate mofétil (Cellcept®)/ Acide mycophénolique (Myfortic®)

*a. Mécanisme d'action*

L'acide mycophénolique (MPA) est le métabolite actif du mycophénolate mofétil (MMF).

Le MPA est un inhibiteur de l'inosine monophosphate déshydrogénase, enzyme impliquée dans la synthèse de novo des nucléotides à base de guanine. La prolifération des lymphocytes B et T, qui dépend de cette synthèse, va ainsi être inhibée.

*b. Pharmacocinétique*

Son absorption n'est pas influencée par la prise de nourriture.

Il est principalement excrété par voie urinaire sous forme d'un métabolite inactif.

*c. Suivi thérapeutique*

En ce qui concerne le MPA, les concentrations cibles restent à établir. On considère actuellement que  $C_{\min}$  doit se situer aux alentours de 1mg/mL.

De plus, l'aire sous la courbe (AUC) serait mieux corrélée à l'efficacité (paramètre le plus prédictif de la survenue de GVHD) et moins variable que la  $C_{\min}$ .

Au vu des données actuelles, le STP du MPA serait utile. Cependant, les modalités pratiques de ce STP restent à définir (4).

#### **IV. La prophylaxie antifongique chez le patient allogreffé de CSH**

Les patients qui reçoivent une allogreffe de CSH sont particulièrement à risque de développer une infection fongique invasive (IFI). La réalisation de la greffe en elle-même implique une période d'aplasie prolongée (de 3-4 semaines, voire plus lors d'une greffe d'USP), au cours de laquelle le risque infectieux est important, et nécessite une hospitalisation en chambre à flux laminaire. De plus, une fois sortis d'aplasie, les patients ont un système immunitaire encore fragile (sa reconstitution est lente) et ont un traitement immunosuppresseur qui affaiblit encore les défenses.

Les IFI surviennent chez environ 15% des patients allogreffés de CSH (5) et sont associées à un taux de mortalité important (en Europe : 28 à 59% pour les candidoses invasives, 38 à 80% pour les aspergilloses invasives) (6).

Chez les patients présentant une GVHD chronique, le taux d'incidence des IFI passe à 39% (5).

Devant la morbidité des IFIs et leur délai de diagnostic souvent tardif, la prévention de leur survenue est nécessaire. Des recommandations ont été établies par l'ECIL (European Conference on Infections in Leukemia) (7) (8).

En prophylaxie primaire, l'utilisation du fluconazole (400mg/j) est recommandée. Le voriconazole pourrait également être utilisé dans cette indication.

La prophylaxie secondaire chez les patients ayant précédemment développé une IFI est également recommandée. L'antifongique sera alors choisi en fonction de l'agent fongique identifié et de la réponse aux traitements précédents.

Au CHU de Grenoble, c'est le fluconazole qui est utilisé en prophylaxie primaire et le voriconazole en prophylaxie secondaire.

Chez les patients sous traitement immunosuppresseur pour une GVHD, il est recommandé d'utiliser le posaconazole (PCZ) à une posologie initiale de 200 mg x 3/j, qui pourra être adaptée (200 mg x 4/J) en fonction du suivi thérapeutique pharmacologique (STP).(9)(8)

## **V. Le posaconazole (Noxafil®)**

### 1) Mécanisme d'action

Le posaconazole (PCZ) est un antifongique de la famille des triazolés, à laquelle appartiennent également le fluconazole, le voriconazole et l'itraconazole.

Il agit par inhibition de la 14 $\alpha$ -déméthylase, enzyme impliquée dans la synthèse de l'ergostérol. Ce composant est indispensable à la constitution de la membrane fongique, l'inhibition de sa synthèse va donc entraîner une altération de la réplication du champignon.

Le PCZ possède un spectre d'activité large. En effet, il est actif sur les levures, les champignons filamenteux, les Zygomycètes.

### 2) Indications

Le Noxafil® à l'AMM chez l'adulte dans les indications suivantes :

- Traitement de l'aspergillose invasive, de la fusariose, des chromoblastomycoses, et des coccidioïdomycoses chez les patients réfractaires à l'amphotéricine B ou à l'itraconazole ou chez les patients intolérants à ces médicaments.



- Traitement de la candidose oropharyngée en première intention chez les patients avec une pathologie sévère ou chez les patients immunodéprimés chez qui une réponse faible à un traitement local est attendue.
- Prophylaxie des infections fongiques invasives (IFI) chez les patients recevant une chimiothérapie d'induction et de consolidation pour une leucémie myéloïde aiguë (LAM) ou un syndrome myélodysplasique (SMD).

Depuis 2007, le Noxafil® a l'indication dans la prophylaxie des IFI chez le receveur de greffe de CSH sous traitement immunosuppresseur à haute dose pour la maladie du greffon contre l'hôte et qui sont à haut risque de développer des IFI. Selon l'étude de Ullmann *et al.* (9), bien qu'il n'y ait pas de différence significative sur la survie globale entre le groupe traité par posaconazole et celui traité par fluconazole, l'incidence des décès liés aux IFI est significativement plus faible pour le PCZ. Les infections à *Aspergillus sp.* sont moins fréquentes dans le groupe PCZ, or ce sont ces infections que l'on retrouve le plus fréquemment chez les patients d'hématologie et qui sont responsables d'une grande morbidité.

### 3) Pharmacocinétique

L'absorption du PCZ est saturable, et l'exposition n'augmente plus avec la dose au-delà d'une dose de 400 mg/prise ou de 800 mg/j. Le fractionnement des doses en plusieurs prises quotidiennes permet donc d'augmenter l'absorption du PCZ, c'est pourquoi il est préconisé d'administrer 200mg x 3/j en prophylaxie des IFI (10)(11)(12).

Le pH joue un rôle important dans l'absorption, ainsi, plus le pH gastrique est bas, plus l'absorption est importante. La prise d'inhibiteurs de la pompe à protons (IPP) a donc

pour conséquence de diminuer l'exposition au posaconazole. Au contraire, un pH acide favorise cette absorption (12).

Il a également été démontré que la prise de Noxafil® au cours d'un repas riche en graisse augmente son absorption du fait de sa liposolubilité. Il est donc recommandé de le prendre au cours d'un repas ou avec un complément alimentaire.(12)

Les épisodes diarrhéiques seraient associés à de plus faibles concentrations plasmatiques de PCZ (11) (13), très certainement par une diminution d'absorption liée à un temps de contact réduit avec la muqueuse digestive lors des diarrhées. La présence d'une mucite diminuerait également cette absorption (11).

Le PCZ présente une large distribution, y compris dans les cellules alvéolaires pulmonaires. Cependant sa diffusion dans le système nerveux central est faible.

Il est éliminé principalement sous forme inchangée dans les fécès. Une plus faible partie est éliminée sous forme inactive dans les urines.

Comme tous les antifongiques triazolés, le PCZ a une action inhibitrice sur le CYP450 (de par son mode d'action). La particularité du PCZ est qu'il inhibe uniquement le CYP450 3A4. Il n'a aucun impact sur les 1A2, 2A6, 2C9, 2C19 et 2D6 (14).

#### 4) Suivi thérapeutique

Le STP du PCZ se justifie par l'existence d'une relation concentration plasmatique – efficacité de cet antifongique. Cette relation a bien été démontrée lors du traitement curatif des IFI (15). En revanche, elle reste peu documentée lors d'une administration prophylactique (16).

La valeur cible de sa  $C_{min}$  n'est pas encore clairement définie notamment dans le cas du traitement préventif. Selon la FDA (Food and Drug Administration), le maintien de la  $C_{min}$  au-

delà de 0.7 mg/L permettrait une prévention efficace des IFI. On peut, en effet, retrouver dans la littérature que chez les patients sous PCZ en prophylaxie un taux d'incidence d'IFI plus important est observé lorsque la concentration sanguine inférieure est à 0.7 mg/L.(17) Certains auteurs suggèrent que la concentration seuil de 0.5 mg/L (basée sur la concentration minimale inhibitrice (CMI<sub>90</sub> moyenne de *Candida* sp et *Aspergillus* sp) serait suffisante.(16)

De plus, la relation concentration/toxicité du PCZ n'a pu être établie, du fait de sa bonne tolérance et de la difficulté à atteindre des C<sub>min</sub> de PCZ élevées (absorption saturable).

En pratique, on considère que la concentration sanguine doit être supérieure à 0.7 mg/L (il s'agit du seuil également préconisé en curatif).

Du fait de sa longue demi-vie (35h), l'état d'équilibre des concentrations plasmatiques en PCZ n'est atteint qu'après 7 à 10 jours de traitement.

## **VI. Interactions posaconazole/immunosuppresseurs**

La 14 $\alpha$ -déméthylase, enzyme inhibée par les antifongiques triazolés, fait partie de la famille des CYP450. Ceci explique leur potentiel d'interactions avec les médicaments métabolisés par ce cytochrome.

Le PCZ inhibe uniquement le CYP450 3A4. Il a donc un potentiel d'IM plus faible que les autres azolés qui inhibent plus de sous-type d'enzymes différents. En effet, le FLC est un inhibiteur puissant du 2C9, 2C19 et 3A4. Le VRC est lui un inhibiteur puissant du 2B6, 2C9, 2C19 et 3A4.

Le PCZ inhibe également la P-gp, protéine d'efflux qui a pour rôle de protéger l'organisme en limitant l'entrée de molécules exogènes au niveau digestif notamment (18).

Les patients allogreffés de CSH sont particulièrement à risque d'interactions médicamenteuses (IM) car ils ont un traitement médicamenteux conséquent, comprenant notamment des IS qui possèdent une marge thérapeutique étroite.

La ciclosporine, le tacrolimus et l'évérolimus sont tous métabolisés par le CYP450 3A4, et sont également substrat de la P-gp. Une IM avec le PCZ, avec augmentation des concentrations sanguines d'immunosuppresseurs (et donc un risque accru de toxicité), est donc prévisible.

Le MPA est lui métabolisé par l'UDP-glucuronyltransférase, le CYP450 3A4 n'intervient pas. Aucune IM avec le PCZ n'est attendue pour cet IS.

A l'arrêt de l'azolé, il faut environ 7 à 10 jours pour retrouver une concentration d'IS de base (19). Cette donnée doit être prise en compte à l'arrêt de l'ATF.

Les données de la littérature concernant les interactions entre le PCZ et les IS sont peu nombreuses. On retrouve des données générales sur les interactions via l'inhibition du CYP450, mais peu de données chiffrées sur l'amplitude de variations des concentrations en IS et de recommandations d'adaptation posologique.

L'équipe de Sansone-parsons a étudié l'effet de la prise de PCZ sur la pharmacocinétique de la ciclosporine et du tacrolimus. Pour la ciclosporine, les données sur 4 patients greffés cardiaques suggèrent de diminuer la posologie de ciclosporine aux  $\frac{3}{4}$  de la dose initiale lors de l'introduction de PCZ afin d'éviter un surdosage en IS. L'administration de tacrolimus et PCZ a été évaluée chez 36 volontaires sains, il en ressort que la dose de tacrolimus doit être divisée par 3 au moment de l'ajout de l'antifongique (20).

Cependant ces données ont été obtenues chez des patients différents des patients allogreffés de CSH, avec une posologie de posaconazole faible (200mg/j) dans l'étude sur la ciclosporine. De plus, les patients allogreffés de CSH ont généralement un autre azolé

(FLC ou VRC), pouvant lui-même être à l'origine d'IM, avant l'instauration du PCZ.

Concernant l'évérolimus, une diminution de sa posologie est également recommandée lors de la mise sous PCZ, mais l'importance de cette réduction n'est pas documentée (21).

# **TRAVAIL PERSONNEL**

## **I. Justification de l'étude**

Le posaconazole, antifongique azolé, a obtenu l'AMM en prophylaxie des IFI en cas de GVHD en 2007. Les concentrations plasmatiques de PCZ présentent une grande variabilité inter et intra-individuelle, mais semblent prédictives de l'efficacité du traitement non seulement en curatif mais également en prophylaxie. Ces éléments font du PCZ un bon candidat au suivi thérapeutique pharmacologique. Cependant, la valeur cible de concentration plasmatique résiduelle efficace n'est pas encore clairement définie en cas d'utilisation en prophylaxie. Le PCZ fait donc l'objet d'un certains nombres d'études visant à identifier les paramètres à l'origine des fortes variations de concentrations plasmatiques. Dans ce cadre, un travail initié par le laboratoire de pharmacologie-toxicologie du CHU de Grenoble avait été réalisé en collaboration, entre autre, avec le service d'hématologie clinique. Les résultats de cette étude confirmaient la forte variabilité inter-individuelle (patients mucoviscidosiques ayant des  $C_{\min}$  très basses comparativement à des greffés pulmonaires non mucoviscidosiques) mais également intra-individuelle chez des patients greffés pulmonaires ou allogreffés de CSH. De plus, chez les patients allogreffés de CSH, la présence de diarrhée ou d'une GVHD digestive étaient associée à des faibles concentrations de PCZ. C'est notamment dans ce contexte de faibles  $C_{\min}$  de PCZ que certains patients ont déclaré une aspergillose invasive (22). De plus, ces patients allogreffés de CSH et présentant une GVHD, reçoivent un traitement immunosuppresseur, dont la plupart des molécules utilisées sont des médicaments à marge thérapeutique étroite. Or le PCZ est source d'interactions médicamenteuses du fait de son action inhibitrice sur le CYP450. Comme nous l'avons exposé en introduction, la survenue d'interactions médicamenteuses entre ces IS et le PCZ est connue dans certains contextes, et justifie une adaptation du traitement IS et un suivi thérapeutique renforcé chez les patients traités à la fois par IS et PCZ (20).

Cependant, peu de données sont rapportées concernant les patients présentant une GVHD. Or, ces patients constituent une population particulière. Ils présentent fréquemment et épisodiquement des atteintes du tube digestif se traduisant notamment par des diarrhées, liées à la localisation de leur GVHD (au niveau digestif) ou à des infections à cytomégalovirus. Ceci est donc potentiellement à l'origine de modifications de l'absorption des médicaments administrés par voie orale. De plus, leur traitement comporte dans la plupart des cas un autre ATF avant l'introduction du PCZ, pouvant lui-même être à l'origine d'interactions médicamenteuses en cas d'utilisation d'une autre molécule azolée.

Ce travail a donc pour objectif d'étudier les effets de l'introduction du PCZ sur les concentrations plasmatiques et les posologies d'IS dans cette population spécifique de patients allogreffés de CSH et développant une GVHD, afin de quantifier l'impact de l'introduction du PCZ sur les concentrations d'immunosuppresseur et de rapporter les attitudes thérapeutiques actuelles (adaptation posologique ou non). Cette étude permet ainsi d'apporter des éléments utiles aux cliniciens dans la gestion de ces traitements (modifications des concentrations plasmatiques, nécessité d'adaptation posologique ou non, mise en évidence de groupes de patients particuliers).

Les médecins du service d'hématologie du CHU de Grenoble présentent un intérêt particulier pour le STP qu'ils utilisent en pratique clinique quotidienne pour la gestion du traitement de leurs patients, que ce soit pour les IS, les antibiotiques ou les ATF. Ceci nous a permis de mettre en place un recueil de données de façon rétrospective de ces patients afin de répondre aux objectifs de l'étude. Il est à noter que tous les patients allogreffés du service d'hématologie clinique du CHU de Grenoble signent un consentement attestant qu'ils acceptent que leurs données personnelles et médicales soient analysées ultérieurement pour des études de recherche clinique.



## **II. Matériel et méthode**

### 1) Patients

Cette étude rétrospective a été menée chez les patients adultes ayant reçu une allogreffe de CSH entre le 1er janvier 2009 et 31 décembre 2010 dans le service d'hématologie du CHU de Grenoble, présentant une GVHD nécessitant un traitement par immunosuppresseurs (ciclosporine, MMF/MPA, tacrolimus ou évérolimus), recevant un traitement prophylactique des IFI par PCZ, et pour lesquels un STP des IS et du PCZ était disponible.

### 2) Consignes de prise des différents traitements

Au cours de leur hospitalisation et pendant les consultations, les patients recevaient des consignes concernant la prise de leurs médicaments.

Le PCZ doit être pris avec une boisson acide et pendant un repas pour augmenter son absorption et avoir plus de probabilité d'atteindre la concentration seuil d'efficacité de 0,7 mg/L.

Concernant les IS, il était demandé aux patients de toujours prendre la ciclosporine, le tacrolimus et l'évérolimus dans les mêmes conditions, soit toujours pendant soit toujours en dehors d'un repas afin d'éviter des différences d'absorption selon les prises. Il leur est également préconisé de bien espacer les prises de 12h afin d'éviter de trop grandes fluctuations de concentration plasmatique au cours de la journée.

### 3) Design de l'étude et recueil de données

Notre travail a consisté à étudier rétrospectivement, sur une période de 32 mois (janvier 2009 à août 2011), les mesures de  $C_{\min}$  en IS et en PCZ et les données cliniques enregistrées dans le dossier médical des sujets. Ces derniers n'ayant subi aucun examen biologique ou clinique supplémentaire à ceux de la prise en charge normale, il ne s'agissait pas d'un protocole de recherche clinique. De plus, tous les patients allogreffés en hématologie signent un consentement attestant qu'ils acceptent que leurs données personnelles soient analysées ultérieurement pour des études de recherche clinique.

Les  $C_{\min}$  et posologies d'IS et de PCZ ont été recueillies à partir du logiciel informatique de rendu des résultats biologiques (Synergie, Techni-Data, Montbonnot, France) avant et après l'instauration du PCZ. Les données cliniques ont été recueillies à partir du dossier patient informatisé : courriers d'hospitalisation, prescriptions, fiches de suivi remplies à chaque consultation. Les données recueillies étaient les suivantes :

- Age
- Sexe
- Indice de masse corporelle (IMC) à J0 (jour de l'introduction du PCZ)
- Pathologie initiale
- Délai de mise sous PCZ après la greffe
- ATF administré avant le PCZ
- Présence d'une GVHD active (quelle que soit sa localisation)
- Présence de diarrhées
- Clairance à la créatinine
- Gammaglutamyl-transférases ( $\gamma$ GT)
- Survenue d'une IFI malgré la prophylaxie par PCZ
- IS administrés
- Posologie et  $C_{\min}$  d'IS
- Posologie et  $C_{\min}$  de PCZ

Le rapport  $C_{\min}/\text{posologie}$  ( $C_{\min}/D$ ) a été calculé pour les IS et le PCZ.

Différents périodes ont été définies : avant l'introduction du PCZ (pré), J0 : jour d'introduction du PCZ, et après l'instauration du PCZ (J7, J14, J21, J30). La période après l'instauration du PCZ a été séparée en deux phases : phase aiguë (jusqu'à J21 de l'introduction de PCZ) et chronique (après J21).

Les  $C_{\min}$ , posologies et rapports  $C_{\min}/D$  à J7, J14, J21 et J30 ont été convertis en pourcentage de leur valeur à J0 afin de pouvoir comparer leur évolution dans le temps quelle que soit leur valeur initiale.

#### 4) Détermination des concentrations résiduelles de PCZ et d'IS

##### *a. Prélèvements*

Au cours de l'hospitalisation pour allogreffe, un prélèvement veineux périphérique était réalisé deux fois par semaine pour déterminer la concentration plasmatique des IS, et une fois par semaine pour quantifier la concentration plasmatique de PCZ.

Après la sortie du service de soins intensifs d'hématologie, les patients sont suivis en consultation une fois par semaine. Un prélèvement veineux était réalisé afin de quantifier les concentrations plasmatiques d'IS et de PCZ.

##### *b. Méthode de dosage des concentrations plasmatiques des IS et de PCZ*

Les dosages des concentrations plasmatiques d'antifongiques azolés et d'immunosuppresseurs sont réalisés par des méthodes validées en chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS), au laboratoire de Pharmacologie-Toxicologie du C.H.U. de Grenoble.

Une étape de précipitation des protéines est réalisée en présence d'un standard interne, puis la molécule d'intérêt est quantifiée en chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS). Le principe de la méthode est commun pour la méthode de détermination des concentrations plasmatiques d'immunosuppresseurs, de MPA et d'antifongiques azolés. Une méthode permet la quantification des immunosuppresseurs (ciclosporine, tacrolimus, évérolimus), une autre celle des antifongiques azolés (PCZ, voriconazole, itraconazole) et une dernière le MPA.

#### Principe de la méthode de quantification de la molécule d'intérêt par LC-MS/MS

Après déprotéinisation de l'échantillon, le surnageant est injecté dans un système chromatographique bidimensionnel (Shimadzu prominence LC-20, Kyoto, Japon). Une première étape de purification est réalisée par passage dans une colonne de chromatographie (POROS R1/20, 20 µm, 2.1 mm×30mm, Applied Biosystems, Foster city, USA). L'extrait est ensuite élué et transféré à la colonne analytique maintenue à 60°C (Phenomenex Luna, 5 µm, phenyl-hexyl, 2 mm×50mm, Torrance, USA). Le gradient d'éluion est obtenu grâce à 2 phases mobiles. La détection est réalisée par spectrométrie de masse en tandem (pour les immunosuppresseurs et le MPA : ABSciex API 3200, Foster City, USA, pour les antifongiques azolés : ABSciex API 3200 QTRAP, Foster City, USA) avec ionisation par électrospray positif, et en mode MRM (Multiple Reaction Monitoring). Les molécules sont séparées en fonction de leur rapport masse/charge (m/z).

#### Spécificités pour chaque molécule

##### PCZ

Le dosage de PCZ est réalisé sur une prise d'essai de 100 µL de plasma obtenu après prélèvement veineux périphérique à l'aide d'un tube vacutainer contenant de l'héparinate

de lithium. La transition m/z utilisée pour la quantification du PCZ est m/z : 701.30 / 127.10.

#### Immunosuppresseurs

Le dosage de ciclosporine, tacrolimus et évérolimus est réalisé sur une prise d'essai de 100 µL de sang total obtenu après prélèvement veineux périphérique à l'aide d'un tube vacutainer contenant de l'EDTA.

Les transitions m/z utilisées pour la quantification des immunosuppresseurs sont :

- ciclosporine A      m/z    1219.9 / 1202.8
- tacrolimus            m/z    821.5 / 768.4
- évérolimus            m/z    975.6 / 908.5

#### MPA

Le dosage de MPA est réalisé sur une prise d'essai de 100 µL de sang total obtenu après prélèvement veineux périphérique à l'aide d'un tube vacutainer contenant de l'EDTA.

La transition m/z utilisée pour la quantification de l'adduit ammonium du MPA est m/z 338.2 / 207.1.

### 5) Analyse statistique

Les variables aléatoires continues sont exprimées en moyenne ± écart-type (SD). Leur représentation graphique se fait en moyenne ± erreur standard à la moyenne (sem).

Pour comparer les moyennes, deux tests paramétriques ont été utilisés, en considérant que la distribution des variables dans chaque groupe suit une loi normale :

- le test t de Student pour comparer 2 groupes
- le test d'ANOVA pour comparer 3 groupes ou plus.

En cas de significativité de l'ANOVA, le test de Bonferroni-Dunn a été réalisé a posteriori afin de distinguer entre quels groupes se trouve cette différence.

Le test d'ANOVA en mesures répétées a été utilisé lors de l'analyse des séries de valeurs appariées.

Le seuil de significativité  $p$  a été fixé à  $p < 0,05$ .

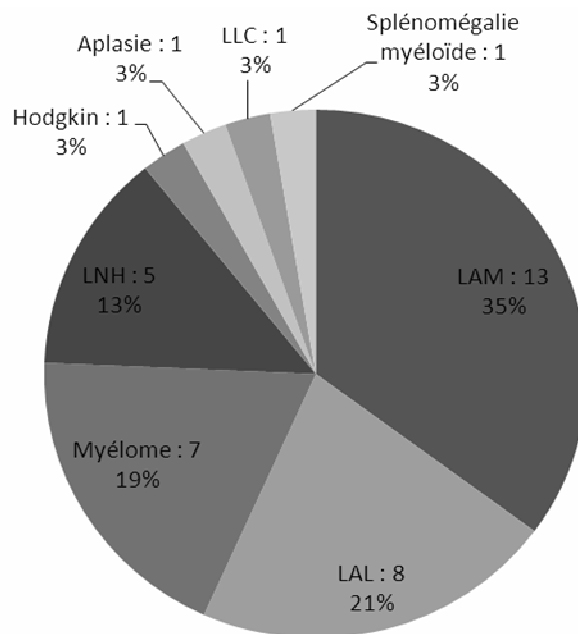
Les données ont été analysées à l'aide du logiciel StatView 5.0 (Statview pour windows, SAS Institute Inc. Copyright©).

### III. Résultats

#### 1) Patients

Parmi les 67 patients allogreffés en 2009/2010, 38 ont reçu du PCZ en prophylaxie dans le cadre de leur GVHD. Seuls 32 patients étaient incluables : 5 patients n'avaient pas d'IS au moment de l'introduction du PCZ (3 sous corticoïdes seuls, 1 sous photochimiothérapie extracorporelle et 1 sous alemtuzumab), 1 patient n'a eu du PCZ que pendant deux jours. Parmi ces 32 patients, 5 patients ont eu deux périodes de traitement par PCZ analysables. Au total, 37 mises sous PCZ étaient exploitables.

La répartition dans cette cohorte des pathologies hématologiques initiales est représentée dans la Figure 1.



**Figure 1** : Répartition des pathologies hématologiques

a. Caractéristiques des patients en fonction de l'ATF administré avant le PCZ

Les patients ont été séparés en 3 groupes en fonction de l'ATF qui leur était prescrit avant l'instauration du PCZ : groupe FLC (n=18), groupe VRC (n=6), groupe autre dans lequel aucun ATF azolé n'était administré avant le PCZ (n=13).

Les caractéristiques et la répartition des différents IS des patients dans leur totalité, ainsi qu'en fonction de l'ATF utilisé antérieurement sont représentées dans le Tableau 2.

Bien qu'il n'y ait aucune différence statistiquement significative entre les groupes, il apparaît que l'âge moyen est légèrement plus élevé (5 ans de plus, ANOVA  $p=0.66$ ) et la clairance est plus faible dans le groupe VRC ( $64.1\pm 18.8$  mL/min vs  $92.8\pm 28.3$  mL/min dans le groupe autre et  $92.8\pm 45.3$  mL/min dans le groupe FLC, ANOVA  $p=0.23$ ). Les trois groupes sont comparables concernant le délai de mise sous PCZ (ANOVA  $p=0.28$ ).

Il existe une différence significative d'IMC entre les groupes VRC et FLC (IMC= $19.0\pm 3.7$  et  $23.4\pm 3.4$  kg.m<sup>-2</sup>, pour VRC et FLC respectivement,  $p<0.05$ ).

Le taux de  $\gamma$ GT est significativement plus élevé dans le groupe VRC ( $1099.5\pm 960.7$  UI/mL) que dans les deux autres groupes (Tableau 2).



**Tableau 2** : Caractéristiques des patients en fonction de l'ATF utilisé avant le PCZ

Caractéristiques	Total	FLC	VRC	Autre
n (%)	37	18 (48.6)	6 (16.2)	13 (35.1)
Homme/Femme	23/14	12/6	1/5	10/3
Age (années) (moyenne ± SD)	48.3 ± 11.8	47.6 ± 13.3	52.3 ± 5.0	47.3 ± 12.0
IMC (kg/m <sup>2</sup> ) (moyenne ± SD)	22.5 ± 3.6	23.4 ± 3.4	19.0 ± 3.7*	22.8 ± 2.9
Clairance (mL/min) (moyenne ± SD)	88.0 ± 37.2	92.8 ± 45.3	64.1 ± 18.8	92.8 ± 28.3
γGT (UI/mL) (moyenne ± SD)	310.1 ± 533.6	102.1 ± 126.8	1099.5 ± 960.7* <sup>§</sup>	269.2 ± 304.6
Aspergillose invasive	4	3	0	1
Conditionnement				
- myéloablatif	11	5	1	5
- non myéloablatif	26	13	5	8
Nombre d'IS				
- 1 IS	22	11	1	10
- 2 IS	15	7	5	3
IS				
- Ciclosporine	24	11	6	7
o Ciclo seule	10	5	1	4
o Ciclo+MPA	14	6	5	3
- MMF/MPA	17	8	5	4
- Tacrolimus	2	1	0	1
- Evérolimus	9	5	0	4

IS : Immunosuppresseur, MMF : Mycophénolate Mofétil, MPA : Acide Mycophénolique

\* p<0,05 : VRC vs FLC

§ p<0,05 : FLC vs autre

§ p<0,05 : VRC vs autre

*b. Caractéristiques des patients en fonction du traitement IS*

Sont représentées dans le Tableau 3 les caractéristiques des patients en fonction de leur traitement IS pour les deux IS les plus fréquemment utilisés chez nos patients : la ciclosporine (qui peut être administrée seule ou en association au MPA) et l'évérolimus.

Le délai de mise sous PCZ après l'allogreffe est significativement plus élevé dans le groupe évérolimus ( $171.9 \pm 81.4$  j) que dans les groupes ciclosporine seule ( $41.7 \pm 27.9$  j) ou associée au MPA ( $33.1 \pm 17.0$  j) (ANOVA  $p < 0.0001$ ).

Aucune différence statistiquement significative ne ressort entre ces 3 groupes concernant l'IMC (ANOVA  $p = 0.79$ ), la clairance à la créatinine (ANOVA  $p = 0.14$ ) et les  $\gamma$ GT (une valeur de  $\gamma$ GT outlier de 2385 UI/mL a été supprimée pour réaliser l'ANOVA,  $p = 0.32$ ).

Cependant, concernant l'âge, le groupe ciclosporine+MPA présente un âge plus élevé que les 2 autres groupes, très proche de la significativité statistique (ANOVA  $p = 0.06$ ).

Concernant les  $\gamma$ GT, l'absence de significativité statistique est probablement due à une très grande variabilité.

Les  $C_{\min}$  de PCZ à l'équilibre (à J14 ou J21) sont comparables dans les 3 groupes (ANOVA  $p = 0.87$ ) et au-delà de la concentration seuil recommandée de 0.7 mg/L.

Les  $C_{\min}$  de ciclosporine à J0 sont comparables, que la ciclosporine soit associée ou non au MPA ( $p = 0.79$ ), et sont bien dans la fourchette thérapeutique ciblée (150-300 mg/L).

Parmi les 32 patients étudiés, 4 ont développé une IFI malgré la prophylaxie par PCZ : 1 sous évérolimus, 1 sous MPA seul, 1 sous ciclosporine+MPA, 1 sous ciclosporine seule.

**Tableau 3** : Caractéristiques des patients dans les groupes ciclosporine et évérolimus

Caractéristiques	Ciclosporine (total)	Ciclosporine seule	Ciclosporine + MMF/MPA	Évérolimus
n (% de la population totale)	24 (64.8)	10 (27.0)	14 (37.8)	9 (24.3)
Homme/Femme	14/10	6/4	8/6	6/3
Age (années) (moyenne ± SD)	47.8 ± 13.0	41.3 ± 15.4	52.5 ± 8.4	46.7±8.5
IMC (kg/m <sup>2</sup> ) (moyenne ± SD)	22.1 ± 3.4	21.7 ± 2.1	22.3 ± 4.0	22.9±4.1
Clairance (mL/min) (moyenne ± SD)	84.2 ± 37.9	99.7 ± 46.0	72.2 ± 26.2	98.1±35.9
γGT (UI/mL) (moyenne ± SD)	354.9 ± 672.8	64.6 ± 43.5	516.2 ± 807.8	215.3±216.1
Aspergillose invasive	2	1	1	1
C <sub>min</sub> PCZ (mg/L) (moyenne ± SD)	1.3 ± 0.9	1.2 ± 0.7	1.3 ± 1.0	1.5±0.9
C <sub>min</sub> IS (mg/l pour la ciclosporine, ng/mL pour l'évérolimus) (moyenne ± SD)	219.4 ± 94.1	213.1 ± 78.5	224.3 ± 107.5	4.9±3.2

## 2) Données pour chaque IS

### a. Groupe tacrolimus (n=2)

Seuls 2 patients avaient du tacrolimus comme traitement IS. La C<sub>min</sub> de tacrolimus augmente jusqu'à 334.8 % de la C<sub>min</sub> initiale à J14 pour l'un des patients, mais elle reste dans la fourchette de concentration cible et la posologie n'a pas été modifiée. Pour le 2<sup>ème</sup>

patient, le tacrolimus était indétectable au niveau sanguin lors de la mise sous PCZ, la posologie a été multipliée par 2, ce qui a permis d'atteindre des  $C_{\min}$  correctes.

*b. Groupe MPA (n=17)*

Les  $C_{\min}$  de MPA augmentent jusqu'à  $471.5 \pm 425.6$  % de la  $C_{\min}$  initiale à J30. La  $C_{\min}$  moyenne initiale de MPA était de  $1.2 \pm 1.8$  mg/mL (coefficient de variation : CV=150%), la  $C_{\min}$  moyenne à J30 de  $0.8 \pm 0.7$  mg/mL (CV=88%). Cependant, n'ayant pas de fourchette précise de concentration à cibler, aucune adaptation posologique n'a été réalisée. Un patient a déclaré une aspergillose invasive dans ce groupe.

*c. Groupe évérolimus (n=9)*

La  $C_{\min}$  moyenne initiale en évérolimus était de  $4.9 \pm 3.2$  ng/mL (CV=65%).

Le groupe évérolimus ne comporte aucun patient ayant eu du VRC avant l'introduction du PCZ. Les  $C_{\min}$  d'évérolimus avant l'instauration du PCZ sont comparables que le patient ait eu du FLC antérieurement ( $6.3 \pm 3.0$  ng/mL) ou qu'il n'ait reçu aucun azolé ( $6.4 \pm 4.7$  ng/mL).

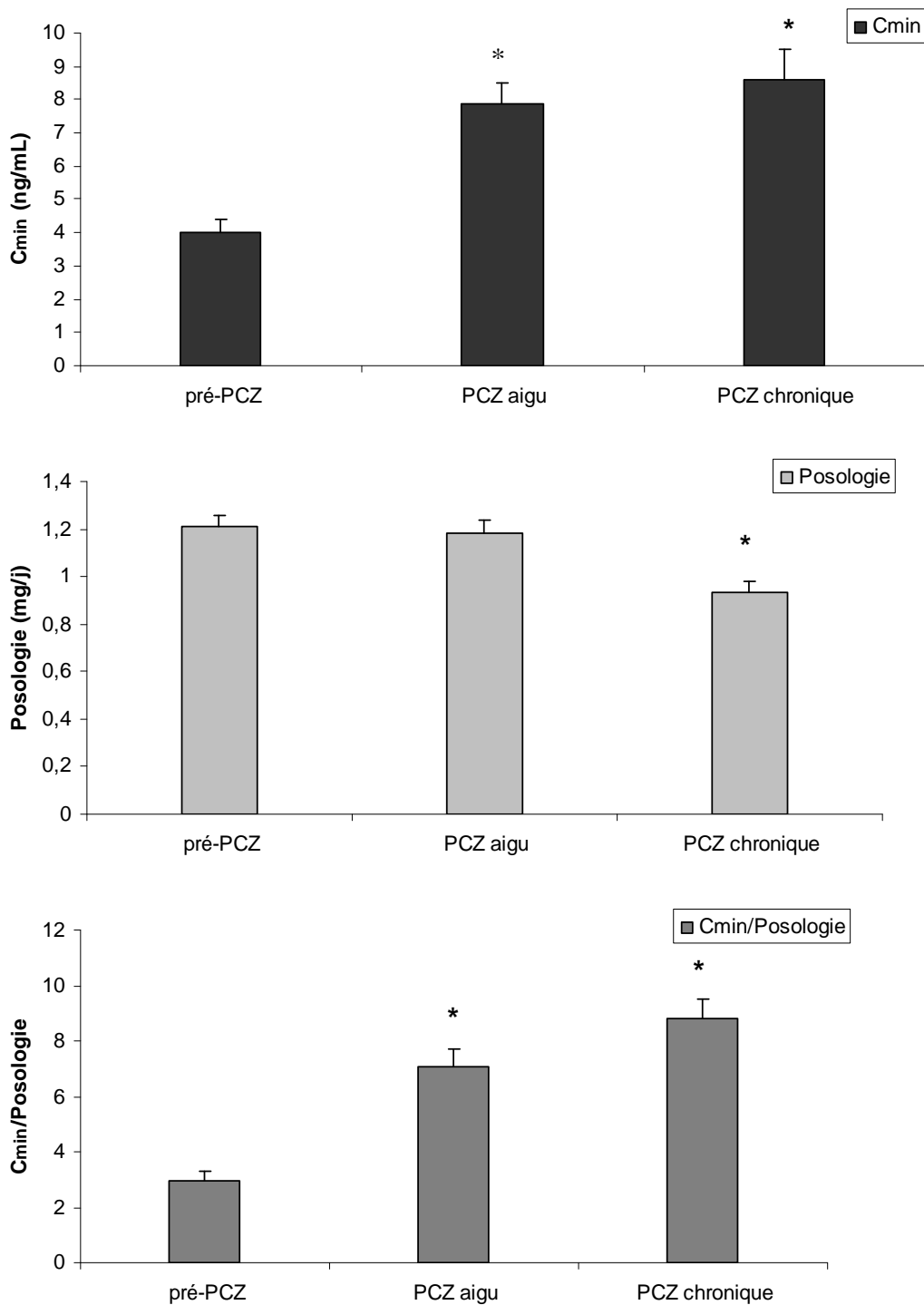
• ***Effet de l'introduction du PCZ sur l'évérolimus***

La  $C_{\min}$  de PCZ à l'équilibre est en moyenne de  $1.5 \pm 0.9$  mg/L chez les patients recevant de l'évérolimus.

Les moyennes des  $C_{\min,r}$ , posologies (D) et rapports  $C_{\min}/D$  d'évérolimus disponibles avant et après l'instauration du PCZ sont représentées dans la Figure 2.

La  $C_{\min}$  en phase aiguë ou chronique est 2 fois plus élevée qu'en phase pré-PCZ. La posologie est plus élevée en pré-PCZ et en PCZ aigu qu'en PCZ chronique (Pré :

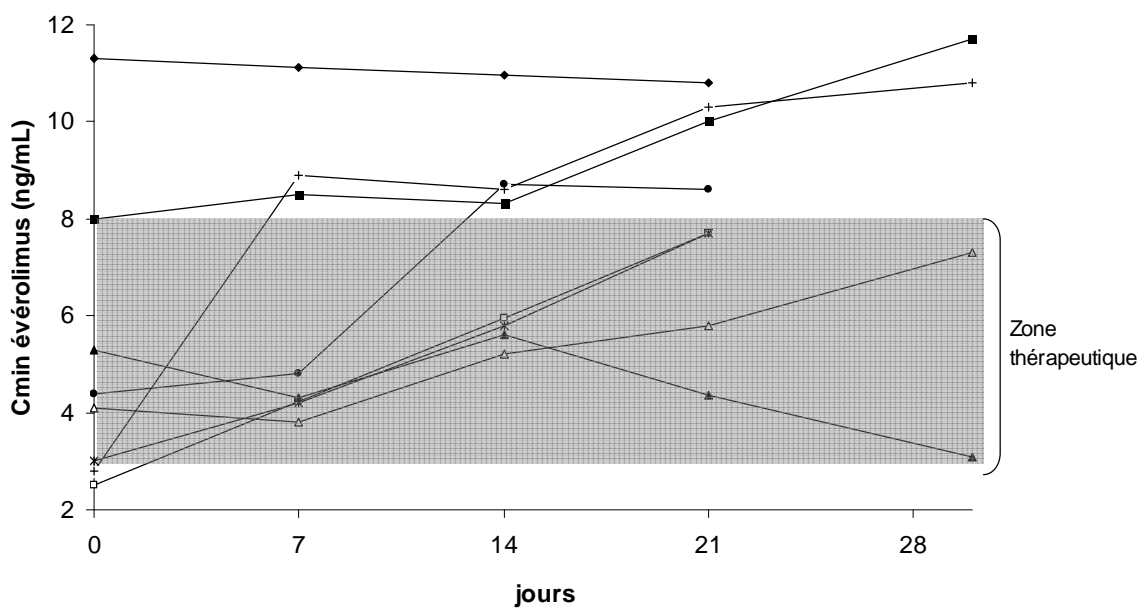
1.2±0.3ng/mL, Aigu : 1.2±0.2ng/mL, Chronique 0.9±0.3ng/mL, p<0.05). Le rapport  $C_{min}/D$  est significativement plus bas en pré-PCZ qu'en PCZ aigu ou chronique.



**Figure 2 :** Evolution des  $C_{min}$ , posologie et du rapport  $C_{min}/Posologie$  d'évérolimus avant l'instauration du PCZ, en aigu (jusqu'à J21) et en chronique (après J21) après l'instauration du PCZ.

La  $C_{min}$  d'évérolimus ( $p=0.002$  et  $R^2=0.35$ ) et le rapport  $C_{min}/D$  ( $p=0.0009$  et  $R^2=0.4$ ) sont significativement corrélés à la  $C_{min}$  de PCZ.

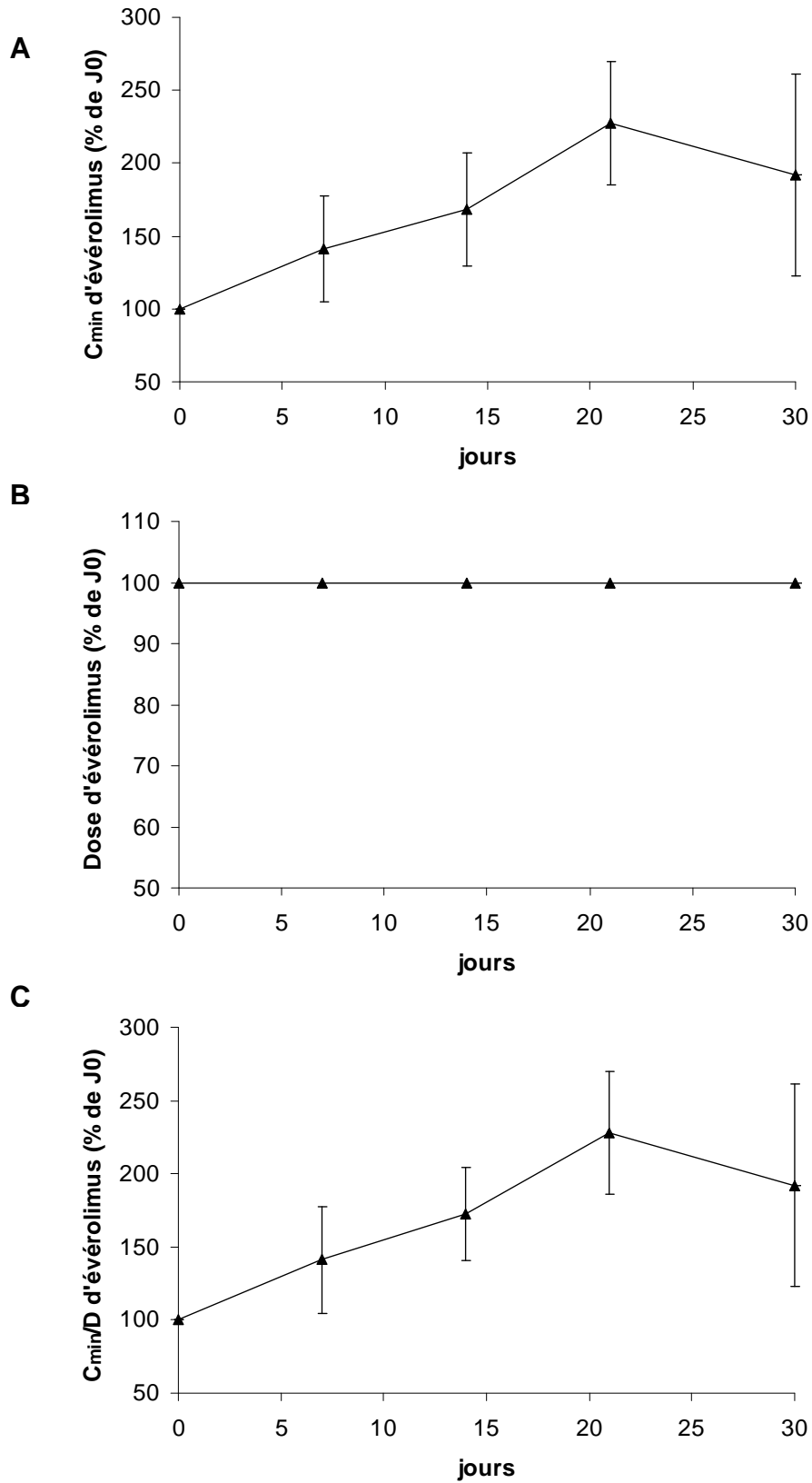
Les courbes de variation de  $C_{min}$  pour chaque patient (Figure 3) mettent en évidence que, chez 8 patients (89%), la  $C_{min}$  augmente après l'introduction du PCZ et est au-dessus de la fourchette thérapeutique pour 4 patients (44%)



**Figure 3 :** Evolution individuelle de la  $C_{min}$  d'IS chez les patients du groupe évérolimus

- **Evolution des  $C_{min}$ , de la posologie (D) et du rapport  $C_{min}/D$  d'évérolimus après l'introduction du PCZ (Figure 4)**

Les données à J7, J14, J21 et J30 sont exprimées en pourcentage de la valeur initiale (à J0). Les  $C_{min}$  d'IS augmentent progressivement après la mise sous PCZ jusqu'à  $227.5 \pm 102.8$  % de la  $C_{min}$  initiale à J21, sans atteindre la significativité statistique. Dans ce groupe, aucune adaptation posologique n'a été réalisée. L'évolution de  $C_{min}/D$  est le reflet de l'évolution des  $C_{min}$ .



**Figure 4 :** Evolution de la C<sub>min</sub> (A), de la dose (B) et du rapport C<sub>min</sub>/D (C) d'everolimus au cours du temps après instauration du PCZ

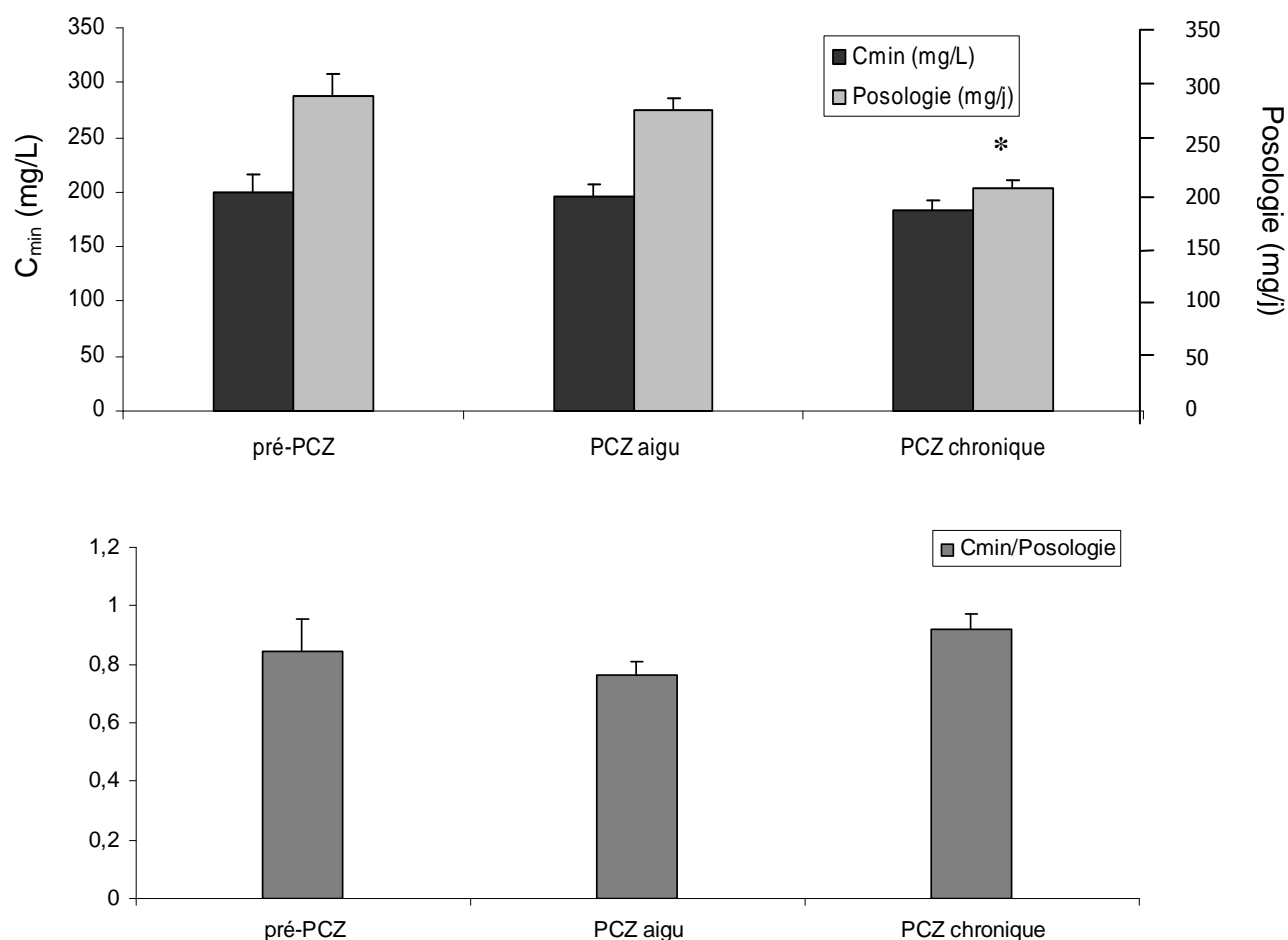
d. Groupe ciclosporine (n=24)

Les  $C_{\min}$  de ciclosporine à J0 sont comparables quel que soit l'ATF administré avant le PCZ (ANOVA  $p=0.65$ ). La concentration plasmatique moyenne de ciclosporine à J0, quel que soit le groupe, est de  $219.4 \pm 94.1$  mg/L (CV=43%).

• **Effet de l'introduction du PCZ sur la ciclosporine**

Dans le groupe ciclosporine, la  $C_{\min}$  de PCZ est de  $1.3 \pm 0.9$  mg/L en moyenne.

Les moyennes de toutes les  $C_{\min}$ , posologies et rapports  $C_{\min}/D$  de ciclosporine disponibles avant et après l'instauration du PCZ sont représentées dans la Figure 5.



**Figure 5 :** Evolution des  $C_{\min}$ , posologie et du rapport  $C_{\min}/Posologie$  de ciclosporine avant l'instauration du PCZ, en aigu et en chronique après l'instauration du PCZ.

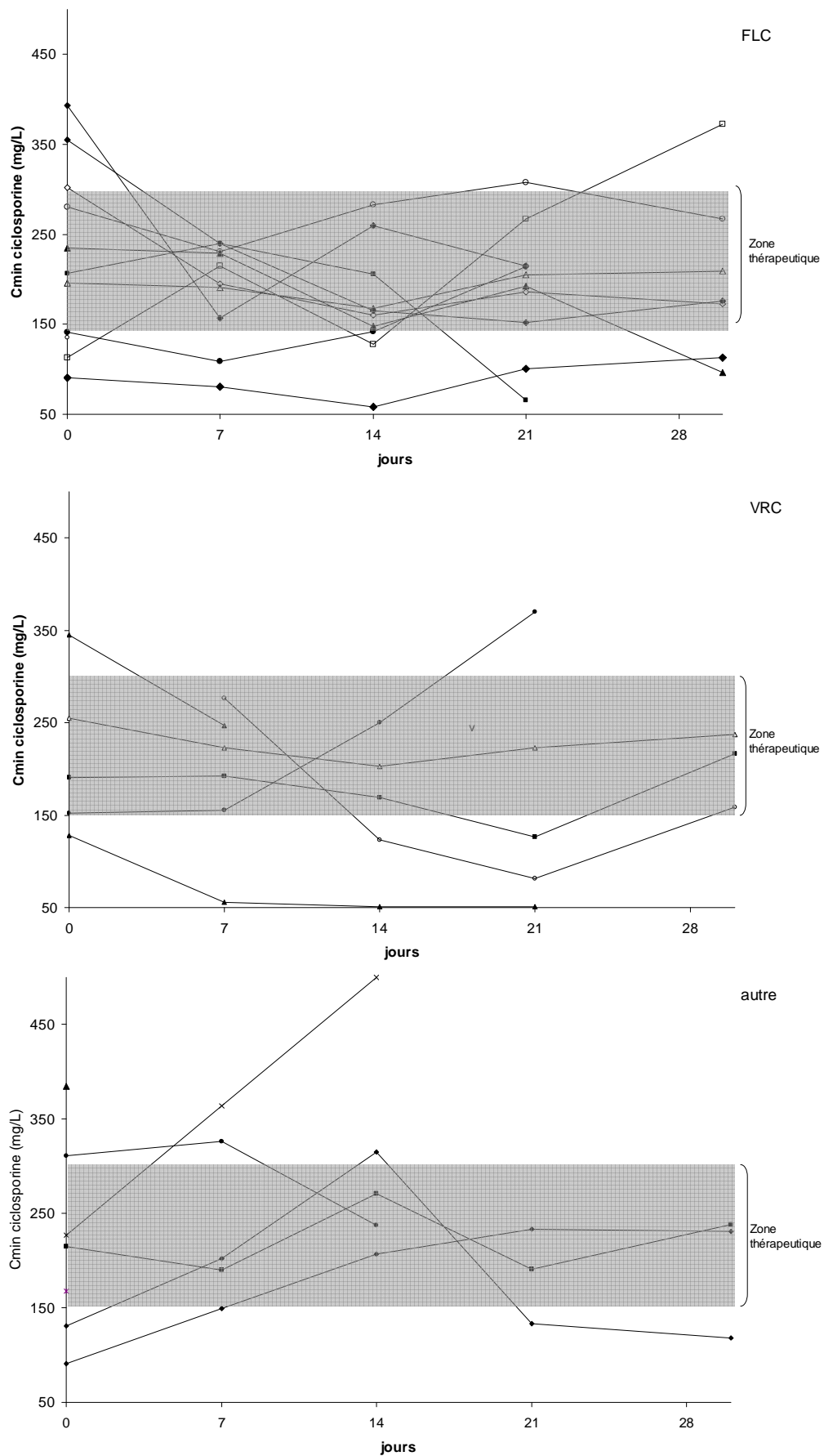


Les  $C_{\min}$  de ciclosporine sont comparables avant et après l'instauration du PCZ (ANOVA  $p=0.54$ ). La posologie est plus faible en chronique qu'en pré-PCZ et en PCZ aigu, ce qui est certainement lié à la phase de décroissance avant l'arrêt de la ciclosporine à distance de la poussée aiguë de GVHD.

Le rapport  $C_{\min}/\text{Posologie}$  est similaire quelle que soit la phase de traitement par PCZ (ANOVA  $p=0.08$ ).

Il existe une corrélation faible ( $R^2=0.036$ ), mais statistiquement significative ( $p=0,05$ ), entre les  $C_{\min}$  de ciclosporine et les  $C_{\min}$  de PCZ. Il en est de même entre le rapport  $C_{\min}/D$  de ciclosporine et la  $C_{\min}$  de PCZ ( $p=0.04$ ,  $R^2=0.038$ ).

L'évolution individuelle des  $C_{\min}$  de ciclosporine après l'initiation de la prophylaxie ATF par PCZ est représentée Figure 6. Afin d'obtenir une figure lisible, trois graphiques ont été réalisés en fonction de l'ATF antérieur. Seulement 7 patients (29%) ont des concentrations de ciclosporine en dehors de la cible thérapeutique, il ne semble pas y avoir de différence selon l'ATF administré avant l'introduction du PCZ. Parmi les patients dont les  $C_{\min}$  sont en dessous de la fourchette ciblée, on retrouve ceux qui sont en période de décroissance avant l'arrêt de l'IS.

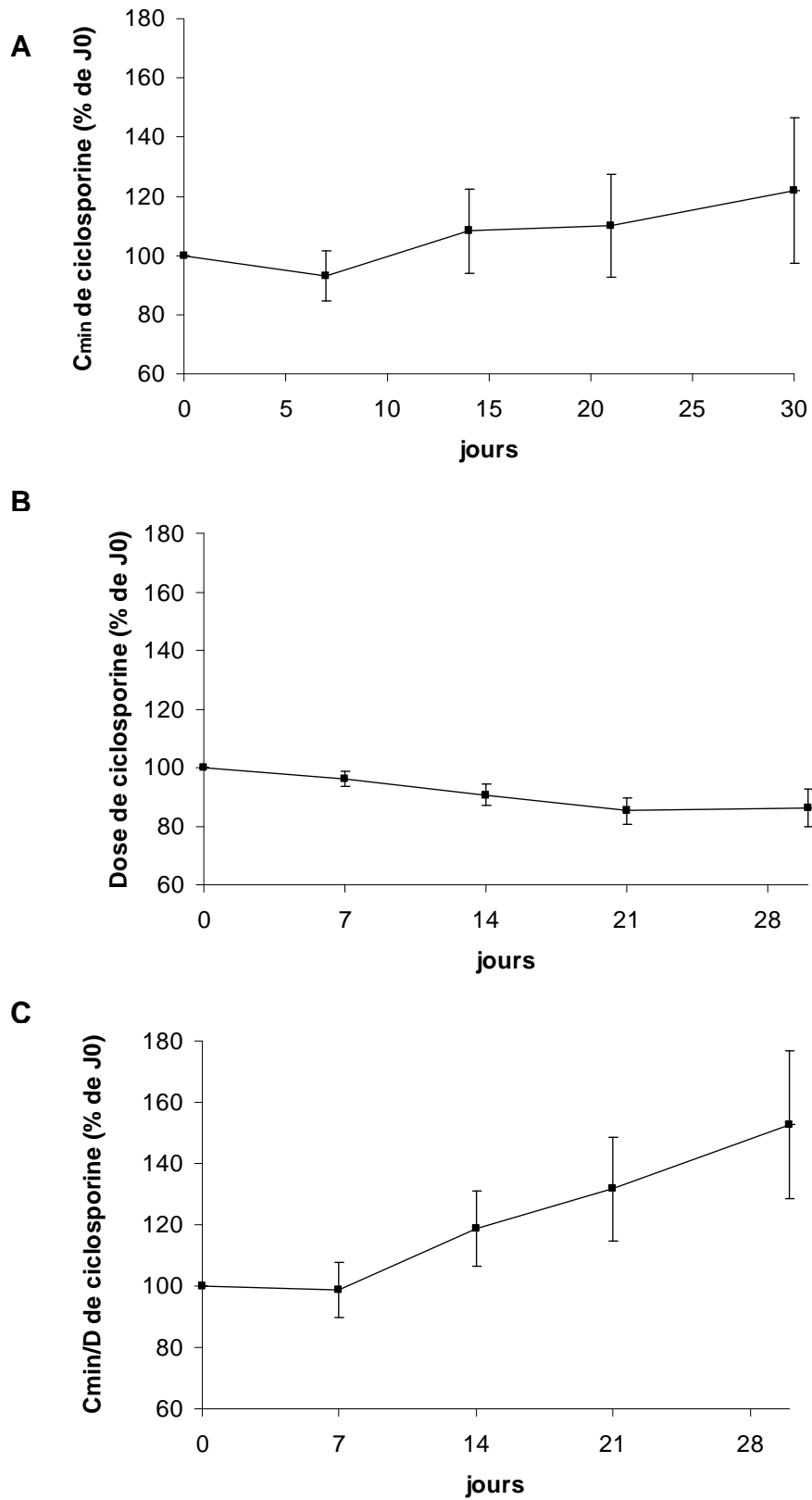


**Figure 6 :** Evolution individuelle de la  $C_{\min}$  d'IS chez les patients du groupe cyclosporine en fonction de l'ATF avant la mise sous PCZ

- ***Evolution des  $C_{min}$  de la posologie (D) et du rapport  $C_{min}/D$  de ciclosporine après l'introduction du PCZ (Figure 7-8-9-10)***

Les données à J7, J14, J21 et J30 sont exprimées en pourcentage de la valeur initiale (à J0). Les patients pour lesquels la ciclosporine est en décroissance posologique avant son arrêt ont été retirés afin d'éviter un biais dans l'analyse des résultats.

Les concentrations de ciclosporine augmentent progressivement jusqu'à un maximum de  $121.9 \pm 30$  % de la  $C_{min}$  initiale à J30. Une diminution progressive des doses de ciclosporine jusqu'à  $85.2 \pm 21$  % a été nécessaire. Le rapport  $C_{min}/D$  augmente au cours du temps ( $152.6 \pm 30$  % à J30) malgré la diminution de posologie (Figure 7). Ces variations n'atteignent cependant pas la significativité statistique, du fait du faible effectif de patients pour lesquels tous les temps de dosage (J7, 14, 21,35) sont disponibles.



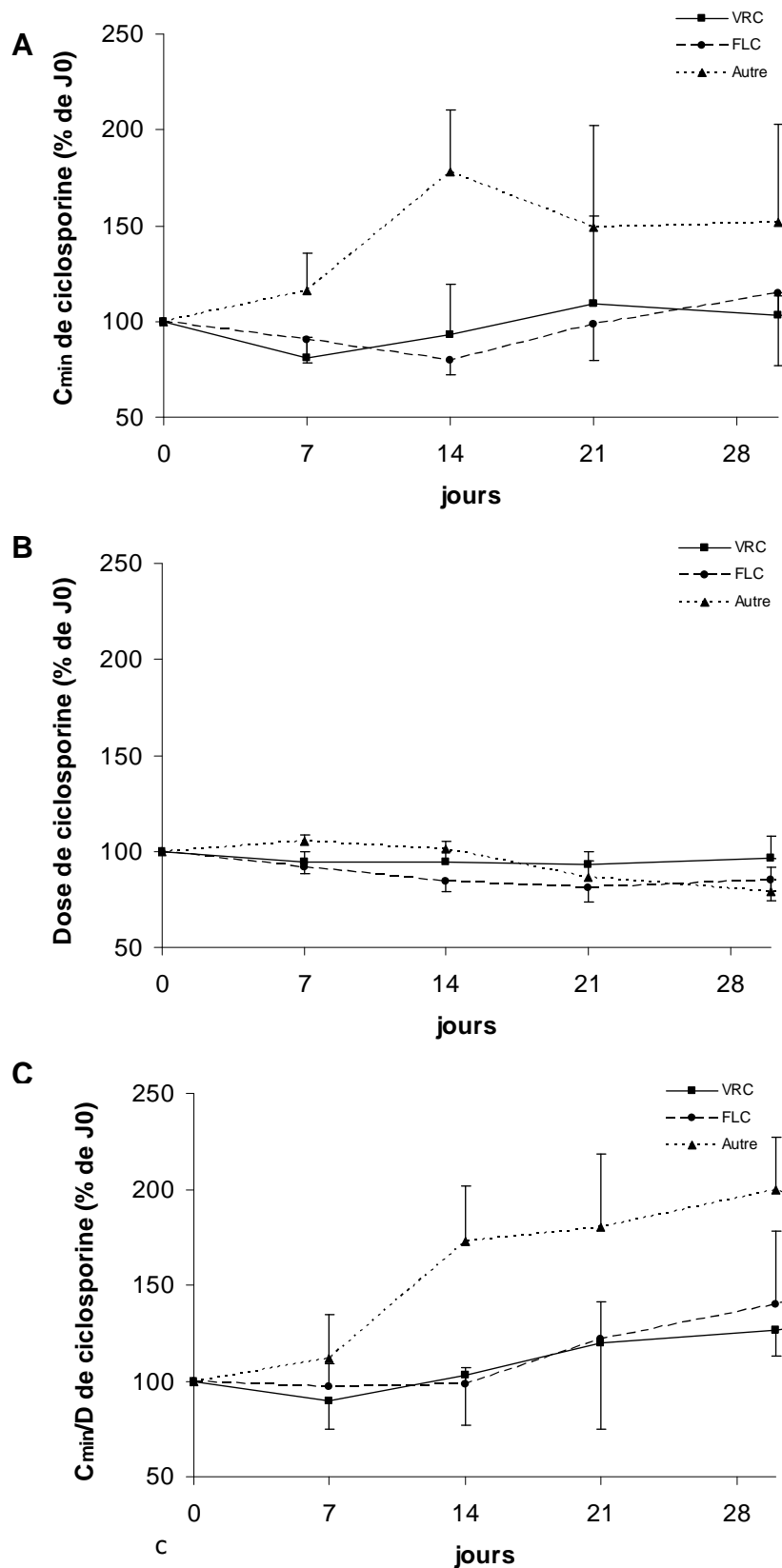
**Figure 7 :** Evolution de la  $C_{\min}$  (A), de la dose (B) et du rapport  $C_{\min}/D$  (C) de la ciclosporine au cours du temps après instauration du PCZ.

Les patients sous ciclosporine ont été divisés en sous-groupes afin de voir si certains facteurs (association au MPA, ATF administré avant le PCZ, modification de la posologie d'IS) ont une influence sur  $C_{\min}$ , D ou  $C_{\min}/D$ .

- *Influence de l'ATF administré avant la mise sous PCZ*

Les patients sont séparés en 3 sous-groupe : 11 patients sous ciclosporine ont reçu du FLC avant l'introduction du PCZ (groupe FLC), 6 du VRC (groupe VRC), 7 n'avaient aucun ATF azolé (groupe autre).

Les courbes de variation de  $C_{\min}$  des groupes VRC et FLC sont assez proches, celles-ci augmentent peu (à J30 :  $114.7 \pm 99.5$  % pour le groupe FLC,  $103.1 \pm 14.2$  % pour le groupe VRC). L'augmentation de concentration est par contre plus importante pour le groupe autre (jusqu'à un maximum de  $178 \pm 72.8$  % à J14), sans atteindre la significativité statistique. La posologie de ciclosporine est peu modifiée dans le groupe VRC, jusqu'à  $93.3 \pm 14.9$  % de dose initiale à J21. La posologie est diminuée jusqu'à  $80.8 \pm 24.6$  % à J21 pour le groupe FLC, et jusqu'à  $79.2 \pm 25$  % à J30 pour le groupe autre. L'évolution du rapport  $C_{\min}/D$  est semblable pour les groupes FLC et VRC (à J30 :  $139.9 \pm 101.4$  % pour le groupe FLC,  $126.3 \pm 18.7$  % pour le groupe VRC), mais ce rapport augmente de façon beaucoup plus importante pour les patients n'ayant aucun azolé avant l'introduction du PCZ ( $199.9 \pm 47$  % à J30). (Figure 8) Cependant, l'ANOVA en mesures répétées ne montre aucune différence significative selon l'ATF antérieur, là encore du fait du faible effectif de patient pour l'ensemble des temps de recueil considéré.



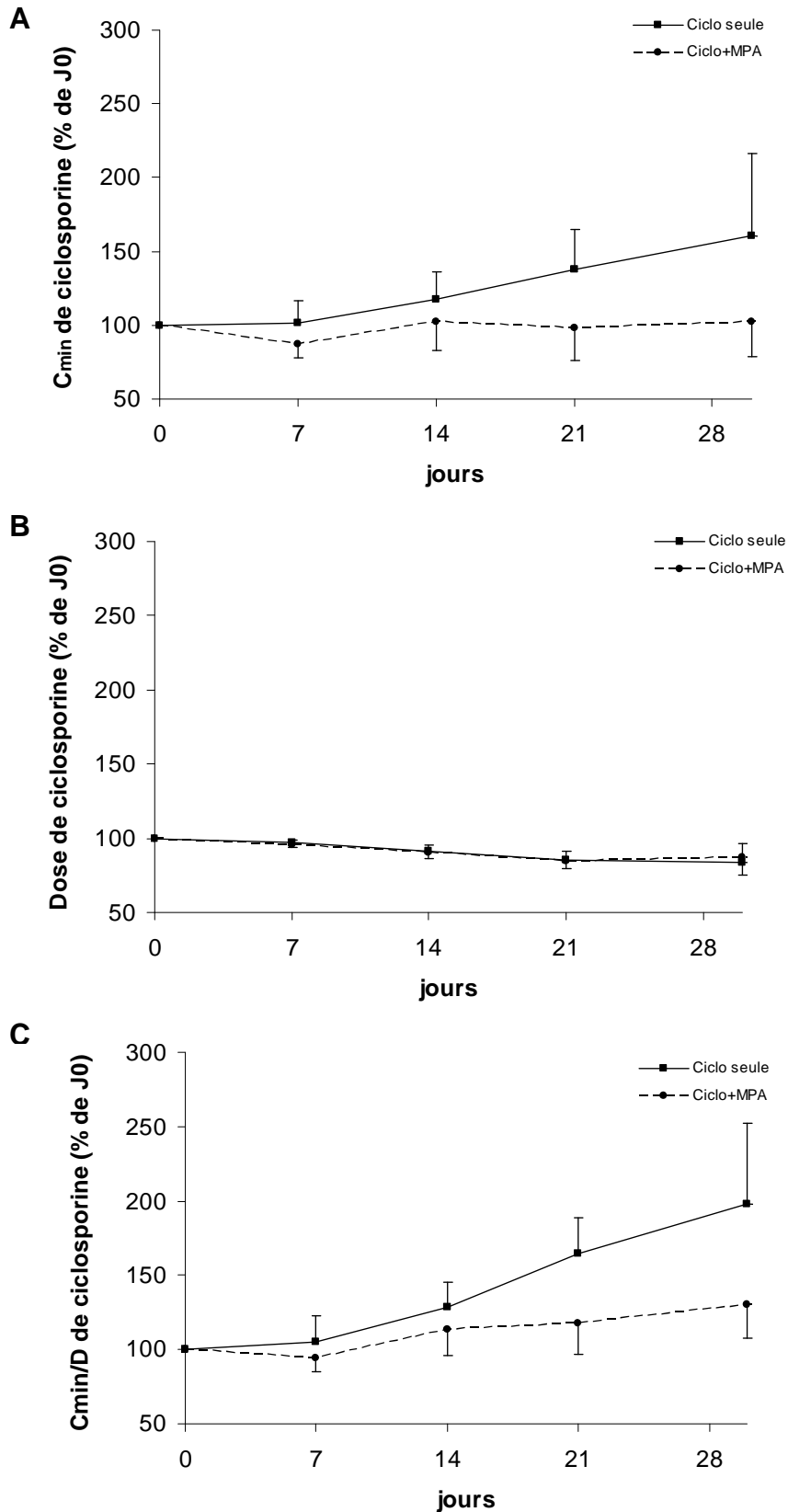
**Figure 8** : Evolution de la  $C_{min}$  (A), de la dose (B) et du rapport  $C_{min}/D$  (C) de la cyclosporine au cours du temps après instauration du PCZ, en fonction de l'ATF antérieur à la mise sous PCZ.

○ *Influence de l'association du MPA à la ciclosporine*

Les patients sont séparés en 2 sous-groupes : ciclosporine seule (n=10) ou ciclosporine associée au MPA (n=14).

Les  $C_{\min}$  de ciclosporine (à J0) et de PCZ (à l'équilibre) sont comparables dans ces 2 groupes.

Les  $C_{\min}$  pour la ciclosporine seule augmentent de façon importante (jusqu'à  $160.4 \pm 112.5$  %, mais non significatif statistiquement) alors que les  $C_{\min}$  de ciclosporine sont plus stables lorsqu'elle est associée au MPA ( $102.7 \pm 67.9$  % à J30). Cependant, les courbes de diminution de posologie sont superposables dans les 2 groupes. Les courbes de  $C_{\min}/D$  sont donc le reflet des variations de concentration (Figure 9). Cependant, l'ANOVA en mesures répétées ne montre aucune différence significative entre ces deux sous-groupes, du fait du faible effectif de patient pour l'ensemble des temps de recueil considéré.

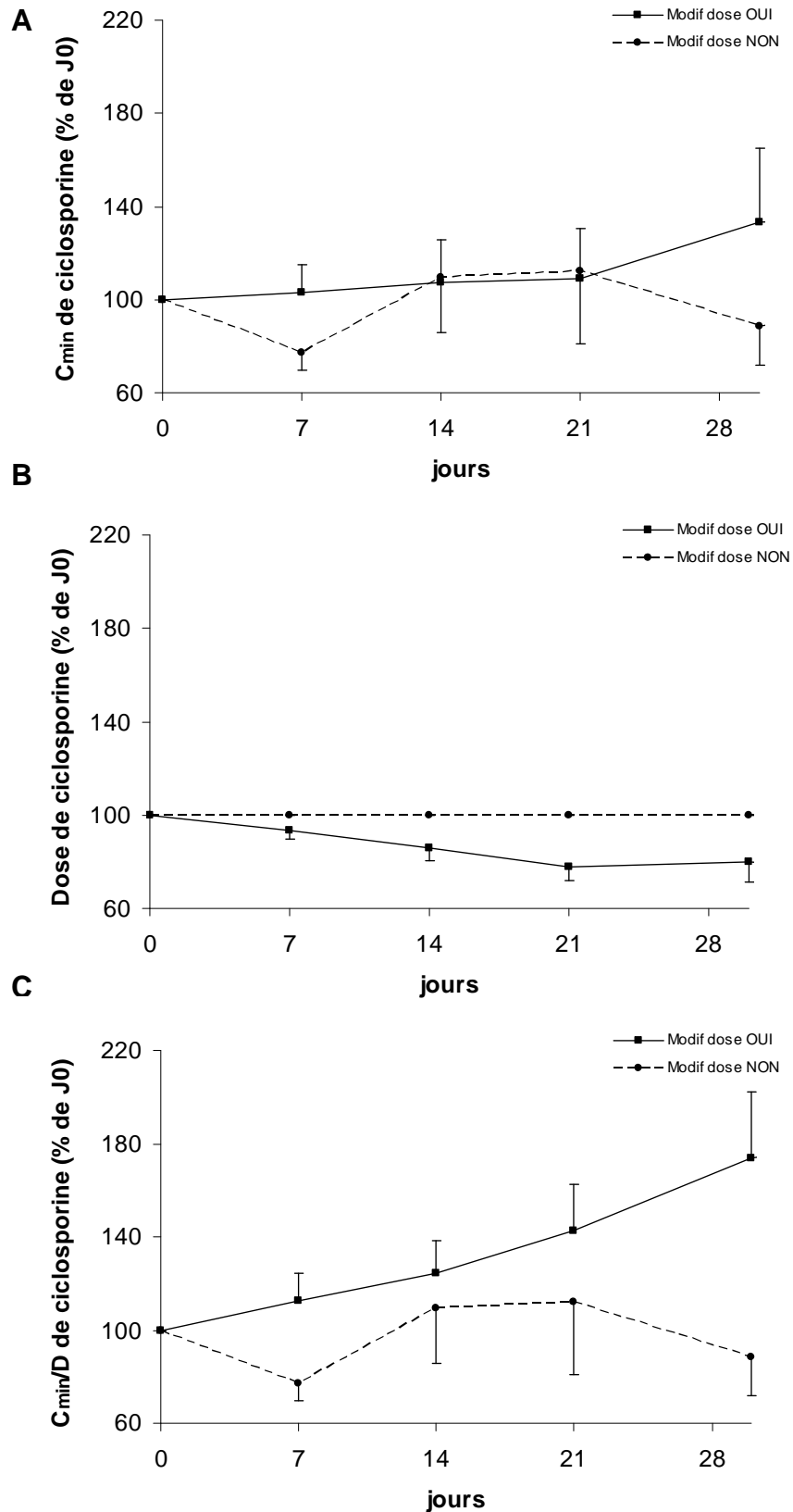


**Figure 9** : Evolution de la  $C_{min}$  (A), de la dose (B) et du rapport  $C_{min}/D$  (C) de la ciclosporine au cours du temps après instauration du PCZ, en fonction de l'association du MPA à la ciclosporine.



○ *Evolution en fonction de la modification de posologie d'IS*

Parmi les 24 patients du groupe ciclosporine, 9 n'ont eu aucune modification de posologie. Les courbes d'évolution de concentration en ciclosporine se chevauchent. Pour les patients ayant eu une modification de la posologie de ciclosporine, la dose a été diminuée jusqu'à  $77.8 \pm 22.4$  % de la dose initiale. Le rapport  $C_{\min}/D$  augmente dans le groupe modification de dose, et reste stable dans le groupe sans modification de dose (Figure 10). Cependant, l'ANOVA en mesures répétées ne montre aucune différence significative pour  $C_{\min}$  et  $C_{\min}/D$  entre les patients pour lesquels la posologie de ciclosporine a été modifiée et les autres.



**Figure 10 :** Evolution de la  $C_{min}$  (A), de la dose (B) et du rapport  $C_{min}/D$  (C) de la cyclosporine au cours du temps après instauration du PCZ, en fonction de la modification de posologie d'IS.

### 3) Relation entre les concentrations plasmatiques de traitement et l'état clinique

La  $C_{\min}$  de PCZ n'est corrélée ni à la présence d'une GVHD active ( $p=0.95$ ), ni à la clairance à la créatinine ( $p=0.36$ ), ni aux concentrations plasmatiques de  $\gamma$ GT ( $p=0.2$ ).

Par contre, la  $C_{\min}$  de PCZ est significativement corrélée à la présence de diarrhées ( $p=0.03$ ). En cas de diarrhée, la  $C_{\min}$  de PCZ diminue de près de moitié ( $1.5\pm 0.7$  mg/L en l'absence de diarrhée versus  $0.8\pm 0.5$  mg/L en cas de diarrhée,  $p<0.05$ ). La  $C_{\min}$  de PCZ reste cependant toujours au-dessus de la valeur seuil de 0.7 mg/L. Les concentrations de PCZ ne sont pas statistiquement diminuées lorsque les patients présentent une IFI ( $C_{\min}=1.3\pm 0.8$  vs  $0.7\pm 0.6$  mg/L en l'absence et en présence d'IFI respectivement,  $p=0.18$ ).

La présence de diarrhée n'a par contre pas d'incidence sur la  $C_{\min}$  de ciclosporine ( $C_{\min}=203\pm 101$  vs  $202\pm 89$  mg/L respectivement en l'absence et en présence de diarrhées) ou la  $C_{\min}$  d'évérolimus ( $C_{\min}=6.39\pm 3.93$  vs  $5.86\pm 2.57$  ng/mL).

L'influence de la mucite sur les concentrations plasmatiques a pu être évaluée dans le groupe ciclosporine (trop peu d'occurrences pour les autres groupes). Ainsi, lorsque les patients présentaient une mucite, la posologie de ciclosporine était plus élevée ( $338\pm 189$  mg/j vs  $248\pm 103$  mg/j en présence et en l'absence de mucite respectivement,  $p<0.05$ ). En revanche, les concentrations plasmatiques sans ou avec mucite ( $C_{\min}= 200\pm 93$  vs  $242\pm 152$  mg/L, respectivement,  $p=0.08$ ) étaient identiques, ainsi que le rapport C/D quel que soit l'état de la mucite du patient ( $C/D=0.80\pm 0.56$  vs  $0.88\pm 1.04$ , sans ou avec mucite respectivement,  $p=0.6$ ).

## **IV. Discussion**

### 1) Patients

#### *a. Caractéristiques des patients en fonction de l'ATF administré avant le PCZ*

Les patients du groupe VRC présentent des antécédents d'IFI, pathologie potentiellement responsable d'une dégradation de l'état général. Ceci explique que leur IMC est significativement plus bas que dans le groupe FLC. Leur clairance à la créatinine apparaît également plus basse que dans les autres groupes, bien que cela ne soit pas significatif (certainement à cause d'effectifs trop faibles dans les groupes). En effet, la clairance montre une altération de la fonction rénale (proche de l'insuffisance rénale modérée) dans le groupe VRC alors qu'elle est normale ( $>90$  mL /min) pour les deux autres groupes. Ceci est probablement lié au fait que ces patients sont plus âgés (bien qu'il n'y ait pas de différence significative, ces patients ont 5 ans de plus que ceux des autres groupes) et ont potentiellement eu des durées d'hospitalisation plus longues et des traitements plus lourds du fait de leur IFI antérieure.

Les  $\gamma$ GT sont nettement plus élevées dans le groupe VRC. En effet, cet ATF est connu pour sa toxicité hépatique (dont la survenue d'une cholestase avec élévation de  $\gamma$ GT) qui survient principalement chez les patients ayant une hémopathie maligne sous-jacente. De plus, le VRC étant prescrit chez les patients ayant des antécédents d'IFI, il n'est pas arrêté en cas d'anomalie du bilan hépatique (surtout s'il n'y a pas de manifestation clinique), le risque de réactivation d'une IFI, dont la morbidité est importante, étant élevé.

Le FLC étant prescrit en prophylaxie primaire, il sera plus facilement arrêté en cas d'élévation importante des enzymes hépatiques (atteintes cytolytiques principalement).

*b. Caractéristiques des patients en fonction du traitement IS*

Le schéma de prévention de la GVHD qui comporte de la ciclosporine en 1<sup>ère</sup> intention dès le conditionnement explique que le délai de mise sous PCZ après l'allogreffe soit plus faible pour la ciclosporine que pour l'évérolimus. Ce dernier est principalement prescrit après échec ou intolérance à la ciclosporine, donc plus tardivement après la greffe.

La différence d'âge entre les groupes ciclosporine seule et ciclosporine+MPA est proche de la significativité (ANOVA  $p=0.06$ ). Les patients ayant du MPA sont plus âgés que ceux n'ayant que de la ciclosporine, le MPA étant prescrit en prophylaxie de la GVHD après les allogreffes à conditionnement atténué mais pas après les conditionnements myéloablatifs (qui sont réservés aux patients jeunes). L'utilisation de l'évérolimus ne dépend pas du conditionnement, l'âge des patients dans ce groupe n'est donc pas significativement différent de l'âge dans les groupes ciclosporine seule ou associée au MPA.

De plus, on retrouve dans le groupe ciclosporine + MPA la majorité des patients sous voriconazole (5 des 6 patients sous VRC), qui sont plus âgés et ont une clairance plus faible. Ceci peut expliquer la tendance à avoir un âge plus élevé et une clairance diminuée dans ce sous-groupe ciclosporine associée au MPA.

2) Analyses des données pour chaque IS

*a. Groupe tacrolimus*

Seuls 2 patients recevaient du tacrolimus, ce qui est trop peu pour pouvoir en tirer des conclusions. Le traitement IS de ces 2 patients a cependant été correctement géré étant donné que les concentrations plasmatiques sont bien dans la fourchette de concentrations ciblée après l'instauration du PCZ.

*b. Groupe MPA*

Malgré le STP avec le dosage des  $C_{\min}$  de MPA, aucune adaptation posologique n'est réalisée en pratique. Il est à noter que les  $C_{\min}$  de MPA présente une forte variabilité (coefficient de variation interindividuel de l'ordre de 120%). Les  $C_{\min}$  cibles restant à définir, il est difficile, en l'état actuel des connaissances, d'adapter la posologie de MPA en fonction des concentrations résiduelles. De plus, l'aire sous la courbe (AUC) serait mieux corrélée à l'efficacité et moins variable que la  $C_{\min}$ . Cependant, la mesure d'une AUC est plus difficile à réaliser en pratique. C'est pourquoi des méthodes de mesure en trois prélèvements (prélèvements T20min, T1h, T3h après la prise) ont été proposées afin de calculer cette AUC en utilisant des estimateurs bayésiens (estimation proposée par le laboratoire de Pharmacologie du CHU de Limoges) (23).

Il se pose donc la question de la pertinence du STP basé sur les concentrations résiduelles. Il convient donc de rediscuter avec les cliniciens de la fréquence de ce dosage et de proposer la mise en place de la mesure d'une AUC à l'équilibre.

*c. Groupe évérolimus*

Suite à l'introduction du PCZ, près de la moitié des patients ont une  $C_{\min}$  d'évérolimus supérieure à la valeur maximale théorique de 8 ng/mL, mais cela n'a pas conduit à réduire la posologie. Bien qu'aucun effet indésirable n'ait été déclaré chez ces patients, il existait tout de même un risque accru de toxicité. De plus, l'effectif de ce groupe (9 patients) est faible, ce qui diminue la probabilité d'observer la survenue d'effets indésirables. Il aurait donc fallu diminuer la posologie.

On retrouve dans la littérature que l'IM entre le PCZ et l'évérolimus nécessite une diminution de la posologie d'IS, cependant, l'amplitude de cette diminution n'est pas documentée (21).

Le rapport  $C_{\min}/D$  ayant plus que doublé, il semble nécessaire de diviser la dose initiale par 2 si l'on souhaite que ce rapport reste stable, lorsque le dosage de la formulation galénique le permet (le plus petit dosage de Certican® disponible étant de 0.25mg). Il convient, lorsque la réduction de 50% n'est pas possible en pratique, de se rapprocher de ce pourcentage de réduction en arrondissant au-dessus ou au-dessous en fonction du la  $C_{\min}$  initiale (si celle-ci est déjà élevée, préférer la dose inférieure).

*d. Groupe ciclosporine*

La posologie est plus faible en chronique qu'en pré-PCZ et en PCZ aigu, ce qui est certainement lié à la phase de décroissance avant l'arrêt de la ciclosporine à distance de la poussée aiguë de GVHD. Parmi les patients sous ciclosporine, seuls 1/3 ont une  $C_{\min}$  en dehors de la zone thérapeutique. Parmi les patients ayant une  $C_{\min}$  inférieure à la fourchette ciblée, on retrouve ceux étant en décroissance.

Le STP est réalisé de la même façon lors de la phase de décroissance posologique. Or, lors de cette phase, c'est surtout la réapparition des signes de GVHD qu'il est important de surveiller. L'intérêt du dosage des  $C_{\min}$  de ciclosporine lors de cette phase pourrait être rediscuté avec les cliniciens.

Grâce aux adaptations posologiques du traitement IS, les moyennes de  $C_{\min}$  avant et après l'instauration du PCZ ne varient pas.

- ***Evolution des  $C_{\min}$  de la posologie (D) et du rapport  $C_{\min}/D$  de ciclosporine après l'introduction du PCZ***

Le rapport  $C_{\min}/D$  augmente, ce qui signifie que, pour une même dose, la  $C_{\min}$  obtenue est plus élevée. Bien que cette augmentation ne soit pas statistiquement significative du fait d'un effectif trop faible et d'une grande variabilité, cela sous-entend qu'une adaptation posologique de la ciclosporine est bien nécessaire.

La diminution moyenne de posologie chez nos patients (de l'ordre de 15%) est inférieure à celle préconisée dans la littérature lors de l'ajout de PCZ chez un patient sous ciclosporine (25%) (20). Ceci peut s'expliquer par l'utilisation antérieure d'un autre ATF azolé chez près de 3/4 de nos patients sous ciclosporine. De plus, les  $C_{\min}$  de nos patients ont tout de même légèrement augmenté, bien qu'elles soient restées dans la fourchette thérapeutique ciblée.

○ *Influence de l'ATF administré avant la mise sous PCZ*

Bien qu'on ne retrouve aucune différence significative selon l'ANOVA mesures répétées (effectifs faibles, certaines valeurs manquantes liées au recueil rétrospectif), la prophylaxie ATF antérieure à la mise sous PCZ semble avoir une influence sur l'évolution des  $C_{\min}$ , de D et de  $C_{\min}/D$ . Ceci peut s'expliquer par le fait que, pour les patients ayant un azolé avant le PCZ, il existait déjà une inhibition enzymatique du CYP 3A4. Les patients du groupe autre ont donc une augmentation des  $C_{\min}$  et du rapport  $C_{\min}/D$  plus importante.

Lors de l'instauration d'un traitement par VRC ou FLC, il est recommandé de diminuer les posologie de ciclosporine de 50 % (24) et de 21 à 51 % respectivement (18) (19) (25).

L'introduction de VRC chez un patient sous ciclosporine nécessiterait une diminution de la posologie d'IS supérieure à celle recommandée lors de l'instauration du PCZ de 25 % selon Sansone-Parsons et al. (20). On pourrait donc s'attendre à ce que, lors du passage du VRC au PCZ il soit nécessaire de ré augmenter les doses de ciclosporine, or ce n'est pas le cas chez nos patients. Cela pourrait s'expliquer par la faible posologie (200 mg/j) de PCZ administrée dans l'étude de Sansone-Parsons et al. (20). Cependant cette étude ne mentionne pas les données de concentrations plasmatiques de PCZ. Il est probable qu'elles soient inférieures à celles obtenues chez nos patients, qui présentent des valeurs moyennes de PCZ plus élevées que la plupart des études publiées (13) (25).



Parmi les patients du groupe ciclosporine, ceux n'ayant eu aucun azolé avant le PCZ sont plus à risque de présenter une concentration plasmatique élevée de ciclosporine : il convient donc d'être particulièrement vigilant sur le STP de ces derniers, afin de prévenir l'apparition de toxicité liée à la ciclosporine.

- *Influence de l'association du MPA à la ciclosporine*

Il semblerait que, lorsqu'elle est utilisée seule, la ciclosporine nécessiterait une adaptation de posologie plus importante afin de conserver la concentration initiale. Ceci s'explique certainement par une plus forte proportion de patients ayant eu un azolé avant l'instauration du PCZ dans le groupe ciclosporine + MPA (79 %) que dans le groupe ciclosporine seule (60 %). On retrouve notamment 5 patients VRC dans le groupe ciclosporine + MPA (36 %), contre 1 seul dans le groupe ciclosporine seule (10 %).

- *Evolution en fonction de la modification de posologie d'IS*

Le rapport  $C_{\min}/D$  augmente uniquement dans le groupe modification de dose. Or, on constate que 4 des 6 patients ayant eu du VRC sont dans le groupe non modification de dose (les patients VRC représentaient 44 % des patients sans modification de dose, 13 % des patients du groupe avec modification de dose).

#### 4) Relation entre les concentrations plasmatiques de traitement et l'état clinique

Nous observons des  $C_{\min}$  de PCZ plus basses lors de la survenue de diarrhées. Chez nos patients la  $C_{\min}$  de PCZ diminue de moitié lors d'épisodes de diarrhées, ce qui correspond aux données de la littérature (diminution de 59 % dans l'étude de Kohl et al. (13), et de 37 % dans l'étude de Lebeaux et al (25)).

Nous pouvons tout de même noter que, bien que plus basse qu'en l'absence de diarrhées, la  $C_{\min}$  est en moyenne toujours supérieure à la valeur seuil ( $0.8 \pm 0.5$  mg/L).

Les taux de PCZ obtenus chez nos patients sont plus élevés que ceux rapportés dans les publications. En effet, dans le l'étude de Kohl et al., la  $C_{\min}$  moyenne du PCZ utilisé en prophylaxie est de 0,36 mg/L (vs 0.8 mg/L pour nos patients) en présence de diarrhées, et de 0.84 mg/L en l'absence de diarrhées (vs 1.5 mg/L pour nos patients). Ceci est probablement lié à l'optimisation de l'absorption du PCZ, notamment administration au cours d'un repas et prise concomitante d'une boisson acide.

Contrairement au PCZ, les  $C_{\min}$  de ciclosporine et d'évérolimus ne sont pas modifiées par la survenue de diarrhées. Ceci démontre un mécanisme d'absorption des IS différent de celui du PCZ qui a la particularité d'être très dépendant du temps de contact avec la muqueuse digestive.

La majorité des patients ayant déclaré une mucite ont reçu leur ciclosporine par voie intraveineuse jusqu'à disparition de cette mucite. Il n'est donc pas possible de conclure quant à l'effet de la mucite sur l'absorption de l'IS.

On retrouve chez les patients présentant une mucite des posologies de ciclosporine plus hautes, responsables de l'obtention de  $C_{\min}$  plus élevées que chez les patients n'ayant pas de mucite. Ceci est probablement lié au fait que la mucite se déclare généralement précocement après l'allogreffe de CSH (toxicité muqueuse du conditionnement), période où l'on cherche à obtenir des  $C_{\min}$  d'IS proches de la limite supérieure de la fourchette thérapeutique afin d'éviter tout risque de rejet du greffon et de GVHD aiguë.

Il n'existe pas de différence statistiquement significative entre les  $C_{\min}$  de PCZ des patients ayant développé une IFI et les autres. On peut cependant remarquer que la  $C_{\min}$  moyenne

chez les patients ayant eu une aspergillose invasive atteignait juste la concentration seuil de 0.7mg/L. Les concentrations de PCZ ne sont pas statistiquement diminuées lorsque les patients présentent une IFI ( $C_{\min}=1.3\pm 0.8$  vs  $0.7\pm 0.6$  mg/L en l'absence et en présence d'IFI respectivement,  $p=0.18$ ).

## V. Conclusion et perspectives

D'après cette étude, les patients du groupe VRC semblent avoir des caractéristiques particulières. Il s'agit de patients plus fragiles (plus âgés, clairance plus faible,  $\gamma$ GT plus élevées), ayant des antécédents d'IFI, mais pour lesquels la mise sous PCZ modifie peu les concentrations plasmatiques d'IS. Le STP tel qu'il est réalisé, n'a donc pas besoin d'être renforcé chez ces patients malgré un état général plus dégradé.

La gestion du traitement par ciclosporine lors de l'introduction du PCZ est bonne chez les patients d'hématologie au CHU de Grenoble. Parmi ces patients, ceux n'ayant eu aucun azolé avant le PCZ sont plus à risque d'obtenir une  $C_{\min}$  d'IS élevée : il convient donc d'être particulièrement vigilant sur le STP de ces derniers.

De plus, la surveillance des  $C_{\min}$  de ciclosporine au cours de la décroissance du traitement est la même que tout au long du traitement IS. On peut se poser la question de l'intérêt de la détermination des  $C_{\min}$  de ciclosporine dans ce contexte spécifique. Le dosage pourrait dans ce cas être évité ou tout du moins être réalisé à des intervalles plus importants.

Pour les patients traités par évérolimus, il n'y a pas eu d'adaptation posologique malgré des  $C_{\min}$  trop élevées (environ la moitié des patients). Bien qu'aucune toxicité n'ait été rapportée chez nos patients, il existait tout de même un risque majoré de déclarer des effets indésirables. Il conviendrait donc d'être plus attentif au STP d'évérolimus afin d'adapter sa posologie.

En ce qui concerne le MPA, les  $C_{\min}$  cibles restant à définir, aucune adaptation de posologie n'est actuellement réalisée en fonction du STP. De plus, l'AUC serait mieux

corrélée à l'efficacité et moins variable que la  $C_{\min}$ . Il convient de rediscuter avec les cliniciens de la fréquence de ce dosage et de proposer la mesure d'une AUC à l'équilibre.

L'état clinique digestif des patients conditionne les concentrations plasmatiques de posaconazole alors qu'il est de moindre effet sur les concentrations plasmatiques d'immunosuppresseur, en particulier la ciclosporine ou l'évérolimus. Ceci confirme les données de la littérature quant à la spécificité de l'absorption du PCZ et à la forte influence des diarrhées sur la diminution de ses concentrations plasmatiques donc de son efficacité prophylactique. Or, il n'existe pas de forme injectable de PCZ dont l'utilisation permettrait de s'affranchir de l'impact des troubles digestifs sur son absorption. Il convient donc d'être particulièrement vigilant chez les patients présentant ce type de troubles digestifs afin éventuellement de proposer un switch de prophylaxie antifongique en cas de concentrations faibles de PCZ.

Ces éléments nécessiteraient d'être évalués sur une plus grande cohorte de patients, par une étude prospective afin d'avoir un recueil de données exhaustif et plus de patients pour chaque molécule immunosuppressive.

Pourront être analysés dans de prochaines études :

- l'évolution des concentrations de tacrolimus suite à l'introduction du PCZ
- l'évolution des concentrations d'évérolimus après adaptation posologique (en fonction du STP) suite à l'introduction du PCZ
- l'évolution des concentrations ou des aires sous la courbe de MPA, indépendamment du PCZ avec lequel aucune IM n'est attendue. Une étude de recherche clinique vient d'ailleurs de débuter concernant la prédiction de la survenue de GVHD par l'imprégnation de MMF per os ou IV, où le calcul des AUC de MPA est effectué selon une estimation bayésienne (étude Epigram).

# **CONCLUSION**

THESE SOUTENUE PAR : Marion DECISIER

**TITRE : Effet du posaconazole utilisé en prophylaxie des infections fongiques invasives sur le traitement immunosuppresseur des patients allogreffés de cellules souches hématopoïétiques présentant une maladie du greffon contre l'hôte.**

### CONCLUSION

Les patients allogreffés de cellules souches hématopoïétiques (CSH) et développant une maladie du greffon contre l'hôte (GVHD) sont susceptibles de déclarer une infection fongique invasive (IFI). L'efficacité et la tolérance du posaconazole (PCZ), antifongique azolé récent, justifient son utilisation comme traitement prophylactique des IFI chez ces patients, traités par immunosuppresseurs (IS) à forte dose. De par leur marge thérapeutique étroite, les IS nécessitent un suivi thérapeutique pharmacologique (STP). De plus, les IS utilisés tels que la ciclosporine, le tacrolimus et l'évérolimus subissent une métabolisation par le cytochrome P450 (CYP450) 3A4. D'autre part, ces molécules sont des substrats de la glycoprotéine P (P-gp), protéine d'efflux au niveau digestif. Le PCZ, inhibiteur du CYP450 mais également de la P-gp est donc à l'origine d'interactions médicamenteuses, notamment avec les IS, pouvant majorer leur toxicité par l'augmentation de leurs concentrations plasmatiques. Ainsi, lors de l'introduction du PCZ chez des patients recevant un IS, il est recommandé de diminuer la posologie de l'IS, de façon bien documentée chez le sujet sain ou les patients transplantés d'organe pour la ciclosporine (25%) ou le tacrolimus (66%), moins pour l'évérolimus. Peu de données existent concernant les patients développant une GVHD, population particulière notamment au regard de leurs atteintes fréquentes du tube digestif (GVHD, infections à cytomégalovirus) pouvant modifier l'absorption des médicaments administrés *per os*. De plus, leur prophylaxie par PCZ est souvent précédée d'une prophylaxie primaire par fluconazole (FLC) ou secondaire par voriconazole (VRC), autres antifongiques azolés pouvant également être à l'origine d'interactions médicamenteuses.

L'objectif de notre travail était donc d'étudier les effets de l'introduction du PCZ sur les concentrations plasmatiques et la posologie des IS utilisés dans cette population spécifique afin d'apporter des éléments utiles aux cliniciens dans la gestion de ces traitements (modifications des concentrations plasmatiques, nécessité d'adaptation posologique ou non, groupes de patients particuliers).

Ainsi, nous avons réalisé une étude rétrospective sur 32 patients du service d'hématologie du CHU de Grenoble, allogreffés de CSH entre janvier 2009 et décembre 2010 et présentant une GVHD, recevant un traitement prophylactique des IFI par PCZ et pour lesquels un STP d'IS était disponible. Le dosage des concentrations plasmatiques résiduelles ( $C_{min}$ ) d'IS et de PCZ a été réalisé par chromatographie liquide couplée à une spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS) dans le cadre du STP classique des patients, à J0, J7, J14, J21 et J30 après introduction de PCZ. La posologie (D) des traitements ainsi que certains éléments cliniques ont été recueillis à partir des fiches remplis par les cliniciens lors de la visite hebdomadaire de suivi classique des patients. Parmi ces 32 patients (sex ratio H/F: 23/14, âge :  $48.3 \pm 11.8$  ans, IMC :  $22.5 \pm 3.6$  kg/m<sup>2</sup>), 5 ont eu 2 périodes de traitement par PCZ, ainsi 37 passages sous PCZ ont été analysés. Lors de

l'introduction du PCZ, les patients étaient traités par : ciclosporine seule (n=10) ou en association à l'acide mycophénolique (MPA) (n=14), MPA (n=3), évérolimus (n=8), évérolimus + tacrolimus (n=1) ou tacrolimus seul (n=1). Les  $C_{\min}$  de MPA étaient très variables ( $1.2 \pm 1.8$  mg/L) et ne conduisaient pas à une adaptation posologique. Les  $C_{\min}$  de PCZ étaient comparables pour les patients traités par ciclosporine seule ( $1.2 \pm 0.7$  mg/L), en association au MPA ( $1.3 \pm 1.0$  mg/L) ou par évérolimus ( $1.5 \pm 0.9$  mg/L). Au vu des effectifs et de l'équivalence des concentrations de PCZ suivant l'IS reçu, 2 groupes de patients ont été constitués : ciclosporine et évérolimus.

Dans le groupe évérolimus, aucune adaptation posologique n'a été réalisée, la  $C_{\min}$  initiale en évérolimus était de  $4.9 \pm 3.2$  ng/mL. La  $C_{\min}$  d'IS ( $p=0.002$ ,  $R^2=0.35$ ) et le rapport C/D ( $p=0.0009$ ,  $R^2=0.4$ ) étaient corrélés à la  $C_{\min}$  de PCZ. Chez 8 patients (88%), la  $C_{\min}$  augmentait après l'introduction du PCZ, au-dessus de la fourchette thérapeutique pour 4 patients (44%). Les  $C_{\min}$  d'IS étaient de  $227.5 \pm 102.8\%$  à J21 après introduction du PCZ, sans atteindre la significativité statistique par rapport à la période pré PCZ.

Dans le groupe ciclosporine, la  $C_{\min}$  initiale était de  $219.4 \pm 94.1$  mg/L. La  $C_{\min}$  ( $p=0.05$ ,  $R^2=0.036$ ) et le rapport C/D ( $p=0.04$ ,  $R^2=0.038$ ) étaient corrélés à la  $C_{\min}$  de PCZ. Après l'instauration du PCZ, 7 patients (29%) présentaient une  $C_{\min}$  en dehors de la fourchette cible. A 30 j de l'introduction du PCZ, la  $C_{\min}$  était de  $121.9 \pm 84.8\%$ , les doses de  $80.3 \pm 20.8\%$  de la posologie initiale et le rapport C/D augmentait jusqu'à  $162.9 \pm 89.2\%$ , sans atteindre la significativité statistique. Des sous-groupes ont été constitués en fonction de l'antifongique utilisé avant le PCZ. La  $C_{\min}$  était stable pour les groupes ayant eu un azolé avant la mise sous PCZ (à J30 :  $103.1 \pm 14.2\%$  pour le VRC (n=6)  $114.7 \pm 99.5\%$  pour le FLC (n=11)), alors qu'elle avait tendance à augmenter jusqu'à  $178.0 \pm 72.8\%$ , se traduisant également par une tendance à l'augmentation du rapport C/D ( $199.9 \pm 47\%$ ) pour le groupe autre (n=7, pas d'azolé avant la mise sous PCZ).

La gestion du traitement par ciclosporine lors de l'introduction du PCZ est bonne chez les patients d'hématologie au CHU de Grenoble. Parmi ces patients, ceux n'ayant eu aucun azolé avant le PCZ sont plus à risque d'obtenir une  $C_{\min}$  d'IS élevée : il convient donc d'être particulièrement vigilant sur le STP de ces derniers. Pour les patients traités par évérolimus, il n'y a pas eu d'adaptation posologique malgré des  $C_{\min}$  trop élevées (environ la moitié des patients). Il conviendrait donc d'être plus vigilant au STP d'évérolimus afin d'adapter sa posologie.

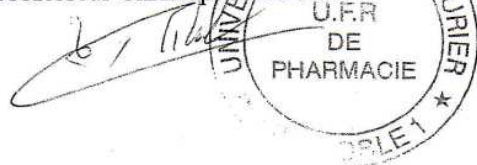
Ces éléments nécessiteraient d'être évalués sur une plus grande cohorte de patients, par une étude prospective afin d'avoir un recueil de données exhaustif et plus de patients par molécule immunosuppressive : évolution des concentrations de tacrolimus, d'évérolimus après adaptation posologique, évolution des concentrations ou des aires sous la courbe (mieux corrélée à l'efficacité et moins variable que la  $C_{\min}$ ) de MPA.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER

Grenoble, le 15 mai 2011

LE DOYEN

Professeur Christophe RIBUOT



LE PRESIDENT DE LA THESE

Professeur Christophe RIBUOT



## **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

1. Parquet N, Reigneau O, Humbert H, Guignard M, Ribaud P, Socié G, et al. New oral formulation of cyclosporin A (Neoral) pharmacokinetics in allogeneic bone marrow transplant recipients. *Bone Marrow Transplant*. 2000 mai;25(9):965–8.
2. Arora M. Therapy of chronic graft-versus-host disease. *Best Pract Res Clin Haematol*. 2008 juin;21(2):271–9.
3. Koc S, Leisenring W, Flowers MED, Anasetti C, Deeg HJ, Nash RA, et al. Therapy for chronic graft-versus-host disease: a randomized trial comparing cyclosporine plus prednisone versus prednisone alone. *Blood*. 2002 juill 1;100(1):48–51.
4. Schieveen PG-van, Royer B. Niveau de preuve du suivi thérapeutique pharmacologique de l'acide mycophénolique administré pour la prévention des réactions du greffon contre l'hôte au cours des greffes de cellules souches avec un conditionnement réduit. *Thérapie*. 2011 été;66(1):51–5.
5. Jantunen E, Ruutu P, Niskanen L, Volin L, Parkkali T, Koukila-Kähkölä P, et al. Incidence and risk factors for invasive fungal infections in allogeneic BMT recipients. *Bone Marrow Transplant*. 1997 avr;19(8):801–8.
6. Lass-Flörl C. The changing face of epidemiology of invasive fungal disease in Europe. *Mycoses*. 2009 mai;52(3):197–205.
7. Maertens JA, Frère P, Lass-Flörl C, Heinz W, Cornely OA. Primary antifungal prophylaxis in leukaemia patients. *European Journal of Cancer Supplements*. 2007 juill;5(2):43–8.
8. Maertens J, Marchetti O, Herbrecht R, Cornely OA, Flückiger U, Frère P, et al. European guidelines for antifungal management in leukemia and hematopoietic stem cell transplant recipients: summary of the ECIL 3--2009 update. *Bone Marrow Transplant*. 2011 mai;46(5):709–18.
9. Ullmann AJ, Lipton JH, Vesole DH, Chandrasekar P, Langston A, Tarantolo SR, et al. Posaconazole or fluconazole for prophylaxis in severe graft-versus-host disease. *N. Engl. J. Med*. 2007 janv 25;356(4):335–47.
10. Courtney R, Pai S, Laughlin M, Lim J, Batra V. Pharmacokinetics, safety, and tolerability of oral posaconazole administered in single and multiple doses in healthy adults. *Antimicrob. Agents Chemother*. 2003 sept;47(9):2788–95.
11. Krishna G, Martinho M, Chandrasekar P, Ullmann AJ, Patino H. Pharmacokinetics of oral posaconazole in allogeneic hematopoietic stem cell transplant recipients with graft-versus-host disease. *Pharmacotherapy*. 2007 déc;27(12):1627–36.
12. Krishna G, Moton A, Ma L, Medlock MM, McLeod J. Pharmacokinetics and absorption of posaconazole oral suspension under various gastric conditions in healthy volunteers. *Antimicrob. Agents Chemother*. 2009 mars;53(3):958–66.

13. Kohl V, Müller C, Cornely OA, Abduljalil K, Fuhr U, Vehreschild JJ, et al. Factors influencing pharmacokinetics of prophylactic posaconazole in patients undergoing allogeneic stem cell transplantation. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2010 janv;54(1):207–12.
14. Wexler D, Courtney R, Richards W, Banfield C, Lim J, Laughlin M. Effect of posaconazole on cytochrome P450 enzymes: a randomized, open-label, two-way crossover study. *Eur J Pharm Sci.* 2004 avr;21(5):645–53.
15. Walsh TJ, Raad I, Patterson TF, Chandrasekar P, Donowitz GR, Graybill R, et al. Treatment of invasive aspergillosis with posaconazole in patients who are refractory to or intolerant of conventional therapy: an externally controlled trial. *Clin. Infect. Dis.* 2007 janv 1;44(1):2–12.
16. Lefeuvre S, Jelassi M-L, Benmouden A, Berge M, Le Guellec C, Billaud EM. Niveau de preuve du suivi thérapeutique pharmacologique du posaconazole. *Thérapie.* 2011 hiver;66(2):115–22.
17. Jang SH, Colangelo PM, Gobburu JVS. Exposure-response of posaconazole used for prophylaxis against invasive fungal infections: evaluating the need to adjust doses based on drug concentrations in plasma. *Clin. Pharmacol. Ther.* 2010 juill;88(1):115–9.
18. Dodds-Ashley E. Management of drug and food interactions with azole antifungal agents in transplant recipients. *Pharmacotherapy.* 2010 août;30(8):842–54.
19. Saad AH, DePestel DD, Carver PL. Factors influencing the magnitude and clinical significance of drug interactions between azole antifungals and select immunosuppressants. *Pharmacotherapy.* 2006 déc;26(12):1730–44.
20. Sansone-Parsons A, Krishna G, Martinho M, Kantesaria B, Gelone S, Mant TG. Effect of oral posaconazole on the pharmacokinetics of cyclosporine and tacrolimus. *Pharmacotherapy.* 2007 juin;27(6):825–34.
21. Lipp H-P. Posaconazole: clinical pharmacokinetics and drug interactions. *Mycoses.* 2011 janv;54 Suppl 1:32–8.
22. Berruyer A-S. Intérêt du suivi thérapeutique pharmacologique du posaconazole en prophylaxie des aspergilloses invasives [Thèse d'exercice]. Université Joseph Fourier (Grenoble); 2010.
23. Saint-Marcoux F, Royer B, Debord J, Larosa F, Legrand F, Deconinck E, et al. Pharmacokinetic modelling and development of Bayesian estimators for therapeutic drug monitoring of mycophenolate mofetil in reduced-intensity haematopoietic stem cell transplantation. *Clin Pharmacokinet.* 2009;48(10):667–75.
24. Romero AJ, Le Pogamp P, Nilsson L-G, Wood N. Effect of voriconazole on the pharmacokinetics of cyclosporine in renal transplant patients. *Clin. Pharmacol. Ther.* 2002 avr;71(4):226–34.
25. Lebeaux D, Lanternier F, Elie C, Suarez F, Buzyn A, Viard J-P, et al. Therapeutic drug monitoring of posaconazole: a monocentric study with 54 adults. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2009 déc;53(12):5224–9.



# Serment des Apothicaire



**Je jure, en présence des maîtres de la faculté, des conseillers de l'ordre des pharmaciens et de mes condisciples :**

**D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.**

**D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.**

**De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine ; en aucun cas je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.**

**Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses. Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.**

**Effet du posaconazole utilisé en prophylaxie des infections fongiques invasives sur le traitement immunosuppresseur des patients allogreffés de cellules souches hématopoïétiques présentant une maladie du greffon contre l'hôte.**

Soutenue le 30 novembre 2011 par Marion DECISIER

**Résumé :**

Introduction : Le posaconazole (PCZ), est utilisé en prophylaxie des infections fongiques chez les patients allogreffés développant une maladie du greffon contre l'hôte (GVHD) et traités par immunosuppresseurs (IS). Il existe une interaction entre les IS (ciclosporine, tacrolimus, évérolimus) et le PCZ, celui-ci étant un inhibiteur du cytochrome P450 et de la glycoprotéine P (augmentation des concentrations plasmatiques d'IS). Cependant, cette interaction reste peu caractérisée chez les patients allogreffés développant une GVHD.

Objectif : Etudier les effets de l'introduction du PCZ sur les concentrations plasmatiques ( $C_{min}$ ) et la posologie des IS utilisés dans cette population spécifique afin d'apporter des éléments utiles aux cliniciens dans la gestion de ces traitements.

Matériel et méthode : Etude rétrospective sur 32 patients allogreffés de cellules souches hématopoïétiques au CHU de Grenoble, présentant une GVHD, recevant un traitement prophylactique des IFI par PCZ et sous traitement IS. Les  $C_{min}$  d'IS et de PCZ ont été déterminées à J0, J7, J14, J21 et J30 après introduction du PCZ par des méthodes de quantification validées en LC-MS/MS. La posologie (D) des traitements ainsi que certains éléments cliniques ont été recueillis.

Résultats : Parmi ces 32 patients (sex ratio H/F: 23/14, âge :  $48.3 \pm 11.8$  ans), 5 ont eu 2 périodes de traitement par PCZ. Dans le groupe évérolimus ( $n=9$ ), aucune adaptation posologique n'a été réalisée. Chez 8 patients (88%), la  $C_{min}$  augmentait après l'introduction du PCZ, et était au-dessus de la fourchette thérapeutique pour 4 patients (44%).

Dans le groupe ciclosporine ( $n=24$ ), après l'instauration du PCZ, 7 patients (29%) présentaient une  $C_{min}$  en dehors de la fourchette cible. A 30 j de l'introduction du PCZ, la  $C_{min}$  était à  $121.9 \pm 84.8\%$  de la  $C_{min}$  initiale, les doses à  $80.3 \pm 20.8\%$  et le rapport  $C_{min}/D$  augmentait jusqu'à  $162.9 \pm 89.2\%$ , sans atteindre la significativité statistique. La  $C_{min}$  était stable pour les groupes ayant eu un azolé avant la mise sous PCZ, alors qu'elle augmentait jusqu'à  $178.0 \pm 72.8\%$  pour les patients sans azolé avant la mise sous PCZ. Le rapport  $C_{min}/D$  des patients sans azolé a également augmenté ( $199.9 \pm 47\%$ ).

Discussion/Conclusion : La gestion du traitement par ciclosporine lors de l'introduction du PCZ est bonne. Les patients n'ayant eu aucun azolé avant le PCZ sont plus à risque d'obtenir une  $C_{min}$  d'IS élevée. Il faudrait être plus vigilant au STP des patients traités par évérolimus, afin d'adapter sa posologie. Ces éléments nécessiteraient d'être évalués sur une plus grande cohorte de patients, et par une étude prospective afin d'avoir un recueil de données exhaustif.

**Mots clés** : posaconazole, immunosuppresseurs, maladie du greffon contre l'hôte, suivi thérapeutique pharmacologique, interaction médicamenteuse

**Jury** : Monsieur le Professeur Christophe RIBUOT, président du jury  
Madame le Docteur Julia TONINI, directrice de thèse  
Monsieur le Docteur Olivier MATHIEU  
Madame le Docteur Chrystelle REY  
Madame le Docteur Anne THIEBAUT-BERTRAND

Adresse mail : [mdecisier@yahoo.fr](mailto:mdecisier@yahoo.fr)