HAL
open science

Recherche de facteurs de risque de toxicité du méthotrexate haute dose chez les patients adultes traités pour une hémopathie lymphoïde

Jean Gallot-Lavallée

To cite this version:

Jean Gallot-Lavallée. Recherche de facteurs de risque de toxicité du méthotrexate haute dose chez les patients adultes traités pour une hémopathie lymphoïde. Sciences pharmaceutiques. 2019. dumas-02103420

HAL Id: dumas-02103420

https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-02103420

Submitted on 18 Apr 2019

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.

U.F.R. DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

Année 2019 Thèse n°34

THÈSE POUR L'OBTENTION DU

DIPLÔME D'ÉTAT de DOCTEUR EN PHARMACIE

Présentée et soutenue publiquement

Par GALLOT-LAVALLÉE Jean, Aurélien, Marie

Né le 05/12/1991 à Lyon 07

Le 12 avril 2019

RECHERCHE DE FACTEURS DE RISQUE DE TOXICITÉ DU MÉTHOTREXATE HAUTE DOSE CHEZ LES PATIENTS ADULTES TRAITÉS POUR UNE HÉMOPATHIE LYMPHOÏDE

Sous la direction du Docteur Florent PUISSET

Membres du jury :

Professeur SAUX Marie-Claude	Présidente
Docteur OBERIC Lucie	Examinatrice
Docteur PERRIAT Sophie	Examinatrice
Docteur PUISSET Florent	Examinateur

Remerciements professionnels

Au Dr Florent Puisset,
Merci de m'avoir confié ce travail et de l'avoir si bien encadré. Tu es un exemple pour tes internes !

Au Pr Marie-Claude Saux,
Vous me faites l'honneur de présider le jury de cette thèse. Veuillez trouver ici l'expression de mes sincères remerciements.

Au Dr Sophie Perriat,
Merci d'avoir accepté de faire partie de mon jury. J'ai beaucoup apprécié ton encadrement lors de mon semestre à l'IUC.

Au Dr Lucie Oberic,
Je vous remercie d'apporter votre expertise clinique à l'évaluation de mon travail. Veuillez trouver ici l'expression de ma reconnaissance.

À toutes celles et ceux qui ont participé à ma formation durant ces années d'internat : les équipes des CHU de Bordeaux et de Toulouse, de l'Oncopôle et des CH de Bayonne et d'Albi.

Remerciements personnels

Papa et Maman, pour m'avoir permis de grandir dans un cadre idéal et pour votre soutien depuis toujours.

Lucie, Chloé, Marianne pour être des sœurs rêvées, aux côtés desquelles je suis chanceux d'avoir grandi et avec qui je suis ravi d'aborder la suite.

Augustin, Grégoire, Alexandre, Arthur, les cousins adorés et amis précieux, pour tout ce qu'on a partagé depuis notre enfance, et ce qui va suivre.

Les autres cousins et cousines, sacrée tribu qu'il est si agréable de retrouver à chaque occasion.

Grand-Père et Grannie, Papout et Mamoute, pour avoir pondu une si chouette famille que vous couvez de votre regard aimant, et pour l'exemple que vous nous montrez.

Estelle et Aurélien, pour votre bienveillance qui m'accompagne depuis toujours.

Benoît et Astrid, Timothée et Camille, pour tous ces moments de jeunesse passés ensemble, cette amitié forte. Je suis heureux et fier d'être témoin de vos mariages !

Evans, Charlyne et Aylin, pour cette belle amitié qui dure depuis bientôt 20 ans et à laquelle je tiens tant.

Les berjallien(ne)s : Agnès, Nicolas, Victor, Manu, Marjorie, Adeline, Hugo, Michel, Caroline. Pour avoir enchanté mes jeunes années.

Les lyonnais(es) : Nicolas et Edwige, Manuella, Fatih et Matthieu, César. Pour ces drôles d'années de fac passées ensemble.

Les bordelais(es) : Nicolas, Solène, Cécile, Thibault, Simon, Margaux. Pour ce début d'internat passé en votre très bonne compagnie.

Les toulousain(e)s :
Élise et Solène, pour votre soif de rencontres, de découvertes et de fête, qui a égayé mon arrivée à Toulouse. Mention spéciale à Élise pour ta relecture patiente et pertinente de ma thèse.
Loïc, Caroline, Laura, Chloé, Charlotte, Margaux, Franfran, Corentin, Eve-Marie, Amélie, Lorène, Mathilde. Pour ces moments passés ensemble dans notre belle ville rose ou à l'autre bout du Monde.
Olivier et Ianis, pour avoir été des supers colocs. Merci Olivier pour ton aide dans les statistiques.

Les bayonnais(es) : Alix, Camille, Mathieu, Arnaud : pour ce chouette semestre à Bayonne, votre sens de la fête, les aventures passées et à venir.

Table des matières

Liste des abréviations, sigles et acronymes 8
Liste des figures 10
Liste des tableaux 11
Introduction Générale 13
Partie I : Méthotrexate Haute Dose : revue de la littérature 15
I. Propriétés physico-chimiques, présentations, stabilité 15
1. Propriétés physico-chimiques 15
2. Présentations et stabilité 16
II. Mécanisme d'action 17
1. Prérequis : Physiologie des folates 17
a) Structures, apports et métabolisme 17
b) Rôle dans la synthèse d'ADN et d'ARN 18
c) Exploration 20
d) Carence 20
2. Mécanisme d'action du méthotrexate 21
III. Utilisations actuelles du méthotrexate haute dose chez l'adulte 23
1. Lymphomes Non Hodgkiniens 23
a) Lymphomes Primitifs du Système Nerveux Central 23
b) Lymphomes B Diffus à Grandes Cellules 24
c) Lymphomes de Burkitt 25
2. Leucémies Aiguës Lymphoblastiques 27
IV. Pharmacocinétique 28
1. Distribution 28
2. Métabolisation 29
3. Élimination 30
a) Prérequis : physiologie de l'élimination rénale 30
b) Élimination du méthotrexate 32
4. Pharmacocinétique de population 34
V. Contre-Indications et Interactions Médicamenteuses 36
1. Contre-Indications 36
2. Associations déconseillées 36
3. Précautions d'emploi 37
4. Associations à prendre en compte 37

VI. Posologie, Mode d'administration, Prévention de la toxicité, Surveillance 39
1. Posologie 39
a) Dans l'ostéosarcome 40
b) Dans le Lymphome Primitif du Système Nerveux Central 41
c) Dans les autres hémopathies lymphoïdes 42
2. Hyperhydratation alcaline 44
3. Sauvetage par l'acide folinique 46
4. Surveillance après administration 48
VII. Pharmacogénétique et Résistances 49
1. Pharmacogénétique 49
2. Résistances au méthotrexate 51
VIII. Toxicités et facteurs de risque 52
1. Toxicités non rénales 52
a) Description 52
b) Rôle du retard d'élimination du méthotrexate 56
2. Néphrotoxicité 60
IX. Gestion du surdosage et de la toxicité 64
1. Approche conventionnelle 64
2. Élimination du méthotrexate circulant 66
a) Épuration extra-corporelle 66
b) Utilisation de la Carboxypeptidase G2 66
Partie 2 : Recherche de facteurs de susceptibilité à la toxicité du méthotrexate haute dose chez les patients adultes traités pour une hémopathie lymphoïde 75
I. Introduction - Objectifs 75
II. Patients et Méthodes 77
1. Patients et données recueillies 77
2. Analyse statistique des données 79
III. Résultats 80
1. Patients 80
2. Traitement 82
3. Toxicités 83
4. Utilisation de la Carboxypeptidase G2 84
a) Conditions du recours à l'antidote 84
b) Efficacité de la Carboxypeptidase G2 84

5. Recherche de facteurs de risque 85
a) Toxicité rénale 85
b) Toxicité hématologique 86
c) Toxicité hépatique 87
IV. Discussion 88
1. Toxicité rénale 88
2. Toxicité hématologique 90
3. Toxicité hépatique 91
4. Patients avec une surface corporelle supérieure à 2 m² 92
5. Administration de Carboxypeptidase G2 92
6. Limites de l'étude 92
Conclusion générale 93
Bibliographie 95

Liste des abréviations, sigles et acronymes

7-OH-MTX : 7-hydroxy-méthotrexate

ADN : Acide DésoxyriboNucléique

AICAR : Amino-Imidazole CarboxAmide Ribonucléotide

AINS : Anti-Inflammatoire Non Stéroïdien

ALAT : Alanine Aminotransférase

ANSM : Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé

ARN : Acide RiboNucléique

ASAT : Aspartate Aminotransférase

ASCO : American Society of Clinical Oncology

ATC : Anatomique, Thérapeutique et Chimique

ATP : Adénosine TriPhosphate

ATU : Autorisation Temporaire d'Utilisation

AUC : Aire Sous la Courbe (Area Under the Curve)

BCNU : Carmustine

BHE : Barrière Hémato-Encéphalique

CPG2 : Carboxypeptidase G2

CTCAE : Common Terminology Criteria for Adverse Events

DAMPA : Acide 2,4 diamino-N-(10) méthylptéroïque

DFG : Débit de Filtration Glomérulaire

DHFR : Dihydrofolate Réductase

FDA : Food and Drug Administration

FPIA : Fluorescence Polarization Immunoassay

G5% : Sérum contenant 5% de glucose

GAR : GlycinAmide Ribonucléotide

GGT : GammaGlutamyl Transférase

HPLC : Chromatographie Liquide à Haute Pression (High Pressure Liquid Chromatography)

IEC : Inhibiteur de l'Enzyme de Conversion

IMC : Indice de Masse Corporelle

IMP : Inosine-5'-MonoPhosphate

IPP : Inhibiteur de la Pompe à Protons

IRA : Insuffisance Rénale Aiguë

IT : Intrathécal

IV : Intraveineux

LAL : Leucémie Aiguë Lymphoblastique

LCR : Liquide Céphalo-Rachidien

LNH : Lymphome Non Hodgkinien

MRP : Multidrug Resistance Protein

MTHFR : 5,10-Méthylènetétrahydrofolate Réductase

MTX : Méthotrexate

MTXémie : Méthotrexatémie

NaCl 0,9% : Sérum salé isotonique contenant 0,9% de chlorure de sodium

OAT : Organic Anion Transporter

OMEDIT : Observatoire du Médicament, des Dispositifs Médicaux et de l'Innovation Thérapeutique

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

PO : *Per os*

PVC : PolyVinylChlorure

RCP : Résumé des Caractéristiques du Produit

RFC : Reduced Folate Carrier

SC : Sous-Cutané

SNC : Système Nerveux Central

SNP : Single Nucleotide Polymorphism

TS : Thymidylate Synthase

VP16 : Étoposide

Liste des figures

Figure 1 : Structures de l'acide tétrahydrofolique et du méthotrexate 15
Figure 2 : Formule développée de l'Acide Folique.. 17
Figure 3 : Acide Folinique..... 18
Figure 4 : Synthèse des purines 19
Figure 5 : Synthèse de la thymidine 20
Figure 6 : Enzymes cibles du méthotrexate..... 22
Figure 7 : Structure du néphron..... 30
Figure 8 : Néphron 31
Figure 9 : Cellule tubulaire proximale et hépatocyte 34
Figure 10 : Adaptation du sauvetage par l'acide folinique en fonction de la méthotrexatémie 47
Figure 11 : Cristaux de méthotrexate observés au microscope 62
Figure 12 : Mode d'action de la Carboxypeptidase G2 67
Figure 13: Arbre décisionnel pour l'administration de Carboxypeptidase G2 74
Figure 14 : Répartition de la dose de méthotrexate..... 81
Figure 15 : Ratio de créatininémie prédit en fonction du ratio observé 86

Liste des tableaux

Tableau 1 : Données de stabilité du méthotrexate dilué 16
Tableau 2: Protocole de sauvetage par acide folinique de l'étude GRAALL 47
Tableau 3 : Effets Indésirables du méthotrexate mentionnés dans le RCP français 52
Tableau 4 : Conduite à tenir en cas d'élimination retardée du méthotrexate 64
Tableau 5 : Recommandations pour la gestion de l'élimination retardée du méthotrexate 65
Tableau 6 : Tableau décisionnel en cas de surdosage au méthotrexate – OMEDIT Centre 2008 72
Tableau 7 : Méthotrexatémies moyennes et pathologiques – population pédiatrique 73
Tableau 8 : Méthotrexatémies moyennes et pathologiques – population adulte 73
Tableau 9 : Informations recueillies 77
Tableau 10 : Caractéristiques de la population générale (variables continues). 80
Tableau 11 : Caractéristiques de la population générale (variables binaires). 81
Tableau 12 : Protocoles reçus par les patients. 82
Tableau 13 : Incidence des toxicités en % (nombre) 83
Tableau 14 : Analyse statistique des facteurs influençant la toxicité rénale du méthotrexate 85
Tableau 15 : Analyse statistique des facteurs influençant la toxicité hématologique du méthotrexate. 86
Tableau 16 : Analyse statistique des facteurs influençant la toxicité hépatique du méthotrexate. 87

Introduction Générale

Le méthotrexate haute dose (≥ 500 mg/m²) est une chimiothérapie largement utilisée dans le traitement des Leucémies Aigües Lymphoblastiques et de certains Lymphomes Non Hodgkiniens et ostéosarcomes de haut grade de malignité. Il a permis d'améliorer notablement le pronostic de ces pathologies.

Sa marge thérapeutique est large, permettant l'usage de doses très élevées dans le but d'optimiser son efficacité.

Malgré le recul sur son utilisation, l'identification partielle des mécanismes de sa toxicité et l'amélioration des pratiques visant à réduire son incidence, une part non négligeable des patients développe une toxicité au méthotrexate. Cette toxicité est le plus souvent bénigne, mais peut également mettre en jeu le pronostic vital. Il n'est à l'heure actuelle pas possible de prédire quels patients la développeront.

Notre étude part de ce constat.
La première partie de notre travail consiste en une revue de la littérature concernant le méthotrexate haute dose.
La seconde décrit l'étude rétrospective que nous avons réalisée au sein de l'Institut Universitaire du Cancer de Toulouse afin de connaître l'incidence des toxicités rénale, hématologique et hépatique en pratique courante chez les patients adultes traités par méthotrexate haute dose pour une hémopathie lymphoïde, et de tenter de mettre en évidence des caractéristiques associées à une augmentation du risque de toxicité.

Partie I : Méthotrexate Haute Dose : revue de la littérature

I. Propriétés physico-chimiques, présentations, stabilité

1. Propriétés physico-chimiques

Le méthotrexate est une molécule dont la structure présente de nombreuses similarités avec celle des folates naturels (**figure 1**).

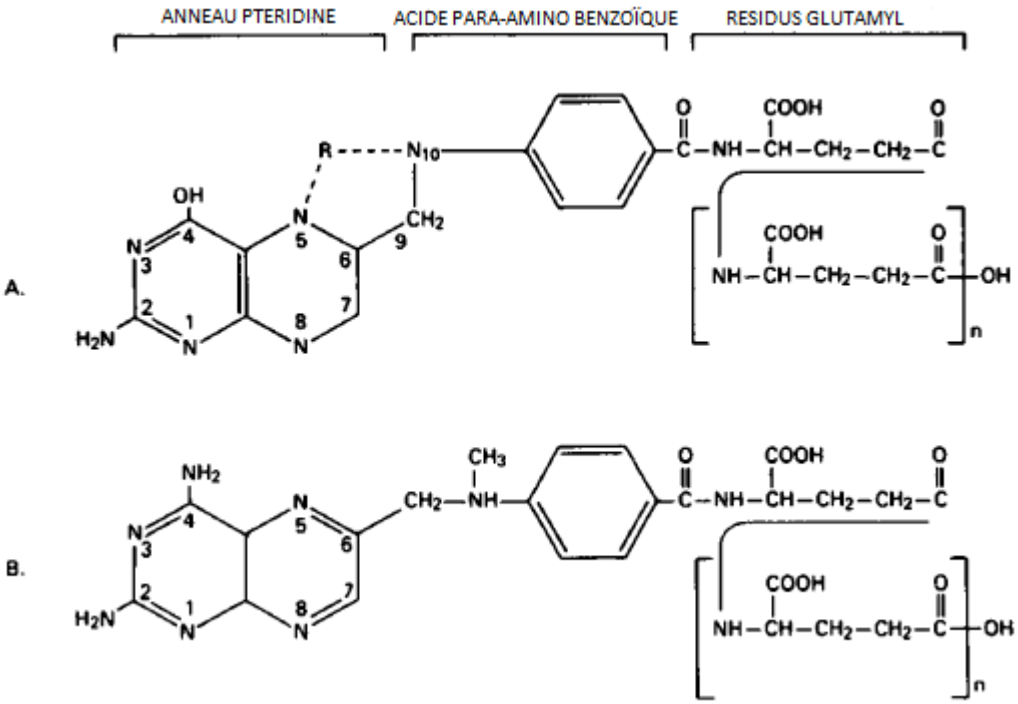

Figure 1 : Structures de l'acide tétrahydrofolique (A) et du méthotrexate (B). D'après Jolivet et al. (1)

Ses différents noms chimiques sont :

- Acide N-[4-[[2,4-diamino-6-pteridinyl) methyl]methylamino]benzoyl]-L-glutamique
- Acide 4-amino-10-methylfolique
- Acide 4-amino-N(10)-methylpteroylglutamique
- Acide (2S)-2-[(4-{[(2,4-diaminopteridin-6-yl)methyl](methyl)amino}phenyl)formamido] pentane dioïque

Sa formule chimique est : $C_{20}H_{22}N_8O_5$.

Sa masse moléculaire est de 454,45 g/mol.

Son Log P est de - 1,85. Le méthotrexate est un acide organique faible chargé négativement à pH neutre, avec une mauvaise solubilité lipidique impliquant une diffusion lente et une accumulation faible dans les membranes biologiques.

2. Présentations et stabilité

Le méthotrexate est inscrit en France sur la liste 1 des substances vénéneuses. Son usage à hautes doses est réservé aux services hospitaliers.
Il fait partie de la liste des médicaments essentiels de l'Organisation Mondiale de la Santé.

Les présentations utilisées dans les indications oncologiques hors administration intrathécale (IT) sont les suivantes :

- Méthotrexate 1G/10 mL solution à diluer.
- Méthotrexate 500mg/20 mL solution à diluer.
- Méthotrexate 5G/200 mL solution à diluer.
- Méthotrexate 5G/50 mL solution à diluer.

Elles sont utilisables par voies Intraveineuse (IV), Sous-Cutanée (SC), Intra-Artérielle et Intra-Musculaire.

Avant dilution, le produit peut être conservé 2 ans à une température inférieure à 25°C et à l'abri de la lumière.

Le Résumé des Caractéristiques du Produit français (2) précise que la dilution doit être effectuée dans un local de préparation réservé à cet usage, par du personnel portant un équipement de protection individuel. L'élimination des déchets contaminés se fait par incinération dans des conteneurs rigides étiquetés à cet effet.

La dilution peut être effectuée dans du sérum salé isotonique (NaCl 0,9%) ou du sérum glucosé à 5% (G5%). La concentration finale doit être comprise entre 0 et 35 mg/mL.

La stabilité chimique de la solution diluée, à l'abri de la lumière, est présentée dans le **tableau 1** ci-dessous d'après les données de Stabilis (3) :

Tableau 1 : Données de stabilité du méthotrexate dilué (3)

Contenant	Diluant	Concentration finale	Température	Durée de stabilité
PolyVinylChlorure (PVC)	NaCl 0,9 % ou G5%	0,225 mg/mL	4°C	30 jours
PVC	NaCl 0,9 % ou G5%	0,36 mg/mL	4°C ou 23°C	72 heures
PVC	NaCl 0,9 % ou G5%	24 mg/mL	4°C	30 jours
PVC	NaCl 0,9%	1,25 et 12,5 mg/mL	2-8°C	105 jours
Polyéthylène	NaCl 0,9 % ou G5%	0,36 mg/mL	4°C ou 23 °C	72 heures
Polyoléfine	G5%	0,2 mg/mL	23-27°C	3 jours
Polyoléfine	G5%	20 mg/mL	23-27°C	28 jours

II. Mécanisme d'action

1. Prérequis : Physiologie des folates

a) Structures, apports et métabolisme

L'acide folique, acide ptéroylmonoglutamique, ou vitamine B9 (**figure 2**), a été isolé en 1941 à partir de feuilles d'épinards (4).

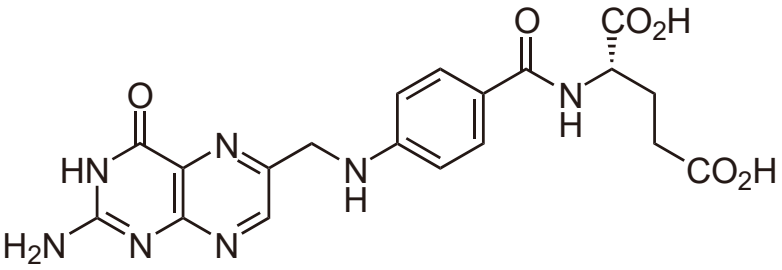

Figure 2 : Formule développée de l'Acide Folique. La molécule est composée, de gauche à droite, d'une ptérine, d'un acide para-amino-benzoïque, et d'un acide glutamique.

Les besoins sont estimés à 300 µg/jour de la naissance à la puberté, 400 µg/jour chez l'adulte, 500 µg/jour chez la femme allaitante et 600 µg/jour chez la femme enceinte. L'apport alimentaire normal est suffisant. Les aliments à haute teneur en folates sont les légumes à feuilles vertes (épinards, cresson, chicoré), les graines (noix, châtaignes, pois chiches), les fruits, les foies d'animaux, les laitages, le jaune d'œuf. Les réserves de l'organisme se situent dans le foie et sont suffisantes pour 3 mois.

Les folates naturels sont des polyglutamates. Ils sont convertis en monoglutamates par les carboxypeptidases des bactéries du tube digestif avant d'être absorbés au niveau du jéjunum proximal et de l'iléon. Ils sont ensuite polyglutamylés dans les cellules hépatiques, les érythrocytes, et d'autres tissus par la folylpolylglutamate synthase, enzyme ATP-dépendante. L'ajout de groupements glutamyl par liaison peptidique permet une meilleure rétention cellulaire et une plus grande affinité pour les enzymes cibles.

Les folates circulent dans l'organisme sous forme libre à hauteur de 30%, et sous forme liée à l'albumine, l'alpha-2-macroglobuline, et en petite quantité à des Folate Receptor derived Binding Proteins. À la surface des cellules utilisatrices, des récepteurs aux folates permettent leur internalisation.

Il existe un cycle entérohépatique et une filtration glomérulaire avec réabsorption.

L'acide folique est réduit (tétrahydrogéné en positions 5,6,7 et 8 de la ptérine) dans le cytoplasme par la dihydrofolate réductase pour donner l'acide folinique (**figure 3**). Le nom chimique de l'acide folinique est l'acide 5-formyl-tétrahydrofolique. Son rôle physiologique principal est d'agir comme donneur d'unités monocarbonées (portées en positions N5 et/ou N10) dans diverses réactions enzymatiques.

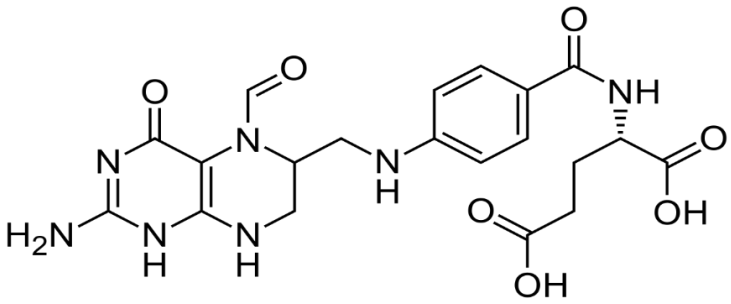

Figure 3 : Acide Folinique

b) Rôle dans la synthèse d'Acide DésoxyriboNucléique (ADN) et d'Acide RiboNucléique (ARN)

L'acide folinique reçoit un groupement méthylène de la sérine lors de sa transformation en glycine par la sérine-hydroxylméthyl-transférase, pour donner le N5-N10-méthylène-tétrahydrofolate (5).

Le N5-N10-méthylène-tétrahydrofolate peut ensuite :

- Permettre la dégradation de l'histidine en acide glutamique par la glutamate-forminino transférase.
- Être réduit en N5-N10-méthényl-tétrahydrofolate par la méthylène-tétrahydrofolate-déshydrogénase, puis en N10-formyl-tétrahydrofolate par la méthényl-tétrahydrofolate-cyclohydrolase. Le N10-formyl-tétrahydrofolate agit comme cosubstrat donneur de carbone dans la voie de synthèse de novo des purines.
- Être réduit en N-5-méthyltétrahydrofolate par la méthylène-tétrahydrofolate-réductase. Le N-5-méthyltétrahydrofolate est la forme circulante majoritaire des folates dans l'organisme. Il cède son groupement méthyl lors de la réaction de transformation de l'homocystéine en méthionine par la méthionine synthétase, réaction dans laquelle la vitamine B12 est également cofacteur et qui permet de regénérer du tétrahydrofolate.
- Être utilisé lors de la formation de désoxythymidine monophosphate, base pyrimidique, à partir de la désoxyuridine monophosphate par la Thymidylate Synthase (TS), et être converti en 7,8-dihydrofolate, qui devra être réduit par la dihydrofolate réductase pour redonner du tétrahydrofolate.

Les dérivés de l'acide folique sont ainsi impliqués dans la synthèse des bases puriques et de la thymidine, qui a lieu durant la phase S du cycle cellulaire, correspondant à la réplication de l'ADN.

i. Synthèse des bases puriques

La synthèse des purines (**figure 4**) est une chaîne de réactions passant par la transformation du 5-phospho-α-D-ribosyl 1-pyrophosphate en Inosine-5'-MonoPhosphate (IMP). Le N10-formyl-tétrahydrofolate, via la cession de son groupement formyl, est un cofacteur :

- De l'enzyme phosphoribosylglycinamide-formyltransférase catalysant la 3ème étape de cette cascade métabolique, consistant en la transformation de GlycinAmide Ribonucléotide (GAR) en FormylGlycinAmide Ribonucléotide.
- De l'enzyme phosphoribosylaminoimidazolecarboxamide formyltransférase (AICAR transformylase) catalysant la 9ème étape, consistant en la transformation d'Amino-Imidazole CarboxAmide Ribonucléotide en FormAmido-Imidazole CarboxAmide Ribonucléotide.

L'Inosine-5'-MonoPhosphate sera ensuite transformée en Adénosine Monophosphate et Guanosine Monophosphate, intégrées à l'ADN et à l'ARN.

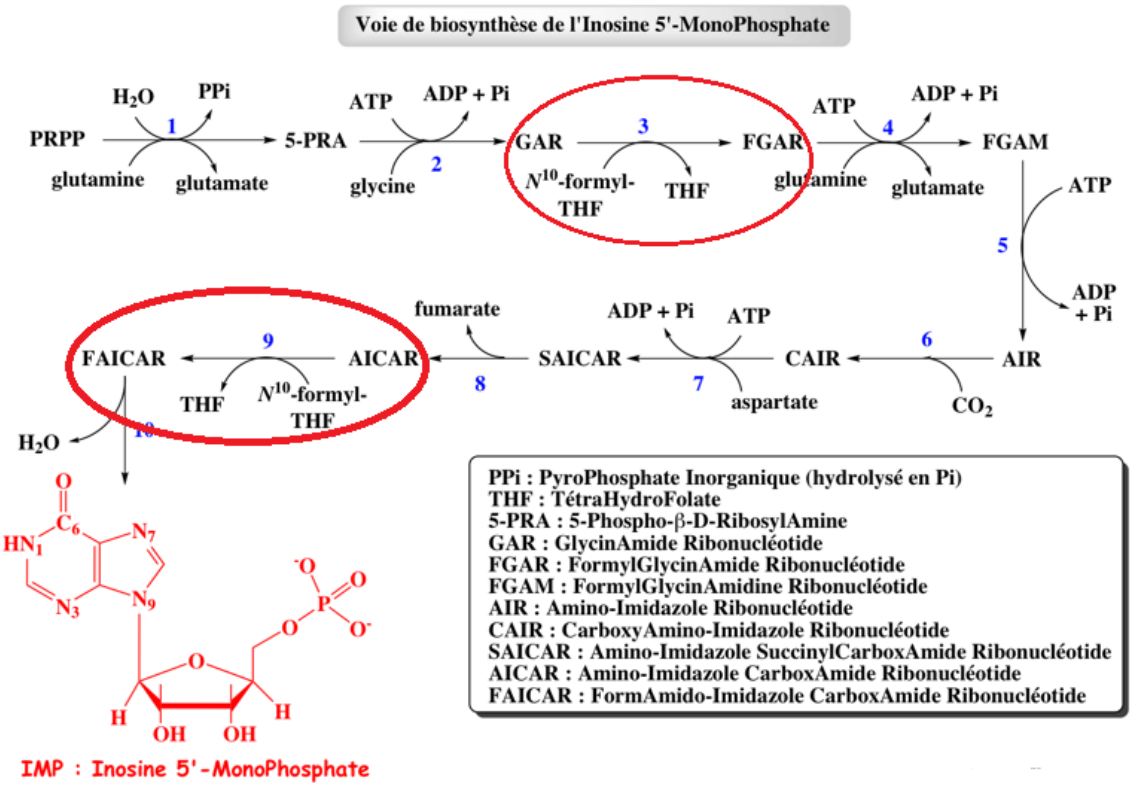

Figure 4 : Synthèse des purines. D'après E.Jaspard (5).

ii. Synthèse de la thymidine

La synthèse de la thymidine a lieu à partir de la désoxyuridine monophosphate et est catalysée par la thymidine synthase, comme détaillé dans la **figure 5** ci-dessous :

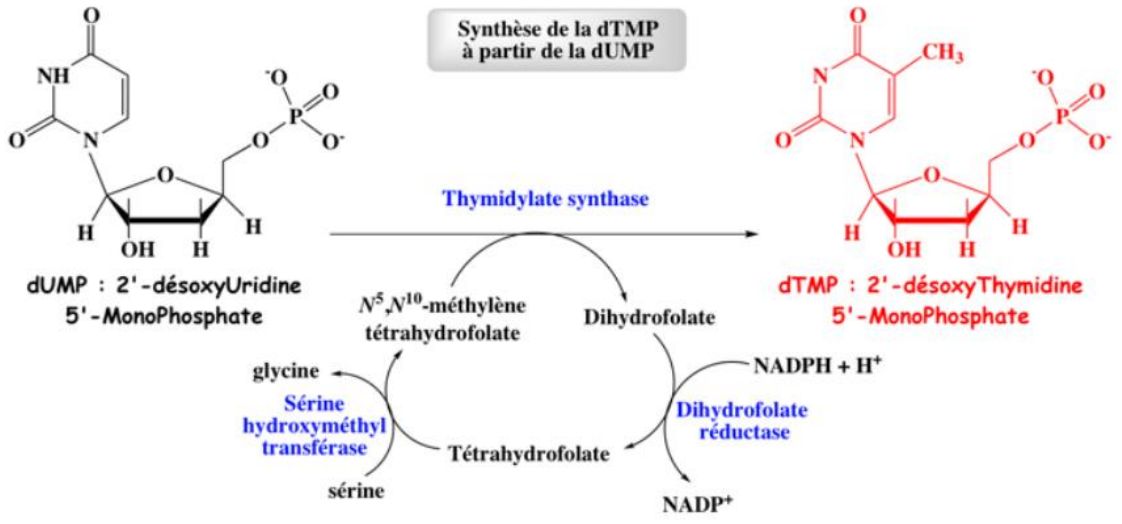

Figure 5 : Synthèse de la thymidine. D'après E.Jaspard (5)

c) Exploration

Le dosage des folates sériques et érythrocytaires est généralement réalisé par électrochimiluminescence.

Les valeurs physiologiques sont les suivantes : 5 à 15 µg/L pour les folates sériques, et 160 à 800 µg/g de globules rouges pour les folates érythrocytaires.

Leur physiologie étant intriquée, il est nécessaire de doser la vitamine B12 en même temps que la vitamine B9 en cas de suspicion de carence.

d) Carence

Une carence en acide folique peut être due à des troubles de l'absorption intestinale, à un défaut d'apport par malnutrition, ou à un éthylisme chronique. Elle entraîne un allongement du cycle cellulaire avec défaut de réplication de l'ADN.

Les tissus à fort taux de renouvellement (moelle osseuse et muqueuse du tractus digestif) sont les plus affectés.

L'érythropoïèse implique deux phénomènes synchronisés : la synthèse d'ADN dans le noyau et celle d'hémoglobine dans le cytoplasme. L'allongement de la phase S induite par une carence en folates aboutit à la formation de cellules au noyau immature, avec une chromatine non compactée, tandis que le cytoplasme continue sa différenciation et devient géant, avec un contenu riche en hémoglobine. On parle d'asynchronisme de maturation nucléocytoplasmique, caractéristique des mégaloblastes observés lors d'une carence en acide folique. Les cellules ainsi formées sont fragiles, beaucoup sont hémolysées dans la moelle osseuse avant d'atteindre la circulation sanguine, ce qui est à l'origine d'une anémie.

Les autres lignées sanguines sont également affectées par cette carence, avec une augmentation de la taille des cellules de la lignée granulocytaire, et des anomalies morphologiques dans la lignée mégacaryocytaire.

Les symptômes digestifs sont caractérisés par une atrophie des muqueuses pouvant être à l'origine d'une glossite, de dysphagie, de douleurs abdominales, de troubles dyspeptiques, de constipation et de diarrhée.

Le traitement d'une anémie mégaloblastique par carence en vitamine B9 repose sur la prise de 5 mg/jour d'acide folique pendant 4 mois, avec recontrôle des taux sériques en fin de cure. Cette posologie peut être augmentée en cas de troubles de l'absorption.

Une carence en acide folique durant les premières semaines de grossesse augmente les risques d'anomalies de la fermeture du tube neural de type *spina bifida*. Une supplémentation en acide folique à la dose de 0,4 mg/jour est actuellement recommandée en période péri-conceptionnelle, augmentée à 5 mg/jour chez les femmes ayant eu des antécédents de telles anomalies.

2. Mécanisme d'action du méthotrexate

Le méthotrexate fait partie de la classe pharmacothérapeutique « Antimétabolites, antinéoplasiques, analogues de l'acide folique », correspondant au code Anatomique, Thérapeutique et Chimique (ATC) L01BA01.

C'est un antinéoplasique cytostatique du groupe des antifolates, qui inhibe les processus métaboliques dépendants des folates, par analogie structurale.

Il est utilisé pour ses propriétés cytostatiques depuis 1948.

Le principal mécanisme d'action du méthotrexate est d'être un inhibiteur compétitif de la dihydrofolate-réductase (DHFR), qui est l'unique enzyme permettant de réduire l'acide 7,8-dihydrofolique en acide tétrahydrofolique (hydroxylations en positions 5 et 6), à laquelle il se lie de façon stœchiométrique.
L'acide dihydrofolique est produit lors de l'utilisation d'acide tétrahydrofolique comme cofacteur donneur d'unités monocarbonées lors de la synthèse de la thymidine et des purines (1). Lorsque plus de 95% de la DHFR est bloquée par le méthotrexate, la réduction du dihydrofolate est compromise (6) et ce dernier s'accumule et entre en compétition avec le méthotrexate pour se lier à la DHFR.
La pénurie de tétrahydrofolates entraîne un arrêt de la synthèse de novo des purines et de la thymidine, donc de celle d'ADN et d'ARN, compromettant la prolifération cellulaire.
La réaction la plus sensible à la pénurie de tétrahydrofolates est la synthèse de la thymidine depuis le déoxyuridylate par la thymidine synthase. Cette réaction cesse pour des méthotrexatémies supérieures à 0,01µmol/L, tandis que la synthèse des purines est inhibée pour des méthotrexatémies supérieures à 0,1 µmol/L (1).
La concentration cytotoxique varie selon les tissus. Une fois cette concentration atteinte, la durée d'exposition est le facteur le plus important. Selon Treon et al. (7), la cytotoxicité est équivalente pour une méthotrexatémie de 10 µmol/L pendant 12 heures, 1 µmol/L pendant 24h, 0,1 µmol/L pendant 48 heures et 0,01 µmol/L pendant 72 heures.

Chabner et Young ont montré en 1973 (8) une relation importante entre la concentration extracellulaire de méthotrexate et l'effet sur la synthèse d'ADN chez la souris. Le seuil d'efficacité a été établi à 0,01µmol/L, concentration en dessous de laquelle la synthèse d'ADN reprenait du fait de la compétition des folates endogènes pour le transport vers le milieu intracellulaire. Plus la dose testée était élevée, plus l'inhibition était durable pour les tissus étudiés : moelle osseuse, muqueuse

duodénale et cellules tumorales ascitiques. Les auteurs ont observé que le méthotrexate avait peu d'effet sur les cellules qui n'étaient pas en phase S (réplication de l'ADN). Ils ont ainsi émis l'hypothèse de l'importance du temps d'exposition, afin que le maximum de cellules en phase S soient exposées à des concentrations cytotoxiques.

La **figure 6** ci-dessous présente les enzymes cibles du méthotrexate. Tout comme les folates naturels, le méthotrexate subit une polyglutamylation intracellulaire par la folylpolyglutamate synthétase.
La polyglutamylation du méthotrexate augmente avec la concentration et la durée d'exposition. La rétention intracellulaire est influencée par la longueur de la chaîne de résidus glutamyl. Elle peut aller jusqu'à 24 heures pour du méthotrexate tétraglutamylé, ce qui permet une inhibition durable des enzymes cibles et donc une meilleure action cytotoxique.
Le méthotrexate et ses dérivés polyglutamylés ont la même affinité pour la DHFR, mais ces derniers agissent également comme inhibiteurs directs de la thymidylate synthase, de l'AICAR transformylase et de la GAR transformylase, opérant dans la synthèse de la thymidine et des bases puriques.
Les cellules tumorales auraient une capacité accrue pour polyglutamyler le méthotrexate, expliquant leur susceptibilité particulière à cette chimiothérapie.

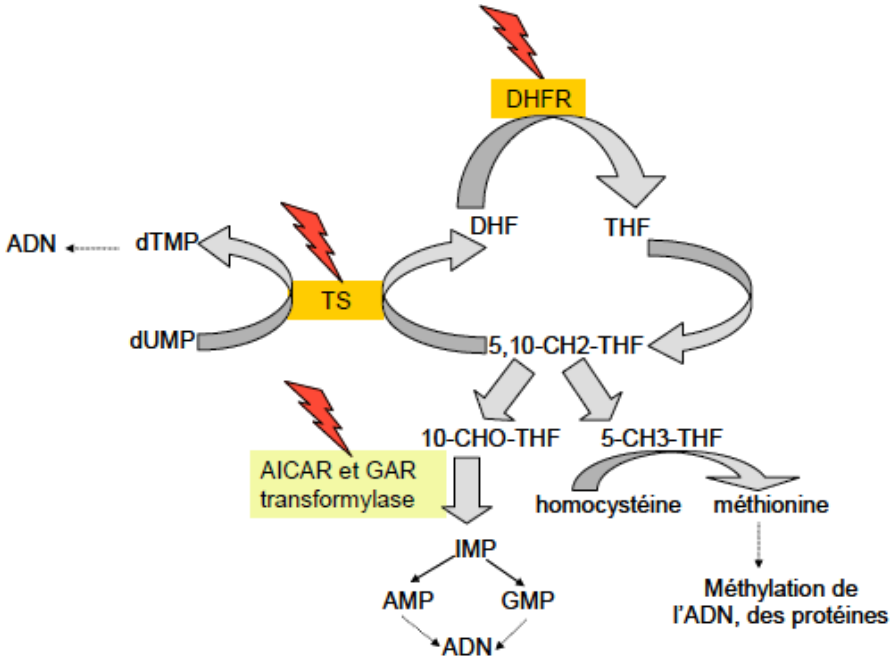

Figure 6 : Enzymes cibles du méthotrexate (éclairs rouge). 5-CH3-THF = acide 5-méthyl-tétrahydrofolique ; 5,10-CH2-THF = acide N5,N10-méthylène-tétrahydrofolique ; 10-CHO-THF = 10-formyl-tétrahydrofolate ; THF = TétraHydroFolate ; TS = Thymidylate Synthétase ; AICAR = 5-AminoImidazole-4-CarboxAmide Ribonucléotide ; GAR = GlycinAmide Ribonucléotide ; dUMP = DésoxyUridine MonoPhosphate ; dTMP = DésoxyThymidine MonoPhosphate (base pyrimidique) ; IMP = Inosinique MonoPhosphate ; AMP = Adénosine MonoPhosphate (base purique) ; GMP = Guanosine MonoPhosphate (base purique) ; ADN = Acide DésoxyRiboNucléique. D'après Blasco (9)

Les cellules des tissus hautement prolifératifs comme les tumeurs, la moelle osseuse, les cellules fœtales, les muqueuses intestinale et buccale et la vessie sont les plus sensibles à l'action du méthotrexate.

III. Utilisations actuelles du méthotrexate haute dose chez l'adulte

Le méthotrexate haute dose est indiqué dans le traitement de l'ostéosarcome, de certains Lymphomes Non Hodgkiniens (LNH) et des Leucémies Aiguës Lymphoblastiques (LAL).

Dans l'ostéosarcome de haut grade de malignité des patients de moins de 25 ans, il est administré en situation néoadjuvante à la dose de 12 g/m² en association à l'ifosfamide et à l'étoposide, et en situation adjuvante à la même dose associé aux mêmes molécules ou à la doxorubicine et au cisplatine en cas de mauvaise réponse histologique ou de pathologie métastatique. Après 25 ans, le méthotrexate est abandonné au profit de l'association Doxorubicine-Cisplatine-Ifosfamide du fait de sa toxicité (10).

Nous nous focaliserons sur ses utilisations dans les LNH et LAL.

1. Lymphomes Non Hodgkiniens

a) Lymphomes Primitifs du Système Nerveux Central

Le méthotrexate a permis d'améliorer significativement le pronostic des lymphomes primitifs du Système Nerveux Central : la survie globale médiane, de 1,5 mois sans traitement, passe à 25-55 mois avec une monothérapie à base de méthotrexate à une dose supérieure à 3 g/m². L'adjonction d'autres molécules anticancéreuses permet d'améliorer l'efficacité du traitement.

Il est actuellement admis que du méthotrexate à une dose comprise entre 3 et 4 g/m² administré en 3 heures toutes les 2 à 3 semaines pour au moins 4 cycles, associé à un agent alkylant et à du rituximab, doit être la base du traitement d'induction de 1ère ligne des Lymphomes Primitifs du Système Nerveux Central (11), (12), (13).

L'âge médian au diagnostic étant supérieur à 60 ans, beaucoup de sujets sont fragiles et le choix du traitement doit être fait en fonction de l'âge et de l'état général.

Le référentiel du réseau ONCOOCCITANIE datant de 2018 (14) propose les schémas thérapeutiques suivants pour cette phase d'induction :

- Âge < 60 ans en première ligne : 2 COPADEM ou R-MBVP + 2 R-CYM, avec rajout possible de cycles de méthotrexate en cas de réponse partielle.

- Entre 60 et 70 ans en 1ère ligne : 3 (R-MPV + VP16) puis 2 R-Ifosfamide-Cytarabine, ou 3 R-MPV puis 3 R-Cytarabine

- Âge > 70 ans en 1ère ligne : 3 R-MPV sans VP16 puis 2 R-Cytarabine ou Méthotrexate-Témozolomide chez les patients les plus fragiles.

- Rechute : le méthotrexate est indiqué seulement si la rechute a lieu plus d'un an après le traitement de 1ère ligne.

Les protocoles contenant du méthotrexate sont les suivants :

- R-MPV +/- VP 16 (J1 = J28)
    - RITUXIMAB 375 mg/m² IV J1 et J15
    - VINCRISTINE 1,4 mg/m² IV J2 et J16 (max. 2 mg ou 1 mg si > 70 ans)
    - METHOTREXATE 3500 mg/m² IV en 2 heures J2 et J16
    - PROCARBAZINE 100 mg/m² *per os* (PO) J1 à J7
    - VP16 (ETOPOSIDE) 100 mg/m² IV J3
    - Si patients > 70 ans : pas de VP 16 à J3 ni de Rituximab Méthotrexate-Vincristine à J15 et J16

- R-MBVP (J1 = J28)
    - RITUXIMAB 375 mg/m² IV J1
    - METHOTREXATE 3000 mg/m² en 3 heures IV J1 et J15
    - BCNU (CARMUSTINE) 100 mg/m² IV J3
    - VP16 100 mg/m² IV J2
    - PREDNISONE 60 mg/m² PO J1 à J5

- R-COPADEM (J1 = J21)
    - RITUXIMAB 375 mg/m² IV J1 et J7
    - VINCRISTINE 1,4 mg/m² IV J2 (max. 2 mg)
    - METHOTREXATE 3000 mg/m² IV en 3 heures J2
    - CYCLOPHOSPHAMIDE 250 mg/m² x 2/J IV J3-J4-J5
    - DOXORUBICINE 60 mg/m² IV J3
    - PREDNISONE 60 mg/m² PO de J2 à J7

- R-CYM (J1 = J21)
    - RITUXIMAB 375 mg/m² IV J1
    - METHOTREXATE 3000 mg/m² IV en 4 heures J1
    - CYTARABINE 100 mg/m² IVSE de 24h de J2 à J5

- M-Témozolomide (J1 = J30)
    - METHOTREXATE 3500 mg/m² en 2 heures IV J1 et J15
    - TEMOZOLOMIDE 150 mg/m² PO J1 à J5

b) Lymphomes B Diffus à Grandes Cellules

Le méthotrexate est indiqué en 1ère ligne en prophylaxie de la diffusion méningée, chez les patients à risque (score Central Nervous System - International Prognostic Index ≥4) ou dont le lymphome siège au niveau d'une localisation à risque (rein, surrénale, testicule, sein, espace épidural, sinus). Il doit alors être adjoint à la dose de 3 g/m² au traitement conventionnel qui est le R-CHOP ou R-ACVBP, pour 2 à 4 cycles.
Dans une étude de 2019 portant sur 480 patients, Goldschmidt et al. (15) ont montré que l'addition de méthotrexate haute dose chez les patients traités pour un Lymphome B Diffus à Grandes Cellules ne prévenait pas les rechutes au niveau du système nerveux central, mais augmentait significativement la survie sans progression et la survie globale des patients.

Les protocoles sont les suivants :

- R-ACVBP (J1 = J14)
    - RITUXIMAB 375 mg/m² IV J1
    - CYCLOPHOSPHAMIDE 1200 mg/m² IV J1
    - DOXORUBICINE 75 mg/m² IV J1
    - VINDESINE 2 mg/m² IV J1 et J5
    - BLEOMYCINE 10 mg IV J1 et J5
    - PREDNISONE 60 mg/m² per os J1 à J5
    - METHOTREXATE 15 mg IT J1

- R-CHOP (J1 = J21)
    - RITUXIMAB 375 mg/m² IV J1
    - CYCLOPHOSPHAMIDE 750 mg/m² IV J1
    - DOXORUBICINE 50 mg/m² IV J1
    - VINCRISTINE 1,4 mg/m2 IV J1 (max. 2 mg ou 1 mg si > 70 ans)
    - PREDNISONE 40 mg/m² PO J1 à J5

- METHOTREXATE HAUTE DOSE (J1 = J15)
    - METHOTREXATE 3000 mg/m² IV en 3 heures J1

c) Lymphomes de Burkitt

Le réseau ONCOOCCITANIE recommande en 2018 les stratégies thérapeutiques suivantes (14) :

- Âge < 60 ans : traitement selon l'essai LMBA02
- Entre 60 et 70 ans : traitement selon l'essai LMBA02 ou 4 cycles R-CHOP-METHO puis 4 cycles R-CHOP
- Entre 70 et 80 ans : 4 cycles R-CHOP-METHO puis 4 cycles R-CHOP
- Âge > 80 ans : 6 cycles de R-miniCHOP avec 4 méthotrexates à dose adaptée

Les protocoles sont les suivants :

- R-CHOP-METHO (J1 = J21)
    - METHOTREXATE 1500 mg/m² IV J1
    - RITUXIMAB 375 mg/m² IV J2
    - CYCLOPHOSPHAMIDE 750 mg/m² IV J2
    - DOXORUBICINE 50 mg/m² IV J2
    - VINCRISTINE 1,4 mg/m2 IV J2 (max. 2 mg ou 1 mg si > 70 ans)
    - PREDNISONE 40 mg/m² PO J1 à J5

- R-miniCHOP (J1 = J21)
    - RITUXIMAB 375 mg/m² IV J1
    - CYCLOPHOSPHAMIDE 400 mg/m² IV J1
    - DOXORUBICINE 25 mg/m² IVD J1
    - VINCRISTINE 1 mg IV J1
    - PREDNISONE 40 mg/m² PO J1 à J5

Traitement selon l'essai LMBA02 (16) : les patients sont classés en groupes de risque selon la classification de Murphy, l'âge et l'atteinte neuroméningée ou du Système Nerveux Central (SNC) :

- Groupe B : Pas d'atteinte neuroméningée, Murphy 1 à 3 : R-COPADEM1 + R-COPADEM2 + 2 CYM + Cycle de fin de traitement.
- Groupe C : Envahissement médullaire. Stratification en 6 groupes selon l'âge (< 40 ans, entre 40 et 60 ans, plus de 60 ans) et l'envahissement du SNC.
  Exemple du groupe C1, correspondant aux patients de moins de 40 ans sans atteinte du SNC : R-COPADEM1 + R-COPADEM2 + 2 CYVE + 4 Entretien (A-B-A-B). Chez les patients de moins de 40 ans avec atteinte du SNC, la dose de méthotrexate est portée à 8 g/m². Chez les patients de plus de 60 ans, la dose de méthotrexate est limitée à 2 g/m² lorsqu'il n'y a pas d'atteinte du SNC, et est de 3 g/m² lorsqu'il est atteint.

Les protocoles sont les suivants :

- R-COPADEM 1 (J1 = J18)
  - RITUXIMAB 375 mg/m² IV J0 et J6
  - PREDNISOLONE 60 mg/m² PO ou IV J1 à J5
  - VINCRISTINE 1,4 mg/m² IV J1 (max. 2 mg)
  - METHOTREXATE 3000 mg/m² IV en 3 heures J1
  - CYCLOPHOSPHAMIDE 500 mg/m² IV J2, J3, J4
  - DOXORUBICINE 60 mg/m² IV J2
  - METHOTREXATE ET HYDROCORTISONE 15 mg IT J2 et J6

- R-COPADEM 2 (J1 = J21)
  - RITUXIMAB 375 mg/m² IV J0 et J6
  - PREDNISOLONE 60 mg/m² PO ou IV J1 à J5
  - VINCRISTINE 1,4 mg/m² IV (max. 2 mg) J1 et J6
  - METHOTREXATE 3000 mg/m² IV en 3 heures J1
  - CYCLOPHOSPHAMIDE 1000 mg/m² IV J2, J3, J4
  - DOXORUBICINE 60 mg/m² IV J2
  - METHOTREXATE ET HYDROCORTISONE 15 mg IT J2 et J6

- CYM (J1 = J21)
  - METHOTREXATE 3000 mg/m² IV en 4 heures J1
  - CYTARABINE 100 mg/m² IVSE J2 à J6
  - METHOTREXATE ET HYDROCORTISONE 15 mg IT J2
  - CYTARABINE ET HYDROCORTISONE 40 mg IT J7

- FIN DE TRAITEMENT
  - PREDNISOLONE 60 mg/m² PO ou IV J1 à J5
  - VINCRISTINE 2 mg IV J1
  - METHOTREXATE 3000 mg/m² IV en 3 heures J1
  - CYCLOPHOSPHAMIDE 500 mg/m² IV J1 et J2
  - DOXORUBICINE 60 mg/m² IV J2
  - METHOTREXATE ET HYDROCORTISONE 15 mg IT J2

- CYVE (J1 = J28)
    - CYTARABINE 50 mg/m²/12h en perfusion IV continue J1 à J5
    - CYTARABINE 3000 mg/m² IV J2 à J5
    - ETOPOSIDE 200 mg/m² IV J2 à J5

- ENTRETIEN A (J1 = J28)
    - PREDNISOLONE 60 mg/m² PO J1 à J5
    - METHOTREXATE 3000 mg/m² IV en 3 heures J1
    - CYCLOPHOSPHAMIDE 500 mg/m² IV J2 et J3
    - DOXORUBICINE 60 mg/m² IV J3
    - VINCRISTINE 2 mg IV J1

- ENTRETIEN B (J1 = J28)
    - CYTARABINE 50 mg/m²/12h SC J1 à J5
    - ETOPOSIDE 150 mg/m² IV J1 à J3

2. Leucémies Aiguës Lymphoblastiques

Le méthotrexate haute dose a également un rôle central dans le traitement des LAL de l'adulte.
La prise en charge actuelle repose sur les protocoles suivants :

- GRAALL 2014 (17) pour les patients de 15 à 59 avec une LAL sans chromosome Philadelphie : le méthotrexate est utilisé en phase de consolidation à la dose de 5 g/m² (3 g/m² pour les patients de plus de 45 ans) en perfusion de 24 heures avec un bolus initial de 500 mg/m² en 30 minutes. Il est également administré à la dose de 1,5 g/m² en perfusion 24 heures durant les éventuels blocs d'attente pré-allogreffe de cellules souches hématopoïétiques.
- GRAAPH 2014 pour les patients de 15 à 59 ans avec LAL à chromosome Philadelphie positif : le méthotrexate est administré à la dose de 1 g/m² en 24 heures durant la phase initiale de traitement.
- EWALL (18) pour les patients de 55 ans et plus : le méthotrexate est administré à la dose de 1 g/m² en 24 heures (500 mg/m² pour les patients de plus de 70 ans) durant la phase de consolidation.

Les molécules administrées de façon concomitante au méthotrexate intraveineux dans le traitement des LAL de l'adulte sont les suivantes : Cytarabine, Vincristine, Mercaptopurine, Asparaginase, Inhibiteurs la de Tyrosine Kinase BCR-ABL en cas de chromosome Philadelphie positif ; Cytarabine, corticoïdes et Méthotrexate en injections intrathécales.

IV. Pharmacocinétique

1. Distribution

Après administration intraveineuse, le volume de distribution initial du méthotrexate est de 0,18 L/kg de poids corporel, et le volume de distribution à l'équilibre est de 0,4 à 0,8L/kg de poids corporel.

La pénétration cellulaire s'effectue via le Reduced Folate Carrier (RFC), un système de transport actif et saturable utilisé par les folates endogènes et l'acide folinique, avec qui le méthotrexate est donc en compétition (1).
Pour des concentrations sériques supérieures à 100 µmol/L, la diffusion passive, de faible affinité mais haute capacité, est majoritaire.

La fixation protéique est de l'ordre de 50% et implique majoritairement l'albumine. Le méthotrexate lié à l'albumine pénètrerait plus facilement dans les cellules tumorales, en s'affranchissant du transporteur RFC (19).
Evans et al (20) ne retrouvaient pas en 1983 de corrélation entre le taux de liaison aux protéines plasmatiques et les variables suivantes : albuminémie, bilirubinémie, clairance du méthotrexate, clairance de la créatinine, âge, sexe, poids, et surface corporelle.

Le méthotrexate se concentre particulièrement dans les organes suivants : rein, rate, foie, vésicule biliaire, peau, liquides d'épanchement pleural et d'ascite.

Le méthotrexate, administré à hautes et moyennes doses, traverse la barrière hémato-encéphalique (BHE) malgré une faible liposolubilité et un coefficient de dissociation inférieur à 0,0025. En effet, les particules ionisées pénètrent dans le Système Nerveux Central de façon proportionnelle à leur coefficient de dissociation et à leur fraction libre.
L'intégrité de la BHE influe sur sa perméabilité au méthotrexate.
Evans et al. ont montré (20) chez 29 enfants traités pour une Leucémie Aiguë Lymphoblastique que le ratio de concentration entre le Liquide Céphalo-Rachidien (LCR) et le plasma était de 0,023:1 après une administration de 1 g/m² de méthotrexate en 24 heures, avec une concentration à l'équilibre atteinte en 2 heures. Seules de hautes doses permettent donc d'obtenir des concentrations cytotoxiques dans le SNC. Dans cette étude, la concentration de méthotrexate dans le LCR 24 heures après la fin de l'administration était corrélée à la méthotrexatémie totale et encore davantage à la concentration de méthotrexate non lié aux protéines plasmatiques, au même moment. La demi-vie d'élimination dans le LCR était de 8,4 heures.
Selon Treon et al. (7), une dose de méthotrexate de 500 mg/m² mène à une concentration dans le LCR de 0,1 µmol/L, à la limite du seuil de cytotoxicité, tandis que 3 à 7,5 g/m² permettent d'atteindre 1 µmol/L et 33,6 g/m², 10 µmol/L.
La variabilité interindividuelle des concentrations plasmatiques étant très importante, les concentrations dans le LCR sont également très variables. Diverses études ayant montré une corrélation entre la concentration de méthotrexate dans le LCR et l'efficacité du traitement, il est important de faire en sorte qu'une concentration efficace soit atteinte chez les patients traités.
Lors de l'administration intrathécale de méthotrexate, celui-ci ne se répartit pas de manière homogène dans les différents compartiments du SNC : la concentration ventriculaire est égale à seulement 10 % de la concentration lombaire (21).

Le ratio entre les concentrations de méthotrexate dans le lait maternel et le plasma est de 0,08 :1.
La pénétration dans le milieu interstitiel testiculaire n'est significative qu'à doses élevées.

Csordas et al. (22) ont étudié en 2013 les paramètres pharmacocinétiques du méthotrexate chez 153 enfants traités pour une LAL par une dose de 2 ou 5 g/m². La méthotrexatémie, la 7-OH-méthotrexatémie ainsi que la concentration de méthotrexate dans le LCR étaient significativement supérieures chez les patients recevant les doses les plus élevées. Il n'y avait pas de différence significative entre les différents cycles d'un patient donné. Le ratio entre les concentrations plasmatique et rachidienne ne différait pas selon la dose, et une corrélation était observée entre la méthotrexatémie à 24 heures et la concentration dans le SNC au même temps. La méthotrexatémie à 48 heures était plus élevée chez les patients de plus de 14 ans que chez ceux de moins de 6 ans.

Des cellules métastatiques peuvent parvenir dans les cavités séreuses de l'organisme que sont la plèvre, le péritoine et le péricarde. Cela peut entraîner une accumulation de fluides dans ces cavités, la perméabilité vasculaire des tissus malins étant augmentée et les mécanismes physiologiques de drainage pouvant être obstrués. La chimiothérapie peut diffuser dans ces espaces et y être séquestrée, constituant un troisième compartiment de distribution.
Li et al. (23) ont mené en 2002 une étude sur l'influence de ces épanchements malins sur la pharmacocinétique du méthotrexate. Ils observaient que les épanchements avaient peu d'influence sur la décroissance initiale de la méthotrexatémie, mais qu'un ralentissement significatif advenait tardivement. Cela concorde avec l'hypothèse d'une diffusion rapide du méthotrexate dans l'épanchement, et d'un relargage lent. La clairance du méthotrexate était peu modifiée, mais le volume de distribution significativement augmenté, davantage que le volume réel de l'épanchement. Ces liquides ont souvent une forte teneur en protéines, auxquelles se lie le méthotrexate. Cela participe à l'augmentation importante de son volume de distribution et donc de son temps de demi-vie. Les patients présentant un épanchement sont donc à haut risque de toxicité. Ce dernier doit ainsi être drainé avant l'instauration du traitement par méthotrexate.

2. Métabolisation

Le métabolisme du méthotrexate est intracellulaire, et a principalement lieu dans les cellules néoplasiques et les hépatocytes.
A l'instar des folates physiologiques, le méthotrexate est transformé en dérivés polyglutamylés par ajouts successifs de 1 à 4 résidus glutamyl en position terminale, liés par des liaisons peptidiques. Cette réaction est effectuée par la folylpolylglutamate synthase, enzyme ATP-dépendante.
La synthèse des polyglutamates est temps et concentration dépendante (24). Selon Ackland et al. (25), elle nécessite une méthotrexatémie de 2 µmol/L pendant plus de 6 heures.
Mantadakis et al. (26) ont affirmé en 2005 qu'une méthotrexatémie élevée favorisait *in vitro* l'accumulation de dérivés polyglutamylés à chaîne courte (majorité de diglutamates), tandis qu'une méthotrexatémie faible entraînait la formation majoritaire de tétraglutamates.
Le méthotrexate polyglutamylé est retenu plus longtemps dans les cellules, de façon croissante avec le nombre de résidus glutamyl. La rétention intracellulaire est supérieure à 24 heures après l'élimination du méthotrexate plasmatique pour les formes tétra- et penta-glutamylées (1), (24).
Le méthotrexate polyglutamylé a également plus d'affinité pour ses enzymes cibles, qui sont plus nombreuses que celles du méthotrexate monoglutamylé, ce qui potentialise son effet cytostatique.

Des hydrolases lysosomales peuvent cliver les groupements glutamyl pour reformer du méthotrexate non polyglutamylé.

Le 7-hydroxy-méthotrexate (7-OH-MTX) est le principal métabolite circulant du méthotrexate. Il est formé par les aldéhyde-oxydases des hépatocytes. Son activité cytotoxique est faible. Il représente moins de 10% du médicament excrété. Il peut également subir des polyglutamylations, et sa demi-vie est de 6 heures.

Evans et al. (20) ont montré qu'après administration de 1 g/m² de méthotrexate en 24 heures, la concentration plasmatique de 7-OH-MTX était égale à la méthotrexatémie entre H24 et H28, et qu'elle l'excédait largement à H42.

Le second métabolite est l'acide 2,4 diamino-10 méthylptéroïque (DAMPA), formé en quantité minime (< 5%). La faible proportion de méthotrexate excrétée dans le tractus digestif par sécrétion biliaire est hydrolysée par les carboxypeptidases des bactéries de la flore intestinale, et une partie des produits obtenus est réabsorbée (27).

3. Élimination

a) Prérequis : physiologie de l'élimination rénale

Les reins sont des organes rétropéritonéaux et paravertébraux. Ils pèsent 150 grammes chacun, mesurent en moyenne 12 centimètres de longueur, 6 de largeur et sont épais de 3 centimètres.
Ils sont constitués d'une zone externe, le cortex, et d'une zone interne, la médulla, elle-même divisée en médulla externe et médulla interne (28), (29).

L'unité fonctionnelle du rein est le néphron (**figures 7 et 8**), au nombre d'environ 2 millions. Chaque néphron comprend un glomérule et un tubule, composé de différents segments spécialisés. Le glomérule, entouré de la capsule de Bowman, se situe dans la zone corticale, tout comme les tubules contournés proximal et distal, tandis que l'Anse de Henlé et le tube collecteur font partie de la zone corticale et de la zone médullaire.

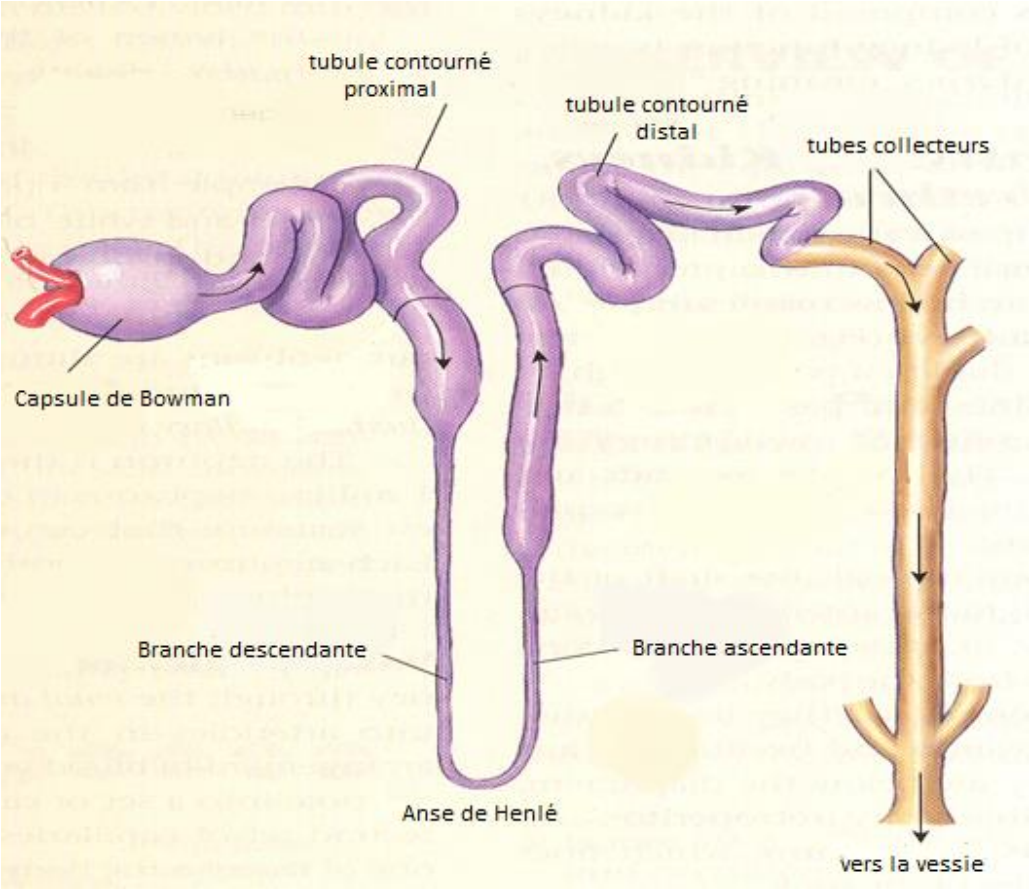

Figure 7 : Structure du néphron. D'après N.Pallet (29)

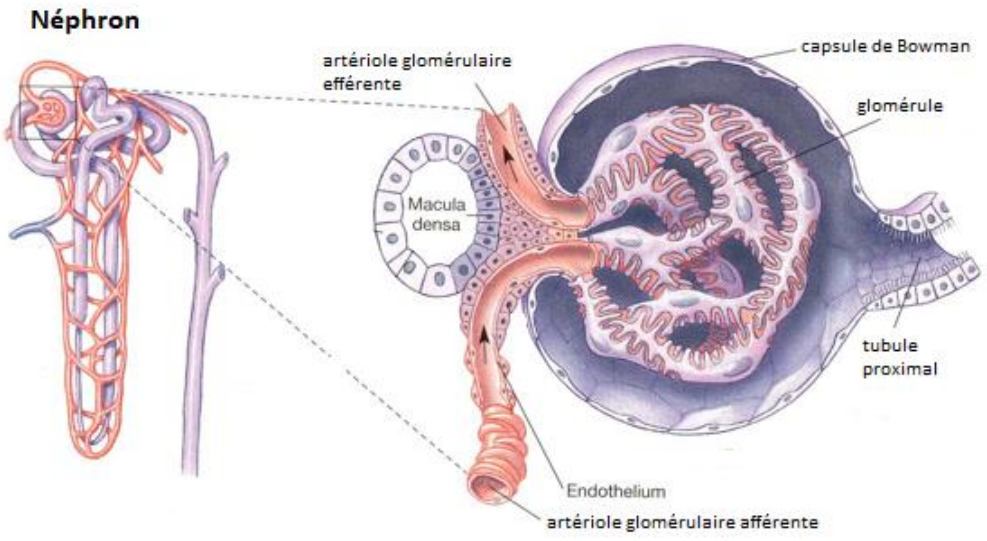

Figure 8 : Néphron, d'après N. Pallet (29)

Les fonctions du néphron sont :

- La filtration glomérulaire de l'eau plasmatique et des substances dissoutes, des capillaires glomérulaires vers la lumière tubulaire.
- La réabsorption tubulaire vers la lumière des capillaires péritubulaires.
- La sécrétion tubulaire de l'eau plasmatique et des substances dissoutes des capillaires péritubulaires vers la lumière tubulaire, pour obtenir l'urine finale.

Cela permet une stabilité des liquides corporels, dont le rein maintient constants le volume, la tonicité et la composition. Le rein réalise également une épuration sélective du contenu sanguin (déchets azotés, métabolites hormonaux ou vitaminiques, médicaments). De même, il régule l'homéostasie hydrique, électrolytique et acido-basique. Enfin, il a une fonction endocrine via le système rénine-angiotensine-aldostérone, la vitamine D et l'érythropoïétine.

Le débit sanguin rénal est égal à 20% du débit cardiaque, soit 1 à 1,2 L/min. Cet organe présente la particularité d'être vascularisé par un réseau artério-artériel glomérulaire, et artério-veineux péritubulaire.
Les agents endogènes entraînant une vasoconstriction de ces vaisseaux sont l'angiotensine 2, l'hormone anti-diurétique, les endothélines, l'adrénaline et la noradrénaline. Ceux qui provoquent une vasodilatation sont l'acétylcholine, les bradykinines, la dopamine, le monoxyde d'azote et certaines prostaglandines.

Le glomérule, ou corpuscule de Malpighi, présente un coefficient de filtration élevé du fait d'une surface de contact étendue et d'une faible résistance aux déplacements de liquide, l'endothélium des artérioles glomérulaires étant fenêtré. Le liquide qui pénètre dans l'espace de Bowman, appelé ultrafiltrat ou urine primitive, a donc la même composition que le plasma, sans les grosses molécules (protéines, acides gras).
Le débit de filtration glomérulaire est régulé via les pressions et résistances vasculaires et les influences neuro-hormonales. Il dépend de la perméabilité et de la surface de l'endothélium, et de la pression d'ultrafiltration, résultante des gradients entre la pression capillaire glomérulaire d'un côté et les pressions intratubulaire et oncotique plasmatique de l'autre. Sa valeur physiologique est de 120 mL/min, soit 10-20% du débit sanguin rénal. L'autorégulation rénale maintient ce débit et la filtration glomérulaire constants pour des pressions artérielles moyennes situées entre 70 et 140 mmHg, via le

tonus artériolaire.
Les glomérules produisent environ 180 litres d'ultrafiltrat par jour, dont l'immense majorité est ensuite réabsorbée dans les tubules puisque la diurèse physiologique est de 1 à 2 litres par jour.
On parle d'anurie lorsque la diurèse est inférieure à 100 mL/24h, d'oligurie lorsqu'elle est inférieure à 300 mL/24h, et de polyurie lorsqu'elle est supérieure à 3 L/24h.

La fonction glomérulaire est appréciée en routine par la mesure de la clairance de la créatinine, substance endogène provenant des muscles, qui n'est ni réabsorbée ni sécrétée par les tubules rénaux. Elle doit être interprétée en fonction de la masse musculaire donc du sexe, de l'âge, du poids et de l'ethnie. Les formules actuellement recommandées pour le calcul du Débit de Filtration Glomérulaire (DFG) à partir de la créatininémie sont MDRD (30) et CKD-EPI (31).
Une insuffisance rénale est définie par un DFG inférieur à 60 mL/min/1,73m². Une perte physiologique de 0,5 à 1 mL/min/an est observée à partir de l'âge de 40 ans.

De nombreux échanges se font au niveau des tubules rénaux : par voie transcellulaire nécessitant un transport actif consommateur d'ATP, ou paracellulaire, par diffusion passive.
Les composés physiologiques sont réabsorbés en quantité très importante : 86% du potassium, 99% de l'eau, du sodium, du chlore, 100% du bicarbonate et du glucose filtrés par le glomérule en situation physiologique.
Cette réabsorption, tout comme la sécrétion tubulaire, a lieu au niveau du tubule proximal, de l'anse de Henlé, du tubule distal et du tube collecteur, avec une sélectivité des substances selon le segment du néphron et une concentration croissante de l'urine.

Le rein est sensible à la toxicité des drogues circulantes, puisqu'il y est fortement exposé. Les différents mécanismes de néphrotoxicité sont les suivants :

- Insuffisance rénale fonctionnelle due à une hypoperfusion rénale (Anti-Inflammatoires Non Stéroïdiens (AINS), Inhibiteurs de l'Enzyme de Conversion (IEC), Ciclosporine)
- Toxicité tubulaire directe (Produits de contraste iodés, Aminosides, Chimiothérapies)
- Toxicité tubulaire indirecte (Rhabdomyolyse due aux statines et fibrates, syndrome de lyse, cristallisation de médicaments)
- Toxicité tubulo-interstitielle (Lithium)
- Mécanisme immunoallergique (AINS, β-lactamines, diurétiques)
- Microangiopathie Thrombotique (Ciclosporine)

b) Élimination du méthotrexate

L'élimination du méthotrexate est principalement rénale. Entre 55 et 90% de la dose sont éliminés dans les urines en 24 heures, 60 à 80% sous forme inchangée et 1 à 10% sous forme de 7-OH-MTX. Une sécrétion biliaire minime a également été décrite, ainsi qu'une circulation entérohépatique.

L'élimination rénale du méthotrexate se fait par filtration glomérulaire et sécrétion tubulaire active au niveau du tube contourné proximal, cette sécrétion étant responsable d'un tiers de l'élimination rénale chez le sujet aux fonctions rénales normales, et davantage lorsque le débit de filtration glomérulaire est altéré.

La solubilité du méthotrexate dans l'urine diminue d'un facteur 10 lorsque le pH passe de 6,9 à 5,7, et d'un facteur 20 lorsqu'il passe de 7 à 5. Celle du 7-OH-MTX est inférieure et diminue d'un facteur 12 lorsque le pH passe de 7 à 5. Le DAMPA est dix fois moins soluble que le méthotrexate dans l'urine, mais est éliminé en partie par voie non rénale.

Une corrélation importante entre les clairances du méthotrexate et de la créatinine a été décrite.
La clairance du méthotrexate varie de façon importante entre les individus, et chez un même individu entre les différentes administrations.

Evans et al. (32) et (33) ont mesuré la clairance du méthotrexate à 78,7 mL/min/m² (avec une variabilité intraindividuelle de 11,7%) chez 108 enfants d'âge médian 4,1 ans traités par 1g/m² sur 24 heures pour une LAL de risque standard. La clairance n'était pas corrélée au nombre de doses reçues pour un patient donné.

Reiss et al. (19) ont étudié en 2016 la liaison entre l'hypoalbuminémie et le temps d'élimination du méthotrexate chez 167 patients adultes traités pour une hémopathie lymphoïde. Le seuil d'hypoalbuminémie était fixé à 34 g/L, et le temps d'élimination était celui nécessaire pour que la méthotrexatémie soit ≤ 0,05 µmol/L. Ils mettaient en évidence un retard significatif de l'élimination du méthotrexate en cas d'hypoalbuminémie. Les autres facteurs corrélés à un temps d'élimination allongé étaient la dose et l'usage concomitant de médicaments néphrotoxiques. Le temps d'hospitalisation était plus long chez les patients présentant une hypoalbuminémie. L'albuminémie étant responsable de 80% de la pression oncotique intravasculaire, une diminution favorise les collections liquidiennes, dans lesquelles le méthotrexate s'accumule et dont il est relargué lentement. L'hypoalbuminémie entraîne également une diminution du volume sanguin donc de la perfusion rénale.

Les Organic Anion Transporter (OAT) sont des protéines de transport membranaire, membres de la Solute Carrier Family. Dans le rein, les OAT1 et 3 sont situés sur la membrane basolatérale du tubule proximal (= côté plasmatique), et transportent divers médicaments et substances endogènes. Ils permettent l'entrée des anions organiques dans les cellules rénales épithéliales. L'OAT4 se situe sur la membrane apicale du tubule et permet donc l'efflux d'anions organiques vers l'urine.
Takeda et al. (34) ont mis en évidence en 2002 que les OAT1, OAT3 et OAT4 transportaient le méthotrexate et que ce transport était inhibé compétitivement par certains médicaments.

Les Multidrug Resistance Proteins (MRP) forment une famille de transporteurs à ATP Binding Cassette (protéines transmembranaires) d'au moins 9 membres, dont 5 participent au transport d'efflux des anions lipophiles et sont capables de conférer aux cellules une résistance à plusieurs anticancéreux. MRP1, 2, 3 et 4 peuvent transporter le méthotrexate, mais pas sa forme polyglutamylée. MRP4 transporte également les folates (35) .
MRP2 est également appelée ABCC2 ou cMOAT et est exprimée sur la membrane des hépatocytes, des cellules épithéliales de l'intestin grêle, tubulaires proximales rénales et endothéliales cérébrales. Le syndrome de Dubin-Johnson est une maladie récessive correspondant à l'absence totale de MRP2 due à une mutation située sur le promoteur du gène codant pour ce transporteur, entraînant un désordre dans l'élimination de la bilirubine.
Rau et al. (36) ont étudié en 2006 l'impact des polymorphismes de cette protéine sur la méthotrexatémie chez 44 patients atteints de LAL. Douze polymorphismes ont été détectés. L'Aire sous la Courbe (AUC) du méthotrexate entre H36 et H48 était plus élevée chez les filles que chez les garçons, et davantage chez celles ayant au moins un allèle 24T du gène codant pour MRP2. Chez les garçons, la même hétérozygotie n'avait pas d'impact pharmacocinétique. L'Odds Ratio de l'incidence d'une élimination retardée du méthotrexate à H48 était de 9 pour les filles avec au moins un allèle 24T par rapport aux autres patients. Le modèle pharmacocinétique montrait une diminution de la constante d'élimination rénale chez ces filles.
La Breast Cancer Resistance Protein (BCRP ou ABCG2), autre transporteur de la famille ATP Binding Cassette, a également un rôle dans l'efflux cellulaire du méthotrexate.

La **figure 9** montre les cellules et transporteurs impliqués dans l'élimination du méthotrexate.

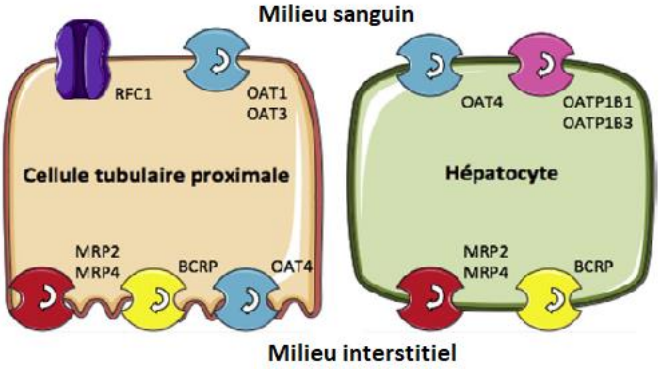

Figure 9 : Cellule tubulaire proximale et hépatocyte, impliquées dans l'élimination rénale et hépatique du méthotrexate. RFC = Reduced Folate Carrier, OAT = Organic Anion Transporter, MRP = Multidrug Resistance Protein, BCRP = Breast Cancer Resistance Protein. D'après Garcia et al. (37)

4. Pharmacocinétique de population

De nombreuses équipes ont travaillé à l'élaboration d'un modèle de pharmacocinétique de population du méthotrexate haute dose. Cette approche permet d'estimer statistiquement les paramètres pharmacocinétiques du médicament chez un patient pour lequel on dispose d'un nombre limité de données, grâce au traitement de celles mesurées chez d'autres patients, le plus souvent par la méthode de modélisation non linéaire à effets combinés. En voici quelques exemples :

- Faltaos et al. (38) ont développé un modèle en 2006, applicable aux patients traités pour une hémopathie lymphoïde. Ils se sont basés sur les données de 51 patients d'âge médian 62 ans, ayant reçu 136 perfusions de méthotrexate à une dose comprise entre 1 et 8 g/m² sur une durée de 1 à 6 heures. Un modèle à 2 compartiments avec élimination linéaire a été retenu. Dans le modèle final obtenu, seuls l'âge et la créatininémie avaient un effet sur la clairance du méthotrexate (les autres variables testées étaient : genre, poids, surface corporelle, taux sanguins d'enzymes hépatiques, bilirubinémie, protéinémie). Les paramètres pharmacocinétiques obtenus étaient les suivants : clairance du méthotrexate : 7,1 L/h ; volume du compartiment central : 25,7 L ; volume du compartiment périphérique : 2,7 L ; clairance intercompartimentale : 0,14 L/h. Les méthotrexatémies dosées à H24 et H48 permettaient d'estimer correctement le temps nécessaire pour atteindre une méthotrexatémie inférieure à 0,05 µmol/L. Les auteurs suggéraient donc de ne doser la méthotrexatémie qu'à H24 et H48.

- Dupuis et al. (39) ont développé en 2008 un modèle tri-compartimental applicable aux patients adultes traités pour un ostéosarcome par méthotrexate à la dose de 12 g/m². Les deux seules variables significativement corrélées à la clairance du méthotrexate étaient le taux d'ALAT et la clairance de la créatinine de base. Le volume de distribution était lié à la taille, à la surface corporelle et au taux d'hémoglobine. Le délai d'atteinte d'une méthotrexatémie inférieure à 1 µmol/L était suffisant pour estimer précisément le temps au bout duquel elle serait inférieure à 0,2 µmol/L, ce qui a amené les auteurs à proposer d'arrêter les dosages dès le franchissement de ce seuil et de ne pas attendre l'élimination totale pour faire rentrer les patients à domicile. Le fait que la surface corporelle ne soit pas corrélée à la clairance du méthotrexate leur faisait dire que le calcul de la dose de méthotrexate basé sur cette surface n'était pas pertinent. L'explication donnée à la corrélation entre le taux d'ALAT et la clairance du méthotrexate était que ce taux reflète la fonction hépatique, qui si elle est altérée remplit moins son rôle de métabolisation du méthotrexate en 7-OH-MTX. Le fait que le volume de distribution

augmente avec le taux d'hémoglobine suggérait que les érythrocytes constituent un compartiment de stockage du méthotrexate.

- Lui et al. (40) ont développé en 2018 un modèle pour les enfants et jeunes adultes traités pour un ostéosarcome, d'après les données de 187 patients recevant du méthotrexate à la dose de 12 g/m² en 4 heures. Les données issues du génotypage des patients étaient intégrées à ce modèle (gènes analysés : ABCC1 (code pour MRP1) et 2 (code pour MRP2), ABCG2 (code pour la BCRP), SLCO1B1 (code pour OATP1B1), UGT1A1 (impliqué dans la glucuronoconjugaison)). Le modèle retenu était bi-compartimental. Le poids influait sur la clairance du méthotrexate. Sur les 54 Single Nucleotide Polymorphisms (SNP) testés sur le volume de distribution et la clairance, 4 étaient significativement corrélés à cette dernière : 3 sur le gène codant pour la BCRP, et 1 sur le gène UGT1A1. Cependant, ces SNP n'expliquaient pas plus de 2% de la variabilité de clairance observée entre les patients.

- Mei et al. (41) ont retenu en 2018 un modèle à 2 compartiments pour les patients atteints de lymphome primitif du SNC. Dans le modèle final, une augmentation de la créatininémie entraînait une diminution de la clairance du méthotrexate, une augmentation de la surface corporelle entraînait une augmentation de la clairance, et une augmentation de l'âge entraînait une augmentation du volume central de distribution, attribuée par les auteurs à une accumulation croissante du méthotrexate dans les érythrocytes avec l'âge.

- Hui et al. (42) ont développé en 2018 deux modèles à partir de données d'enfants traités pour une LAL ou un ostéosarcome. Des modèles à 2 compartiments ont été retenus.
  Dans la LAL, les variables influant significativement sur la clairance du méthotrexate étaient : âge, taille, poids, surface corporelle, créatininémie et clairance de la créatinine. Celles qui influaient significativement sur la clairance intercompartimentale étaient : âge, taille, poids et surface corporelle.
  Dans l'ostéosarcome, l'âge, la taille, le poids et la surface corporelle influaient significativement sur le volume central, la clairance du méthotrexate, le volume périphérique et la clairance intercompartimentale. La créatininémie, la clairance de la créatinine et le ratio dose/surface corporelle influaient également sur la clairance du méthotrexate.

V. Contre-Indications et Interactions Médicamenteuses

1. Contre-Indications

Les associations contre-indiquées mentionnées dans le Résumé des Caractéristiques du Produit du Méthotrexate (2) sont les suivantes :

- ◊ Probénécide : inhibition de la sécrétion tubulaire du méthotrexate par OAT1, OAT2, OAT3.
- ◊ Triméthoprime : aplasie médullaire par antagonisme de l'acide folique, et diminution de la sécrétion tubulaire du méthotrexate par compétition.
- ◊ Acide acétylsalicylique à dose ≥ 500 mg par prise : majoration de la toxicité hématologique du méthotrexate par diminution de sa clairance rénale (sécrétion tubulaire).
- ◊ Vaccin contre la fièvre jaune : risque de maladie vaccinale généralisée mortelle due à l'immunosuppression provoquée par le méthotrexate.

L'utilisation du méthotrexate est également contre-indiquée en cas de :

- ◊ Insuffisance Rénale Sévère
- ◊ Atteinte hépatique sévère
- ◊ Insuffisance Respiratoire Chronique
- ◊ Grossesse
- ◊ Allaitement
- ◊ Hypersensibilité au méthotrexate
- ◊ Alcoolisme Chronique
- ◊ Infection sévère

2. Associations déconseillées

- ◊ Phénytoïne, Fosphénytoïne : diminution de l'absorption digestive de l'anticonvulsivant, augmentation du métabolisme hépatique du méthotrexate et déplacement de sa liaison aux protéines plasmatiques.
- ◊ Vaccins vivants atténués autres que le vaccin contre la fièvre jaune : diminution de la réponse vaccinale, cas de dissémination.
- ◊ Ciprofloxacine : inhibition de la sécrétion tubulaire du méthotrexate.
- ◊ Pénicillines : inhibition de la sécrétion tubulaire du méthotrexate par inhibition d'OAT1 et OAT3.
- ◊ Anti-Inflammatoires Non Stéroïdiens autres que l'acide acétylsalicylique : majoration de la toxicité hématologique du méthotrexate par diminution de sa clairance rénale (sécrétion tubulaire par inhibition d'OAT1, OAT2, OAT3, MRP2, MRP4) et augmentation du risque d'insuffisance rénale aiguë par vasoconstriction de l'artériole glomérulaire afférente.
- ◊ Inhibiteurs de la Pompe à Protons (IPP) : Joerger et al. (43) ont montré en 2006, à l'aide d'un modèle de pharmacocinétique de population, que l'administration concomitante de benzimidazolés (antiparasitaires, IPP) entraînait une diminution de 27% de la clairance du méthotrexate et de 39% de celle du 7-OH-MTX, et invoquaient le rôle de l'inhibition de la BCRP et d'OAT3.

  La Food and Drug Administration (FDA) a publié en 2012 (44) les résultats d'une revue de la littérature et de l'analyse de la base américaine de pharmacovigilance portant sur l'interaction entre le méthotrexate et les IPP. Ces médicaments inhibent la pompe H+/K+ ATPase, augmentant ainsi le pH gastrique. La base de pharmacovigilance contient 7 cas impliquant

l'Oméprazole, 5 pour l'Esoméprazole et 2 pour le Pantoprazole, entraînant des toxicités rénale, hématologique et musculaire. Deux cas montrent un dechallenge positif, avec récupération d'une clairance du méthotrexate normale après arrêt de l'IPP. La littérature montre 2 cas d'élimination retardée du méthotrexate, 1 cas de myalgies (sans modification de la méthotrexatémie mais avec augmentation de la concentration de 7-OH-MTX de 70%), avec dechallenge et rechallenge positifs, et un cas de mucite sévère lors de l'administration concomitante d'Oméprazole, absente sans.

Les mécanismes évoqués sont :

- Une inhibition de la pompe H+/K+ ATPase présente sur l'épithélium rénal par les IPP, entraînant une diminution de la sécrétion tubulaire active du méthotrexate. Néanmoins les IPP ne modifient pas le pH urinaire, posant la question d'un réel effet sur cette pompe au niveau rénal.
- Une inhibition de l'efflux ATP-dépendant du méthotrexate par la BCRP dans les tubules proximaux rénaux. Néanmoins, les concentrations plasmatiques obtenues après traitement par IPP sont inférieures à la concentration inhibitrice moyenne de la BCRP.

Malgré un mécanisme non clairement élucidé, ces observations ont mené à une modification du RCP américain, et à une recommandation d'utiliser des antagonistes du récepteur H2 à l'histamine plutôt que des IPP chez les patients traités par méthotrexate.

3. Précautions d'emploi

- ◊ Sulfamides antibactériens : augmentation de la toxicité hématologique du méthotrexate
- ◊ Acide acétylsalicylique à doses antiagrégantes plaquettaires
- ◊ Ciclosporine : diminution réciproque des clairances des deux médicaments

4. Associations à prendre en compte

- ◊ Autres agents hépatotoxiques (azathioprine, rétinoïdes, sulfasalazine) : surveillance étroite. La consommation d'alcool doit être évitée au cours du traitement par méthotrexate.
- ◊ Médicaments fortement liés aux protéines plasmatiques (salicylés, sulfamides, tétracyclines, phénytoïne) : ils peuvent déplacer le méthotrexate, ce qui augmente le risque de toxicité.
- ◊ Les antibiotiques oraux tels que les tétracyclines et les antibiotiques à large spectre non absorbables peuvent interférer avec la circulation entérohépatique en inhibant la flore intestinale et en supprimant donc le métabolisme du méthotrexate par les bactéries.
- ◊ Immunosuppresseurs : immunodépression excessive avec risque de pseudo-lymphome
- ◊ Médicaments néphrotoxiques (produits de contraste iodés, aminosides, organoplatines, foscarnet, « ciclovirs », ciclosporine, tacrolimus) : renforcer la surveillance biologique
- ◊ Le méthotrexate augmente la concentration plasmatique de mercaptopurine. Une adaptation de dose est à considérer en cas d'administration concomitante.
- ◊ Les préparations vitaminiques contenant de l'acide folique ou dérivés peuvent diminuer l'efficacité du méthotrexate.
- ◊ Le protoxyde d'azote potentialise l'effet du méthotrexate sur le métabolisme des folates et entraîne donc un risque de majoration de sa toxicité. En effet, ce gaz inhibe la méthionine synthétase par inactivation de son cofacteur la vitamine B12. Cette enzyme est impliquée dans le cycle des folates puisque le N-5-méthyltétrahydrofolate cède un groupement carboné

durant cette réaction. Il est donc recommandé d'éviter ce type d'analgésie durant ou avant l'administration de méthotrexate.

- ◊ Les boissons acides comme certains sodas sont à éviter puisqu'ils acidifient les urines.
- ◊ Un case report publié en 2018 par Gowarty et al. (45) faisait état d'une interaction entre le méthotrexate et la nitrofurantoïne, à l'origine d'une élimination retardée du méthotrexate sans altération de la fonction rénale. Ce médicament est un substrat de la BCRP et un inhibiteur puissant de l'OAT3, transporteurs impliqués dans l'excrétion rénale du méthotrexate.
- ◊ Les Inhibiteurs de l'Enzyme de Conversion sont également à considérer puisqu'ils inhibent la vasoconstriction de l'artériole glomérulaire efférente.
- ◊ Les diurétiques favorisent l'apparition d'une insuffisance rénale aigüe en diminuant la volémie. De plus, les diurétiques thiazidiques entraînent une acidification urinaire.

VI. Posologie, Mode d'administration, Prévention de la toxicité, Surveillance

Le RCP français (2) stipule qu'avant chaque administration de méthotrexate, il est indispensable de vérifier la numération-formule sanguine et le taux de plaquettes, ainsi que l'absence d'une éventuelle atteinte rénale et/ou insuffisance hépatique. Une radiographie de thorax doit également être effectuée avant de débuter le traitement.

Selon ce RCP, l'administration doit être reportée en cas de :

- Leucopénie < 1500/mm^3
- Neutropénie < 200/mm^3
- Thrombopénie < 75 G/L
- Bilirubinémie > 20,4 µmol/L
- Taux d'Alanine Aminotransférase (ALAT) > 450 UI/L
- Présence de mucite
- Effusion pleurale ou liquide d'ascite
- Clairance de la créatinine < 60 mL/min

Certains auteurs recommandent de diminuer la dose de 50% si la clairance de la créatinine est comprise entre 30 et 60 mL/min, et de 75% entre 10 et 30 mL/min (46).

Gerber et al. (47) ont comparé en 2007 la clairance de la créatinine mesurée sur les urines de 24 heures et la clairance calculée avec la formule de Cockcroft et Gault, dans une étude chez des patients d'âge médian 61 ans atteints d'un lymphome primitif du SNC, lors de laquelle la dose de méthotrexate était basée sur l'estimation de la fonction rénale par la clairance de la créatinine. Ils concluaient à une absence de différence significative de dose entre les deux méthodes et recommandaient donc l'usage de la formule de Cockcroft, plus simple à mettre en application.

En 2018, Barreto et al. (48) ont proposé d'intégrer la cystatine C à l'estimation du débit de filtration glomérulaire avant administration de méthotrexate. En effet, la masse musculaire étant fréquemment diminuée chez les patients atteints de cancer, la créatininémie l'est également, et les formules utilisant la créatininémie comme seul marqueur ont tendance à surestimer le débit de filtration glomérulaire. La cystatine est moins influencée par la masse musculaire. Ils illustraient leurs propos avec deux cas de patients traités pour une neurolymphomatose pour lesquels la formule de Cockcroft et Gault avait surestimé le DFG et la formule CKD-EPI$_{\text{créat+cystatine}}$ en avait fait une meilleure estimation.

Une attention particulière doit être portée aux personnes âgées recevant du méthotrexate, leurs fonctions hépatique et rénale étant souvent altérées et leur stock de folates diminué. De plus, la prise concomitante d'autres médicaments est fréquente, augmentant le risque d'interactions médicamenteuses.

1. Posologie

Contrairement à de nombreux anticancéreux, le méthotrexate a un index thérapeutique large.

La dose optimale, la durée d'administration et l'intervalle entre deux doses optimaux ne sont pas clairement définis et varient selon la pathologie traitée.

La corrélation entre dose, durée d'administration et concentrations plasmatiques est établie depuis de nombreuses années. Par exemple, Borsi et al. (49) ont comparé en 1988 les paramètres

pharmacocinétiques du méthotrexate entre des enfants recevant 8 g/m², certains en 6 heures pour un ostéosarcome et d'autres en 24 heures pour une LAL. La demi-vie de 1ère phase, la clairance totale et le volume de distribution étaient identiques dans les 2 groupes. La méthotrexatémie à la fin de la perfusion était 4 fois plus élevée lorsqu'elle avait duré 6 heures, et la méthotrexatémie 24 heures après le début de la perfusion était 9 fois plus élevée lorsqu'elle avait duré 24 heures.

De nombreuses équipes ont étudié la corrélation entre ces concentrations plasmatiques et le pronostic de la maladie :

a) Dans l'ostéosarcome

Dans une étude conduite en 1996, Bacci et al. (50) se sont appuyés sur des données préalables suggérant que la nécrose tumorale induite par la chimiothérapie néoadjuvante était un facteur pronostique important dans l'ostéosarcome, et que des méthotrexatémies à l'équilibre supérieures à 700 ou 1000 µmol/L selon les études étaient corrélées à une meilleure réponse histologique. Ils ont testé cette hypothèse chez 151 enfants traités par méthotrexate à une dose de 8, 10 ou 12 g/m², doxorubicine et cisplatine. La méthotrexatémie était dosée à la fin la perfusion de 6 heures et une moyenne était effectuée pour chaque patient en prenant les valeurs de ses deux cures préopératoires. La moyenne globale était de 667,5 µmol/L, avec une grande variabilité interindividuelle. La méthotrexatémie à H6 était significativement corrélée à la dose reçue, et était significativement plus élevée chez les patients avec une réponse histologique complète que chez les autres. En effet, le taux de réponse complète était de 9% lorsque la méthotrexatémie moyenne à H6 était inférieure à 599 µmol/L et de 37% lorsqu'elle se situait entre 700 et 799 µmol/L. Il n'y avait pas de bénéfice observé pour les valeurs supérieures à 800 µmol/L. Une analyse multivariée montrait une corrélation étroite entre la réponse histologique et la méthotrexatémie à H6, ainsi qu'avec le type histologique.
Les mêmes auteurs ont publié 10 ans plus tard (51) les résultats d'une étude similaire conduite chez un nombre plus important de patients, qui ne retrouvait pas d'association entre la méthotrexatémie et la réponse histologique.

En 2005, Zelcer et al. (52) ont étudié la relation entre la méthotrexatémie en fin de perfusion et le pronostic chez 52 patients traités pour ostéosarcome par du méthotrexate à la dose de 12 g/m² administré en 4 heures. Ils n'observaient pas de corrélation et évoquaient la variabilité intraindividuelle et la petite taille de l'échantillon comme facteurs confondants.

En 2009, Lin et al. (53) ont étudié la relation entre la méthotrexatémie et le pronostic et la tolérance chez 90 patients adultes traités par méthotrexate à une dose de 6 ou 8 g/m² administrée en 6 heures. La méthotrexatémie maximale était corrélée à la dose, mais ni à l'âge ni au sexe. La survie sans progression à 1 et 2 ans était significativement plus élevée chez les patients dont la méthotrexatémie maximale était supérieure à 500 µmol/L, et une tendance était observée pour la survie globale. Chez les patients ayant eu une méthotrexatémie supérieure à 10 µmol/L à H24 ou 1 µmol/L à H48, l'incidence des neutropénies, mucites, rashs et fièvres était significativement plus élevée. Les quelques patients ayant développé des toxicités sévères avaient tous des méthotrexatémies supérieures à ces seuils.

Wang et al. (54) ont publié en 2018 une étude portant sur 567 patients traités par 2817 cycles de méthotrexate à une dose comprise entre 8 et 12 g/m² pour un ostéosarcome. Ces patients étaient classés selon leur méthotrexatémie en fin de perfusion : < 700 µmol/L , > 700 µmol/L , > 1000 µmol/L et > 1500 µmol/L. L'incidence des toxicités de grade ≥ 3 était significativement plus élevée lors des cycles entraînant une méthotrexatémie maximale > 1500 µmol/L, mais aucune corrélation n'était retrouvée entre cette méthotrexatémie et la survie sans progression ni la survie globale.

b) Dans le Lymphome Primitif du Système Nerveux Central

Ferreri et al. (55) ont étudié en 2004 l'impact de l'Aire Sous la Courbe du méthotrexate et de la clairance de la créatinine sur le pronostic de 45 patients traités pour un lymphome primitif du SNC. Les facteurs significativement corrélés à une AUC élevée étaient l'âge jeune, le débit de perfusion, et la dose intensité (en mg/m²/semaine). Une clairance de la créatinine inférieure à 85 mL/min était associée à une incidence augmentée de toxicité sévère. En analyse multivariée, une clairance de la créatinine inférieure à 85 mL/min et une AUC supérieure à 1100 µmol/L.h étaient significativement corrélées à une meilleure survie globale à 3 ans. Les auteurs suggéraient d'augmenter les doses chez les patients ayant une bonne clairance de la créatinine afin d'améliorer leur pronostic, et de perfuser le méthotrexate à un débit supérieur à 800 mg/m²/heure, cela étant associé à une AUC plus élevée mais pas à une toxicité majorée. Les anticonvulsivants, fréquemment administrés dans cette pathologie, étant pour certains d'entre eux inducteurs enzymatiques, ils interagissent avec les aldéhyde-oxydases hépatiques et donc avec le métabolisme du méthotrexate, diminuant sont AUC et son efficacité. Ils proposaient un schéma avec une dose supérieure à 3 g/m², administrée en 4 à 6h toutes les 3 à 4 semaines.

Joerger et al. (56) ont mené en 2010 une étude similaire chez 55 patients. L'AUC du méthotrexate était significativement plus élevée chez les patients répondeurs. Une valeur supérieure à 1100 µmol/L.h conférait un Odds Ratio de 3,5 pour une réponse favorable. En analyse multivariée, l'AUC et le score de la maladie étaient des facteurs prédictifs du pronostic. Néanmoins, seul le premier cycle de chaque patient a été pris en compte, et une variabilité intraindividuelle est habituellement observée. Les auteurs soulignaient l'importance d'atteindre une AUC optimale, et proposaient une dose individualisée à partir des données obtenues lors du premier cycle.

Blasco et al. (57) ont publié en 2010 les résultats d'une analyse rétrospective portant sur l'influence de l'exposition au méthotrexate sur le pronostic de 37 patients traités par le protocole MBVP (Méthotrexate, Carmustine, Etoposide, Méthylprednisolone) pour un lymphome primitif du Système Nerveux Central. Ils soulignaient que l'introduction du méthotrexate a doublé la médiane de survie des patients dans cette pathologie. Le traitement standard dans l'hôpital où a été réalisée l'étude était de 3 cycles de MBVP suivis d'une radiothérapie encéphalique, avec une réponse très différente selon les patients. La dose de méthotrexate était de 3 g/m² en 6 ou 24 heures, 1 g/m² pour les patients de plus de 60 ans, avec réduction de dose en cas d'insuffisance rénale. Les patients n'ayant pas reçu les 3 cycles (à cause d'une inefficacité du traitement) avaient une survie globale médiane très inférieure aux autres. Parmi ceux qui les avaient reçus, la dose de méthotrexate, l'exposition systémique et les facteurs pronostiques liés à la maladie n'étaient pas différents entre répondeurs et non répondeurs. La clairance du méthotrexate était significativement corrélée à celle de la créatinine. L'AUC moyenne n'était pas différente entre les patients ayant reçu leurs 3 cycles et les autres, montrant une absence d'effet sur la réponse précoce.

En 2012, Kasenda et al. (58) ont évalué la valeur pronostique de l'AUC du méthotrexate dans le lymphome primitif du SNC chez 49 patients de plus de 60 ans traités à des doses de 3 ou 3,5 g/m². Un indice de Karnofsky supérieur à 70 % était corrélé au taux de réponse, qui était inversement corrélé à l'AUC. Ce résultat étonnant semble être dû à la faible taille de l'échantillon et à la mauvaise répartition des facteurs de risque selon la valeur de l'AUC.

En 2015, Dalia et al. (59) ne trouvaient pas de différence significative dans la survie sans progression ni la survie globale entre des doses de 3,5 g/m² et des doses supérieures chez 50 patients traités pour un lymphome primitif du SNC, avec moins de toxicités à la dose de 3,5 g/m².

En 2018, Farhi et al. (60) ont étudié l'impact de la dose-intensité relative du méthotrexate, définie comme le ratio de la dose effectivement reçue sur la dose protocolaire, sur le pronostic de patients de plus de 60 ans traités pour un lymphome primitif du SNC. En analyse univariée, une amélioration significative de la survie sans progression et de la survie globale était observée chez les patients avec une dose-intensité relative supérieure à 75%. En analyse multivariée, aucune corrélation n'était statistiquement significative. L'âge peut être un facteur confondant, certains médecins diminuant systématiquement la dose chez les patients les plus âgés.

c) Dans les autres hémopathies lymphoïdes

Evans et al. (32) et (33) ont mis en évidence dans les années 1980 une survie significativement plus élevée chez les patients ayant une clairance lente par rapport à ceux chez qui elle était rapide, dans une population de 108 enfants d'âge médian 4,1 ans traités pour une LAL par 1 g/m² de méthotrexate. La méthotrexatémie pic obtenue chez les patients avec une clairance rapide était inférieure à 20 µmol/L, concentration rapportée pour être nécessaire au transport passif dans les cellules leucémiques. Les patients dont la méthotrexatémie pic moyenne était inférieure à 16 µmol/L avaient une probabilité de rémission complète significativement plus basse et de rechute hématologique significativement plus élevée que les autres.

En 2005, le groupe Berlin-Francfort-Munich (61) a publié les résultats d'une étude effectuée chez 505 enfants traités pour une hémopathie maligne B, visant à savoir si le passage du temps de perfusion de 24 heures à 4 heures permettait de diminuer la survenue de mucites sans altérer la survie sans événement, et si la réduction de la dose de 5 g/m² à 1 g/m² dans les LNH B de masse tumorale modérée permettait de maintenir une survie sans événement équivalente. Il en ressortait que l'incidence de mucites était effectivement diminuée lors d'une administration du méthotrexate en 4 heures. Les méthotrexatémies à H23, H42 et H48 étaient plus élevées chez les patients ayant reçu une perfusion de 24 heures. Concernant l'efficacité du traitement, les patients ont été stratifiés en 4 groupes de risque. Pour les 2 groupes de meilleur pronostic, la survie sans progression n'était pas inférieure pour une administration en 4 heures par rapport à 24 heures. Pour les 2 groupes de moins bon pronostic, elle était significativement altérée, avec un Hazard Ratio de rechute à 1 an de 3,56 chez les patients ayant eu une perfusion de 4 heures. Les groupes de moins bon pronostic correspondant à une masse tumorale supérieure, les auteurs émettaient l'hypothèse que ces tumeurs contiennent davantage de cellules résistantes au méthotrexate, et donc qu'une exposition plus longue permet de gagner en efficacité. Pour les patients présentant un LNH B de masse tumorale modérée, le passage de 5 g/m² à 1 g/m² n'entraînait pas de diminution significative de la survie sans événement.

En 2006, Nathan et al. (21) rapportaient les résultats de 3 études testant l'efficacité du méthotrexate à très haute dose (33,6 g/m²) dans la prévention des rechutes du SNC chez des patients pédiatriques atteints de LAL. Ces essais étaient basés sur une étude pilote ayant montré que cette dose permettait d'obtenir une concentration dans le LCR, répartie de façon uniforme, de 10 µmol/L à l'équilibre et de la maintenir supérieure à 1 µmol/L pendant 36 heures.

- ◊ Le premier essai comparait le méthotrexate intraveineux à la combinaison « irradiation encéphalique + méthotrexate intrathécal », chez 181 patients. La survie sans événement et la survie globale n'étaient pas significativement différentes entre les deux groupes, mais le Quotient Intellectuel était plus affecté à long terme (durée de suivi supérieure à 10 ans) dans le groupe « méthotrexate (MTX) IT + irradiation encéphalique » que dans le groupe MTX IV. La moyenne des concentrations dans le LCR a été mesurée chez certains patients. Il n'y avait pas de différence dans le pronostic en fonction de ces concentrations. Les patients du groupe méthotrexate IV avaient tendance à moins connaître de rechutes siégeant au niveau de la moelle osseuse, mais davantage de rechutes du SNC.

- ◊ Le deuxième essai comparait des patients recevant la combinaison « méthotrexate IV + IT » à des patients comparables du premier essai. Il mettait en évidence une diminution significative du risque de rechute impliquant le SNC chez les patients traités par cette combinaison, mais pas d'effet sur la survie sans événement ni la survie globale (durée de suivi supérieure à 5 ans).
- ◊ Le troisième essai comparait le méthotrexate IV et le méthotrexate IT, et ne montrait pas de différence significative dans la survie sans événement ni la survie globale, ni de corrélation entre la concentration de méthotrexate dans le SNC et le pronostic. Les toxicités étaient néanmoins plus fréquentes dans le groupe méthotrexate IV (neutropénie principalement), imposant une réduction de dose ou un arrêt du traitement par méthotrexate chez 27% des patients de ce bras.

Le taux de rechute du SNC était plus élevé dans ces 3 études que dans d'autres protocoles contemporains. Les auteurs émettaient l'hypothèse que cela était dû à l'utilisation de doses plus faibles de méthotrexate intrathécal. L'irradiation encéphalique avait un effet péjoratif sur les fonctions cognitives. La neurotoxicité n'était pas majorée par l'emploi de très hautes doses de méthotrexate par rapport à des hautes doses. La concentration optimale de méthotrexate dans le LCR n'était pas définie, mais une cible basse de 1 µmol/L était acceptée. La perfusion intraveineuse de méthotrexate à la dose de 1 g/m² entraînait des concentrations dans le LCR de 0,2-0,3 µmol/L, nécessitant l'ajout d'administrations intrathécales pour atteindre la cytotoxicité. Avec une dose de 33,6 g/m², aucun patient n'a eu une concentration dans le LCR inférieure à 1 µmol/L, et la toxicité a été majorée. Les auteurs concluaient donc que ces essais mènent à recommander des doses plus faibles, de l'ordre de 6 à 8 g/m².

En 2011, Mikkelsen et al. (62) ont étudié l'impact de la réduction du temps d'administration de 24 à 4 heures sur l'effet du traitement chez 356 enfants traités pour une LAL par méthotrexate à la dose de 1 g/m². La méthotrexatémie restait supérieure à 1 µmol/L durant un temps 2,5 fois plus long lors d'une administration de 24 heures par rapport à 4 heures. Une perfusion de 24 heures menait à une accumulation significativement supérieure de méthotrexate polyglutamylé, sauf pour un sous-type de LAL B. L'inhibition de la synthèse de novo des purines était également significativement supérieure lors d'une administration sur 24 heures, ainsi que la réduction du nombre de cellules leucémiques circulantes, qui était corrélée à l'accumulation de méthotrexate polyglutamylé. Ces deux facteurs étaient liés au risque de rechute.

La méthotrexatémie semblant corrélée au pronostic de la maladie, certaines équipes ont d'obtenir une concentration à l'équilibre cible en ajustant le débit de la perfusion en fonction des valeurs mesurées en cours d'administration :

Wall et al. (63) proposaient en 2000 une méthode pour ajuster la dose de méthotrexate reçue par 24 enfants traités pour rechute de LAL par 5 g/m² perfusés en 24 heures, afin d'obtenir une concentration à l'équilibre cible de 65 µmol/L, valeur provenant des résultats d'une étude précédente. La clairance était calculée par dosages de la méthotrexatémie à H1 et H6, ce qui permettait d'estimer une concentration à l'équilibre prédite, et le débit était ajusté à partir de H8 en fonction du résultat obtenu. Douze patients ont nécessité une réduction de la dose, et 2 une augmentation. La clairance calculée à H1 et H6 était fortement corrélée à la clairance finale. La dose médiane reçue par les patients était de 4519 mg/m². La variabilité interindividuelle de la concentration à l'équilibre a été fortement diminuée par cette adaptation de dose. Les facteurs prédictifs de faible clairance du méthotrexate dans cette étude étaient le sexe féminin, l'âge supérieur à 6 ans et un traitement antérieur par amphotéricine B à dose supérieure à 30 mg/kg. Les filles auraient en effet une plus grande capacité de polyglutamylation du méthotrexate. Cela jouerait un rôle dans le meilleur pronostic qu'elles ont par rapport aux garçons dans cette maladie.

Foster et al. (64) ajustaient également la dose en 2018 chez 22 enfants traités par méthotrexate à la dose de 5 g/m², administrée en 24 heures. La méthotrexatémie cible était de 50-80 µmol/L. Le débit pouvait être diminué et/ou l'administration suspendue pendant 1 heure en cas de méthotrexatémie supérieure à 100 µmol/L à H2 et/ou H6-8. La concentration à H24 moyenne obtenue était de 57 µmol/L et la dose reçue moyenne de 4,1 g/m². L'incidence des toxicités était moindre que dans d'autres études portant sur le même type de patients.

2. Hyperhydratation alcaline

Afin d'éviter la survenue d'une Insuffisance Rénale Aiguë (IRA), une hydratation adéquate et une alcalinisation des urines (objectif de pH > 7) sont impératives. Le but est d'éviter une cristallisation du méthotrexate dans les tubules rénaux, favorisée en milieu acide et en cas de faible diurèse.
Plusieurs auteurs affirment que l'alcalinisation est plus importante que l'hyperhydratation dans la prévention de la toxicité rénale aiguë.

Le RCP de la Food and Drug Administration (FDA), agence du médicament des États-Unis, (65) recommande d'administrer 1000 mL/m² de soluté IV en 6 heures avant l'administration de méthotrexate, puis de continuer à un débit de 125 mL/m²/h (3 L/m²/jour) durant l'administration et jusqu'à 48h après sa fin.

Treon et al. (7) proposaient en 1996 un débit urinaire optimal de 0,1-1,8 mL/m²/min chez l'enfant en cas de pH urinaire supérieur à 7, et plus élevé en cas de pH inférieur.

Mikkelsen et al. (66) ont étudié en 2014 l'influence de la durée de pré-hydratation sur la néphrotoxicité du méthotrexate, chez 47 enfants traités pour une LAL par une dose de 5 ou 8 g/m². Chacun d'entre eux recevait un cycle avec une pré-hydratation de 4 heures, et un autre où elle durait 12 heures. Cette hydratation consistait en du Glucose 5% contenant 40 mmol/L de bicarbonate de sodium et 20 mmol/L de chlorure de potassium, administré par cathéter veineux central à un débit de 150 mL/m²/h. L'hydratation était poursuivie après la perfusion de méthotrexate, à un débit de 125 mL/m²/h jusqu'à l'obtention d'une méthotrexatémie inférieure à 0,2 µmol/L, et augmentée en cas d'atteinte rénale ou d'élimination retardée du méthotrexate. Aucune différence n'était observée entre les deux durées de pré-hydratation, les données suivantes ayant été analysées : méthotrexatémies à

H23, H36, H42, AUC_{MTX}, retard d'élimination, incidence de mucite, toxicité hématologique, durée d'hospitalisation. L'incidence de la toxicité rénale était élevée dans cette étude, mais pas différente selon la durée de la pré-hydratation.
Il ne paraît donc pas nécessaire de pré-hydrater les patients plus de 4 heures pour ces doses de méthotrexate.

Mir et al. (67) ont tenté en 2010 de privilégier l'alcalinisation par rapport à l'hyperhydratation, qui pourrait être délétère en diminuant la méthotrexatémie pic et l'AUC du méthotrexate, les empêchant d'atteindre les valeurs cibles identifiées comme prédictives d'efficacité.
Ils ont testé leur hypothèse lors d'une étude prospective conduite chez 26 patients recevant 344 cycles de méthotrexate à une dose comprise entre 8 et 12 g/m² pour un ostéosarcome. Le protocole d'hydratation était le suivant : 500 mL de bicarbonate de sodium 8,4% (soit 500 mmol) sur 1 heure avant l'administration de méthotrexate (qui était dissout dans 500 mL de NaCl 0,9%, et perfusé en 4 heures), puis à J1, J2 et J3, tandis que l'hydratation se faisait uniquement par voie orale. Une supplémentation potassique intraveineuse était également entreprise. Les patients sortaient d'hospitalisation lorsque leur méthotrexatémie était inférieure à 0,1 µmol/L, avec la consigne de maintenir des apports liquidiens supérieurs à 2 L/jour pendant 3 jours. Ce protocole a permis d'obtenir un pH urinaire > 7,5 chez tous les patients. Il n'y a pas eu d'épisode de néphrotoxicité sévère, ni de dégradation progressive de la fonction rénale au fur et à mesure des cycles. Une hypokaliémie secondaire à l'alcalinisation a été observée chez certains patients, facilement résolue par l'administration de potassium intraveineux. La pharmacocinétique du méthotrexate n'était pas modifiée, avec atteinte du pic cible. Les auteurs concluaient que l'administration de méthotrexate avec hyperalcalinisation et sans hyperhydratation est sûre, et ouvre la voie à un traitement ambulatoire de ces patients pris en charge pour un ostéosarcome.

Howard et al. (68) recommandaient en 2016 d'administrer 12,5 mmol/m² de bicarbonate de sodium en cas de pH urinaire inférieur à 7 mais supérieur à 6,5 ; et 25 mmol/m² s'il était inférieur à 6,5. Chez les patients présentant une alcalose sérique mais pas urinaire, l'administration d'acétazolamide, inhibiteur de l'anhydrase carbonique, était efficace.

Par exemple, dans le protocole LMBA pour le traitement du lymphome de Burkitt, l'hydratation se déroule de la manière suivante : 500 mL de Bicarbonate de sodium 1,4 % pendant 2 heures avant puis pendant 2 heures après l'administration de méthotrexate, puis apports liquidiens de 3 L/m² en 48 heures, contenant 1/3 de bicarbonate de sodium 1,4%, à poursuivre jusqu'à l'obtention d'une méthotrexatémie inférieure à 0,5 µmol/L.

Le groupe « Lymphomes Oculo-Cérébraux » recommande les modalités d'hydratation suivantes pour une administration de méthotrexate à une dose supérieure à 1,5 g/m² en 4 heures (69) : 500 mL de bicarbonate de sodium 1,4% en 2 heures avant puis pendant 2 heures après le méthotrexate, avec ajout de bicarbonate de sodium 1,4% en cas d'alcalinisation insuffisante et administration de diurétiques (Acétazolamide ou Furosémide) en cas de diurèse insuffisante, puis deux litres de soluté polyionique avec glucose 5% plus 1 litre de Bicarbonate de sodium 1,4% par 24 heures.

3. Sauvetage par l'acide folinique

L'administration de hautes doses de méthotrexate se fait toujours avec administration séquentielle d'acide folinique, qui restaure les réserves cellulaires de folates réduits et limite la toxicité sur les tissus non tumoraux en leur permettant une reprise du cycle cellulaire.

Les molécules commercialisées en France sont les suivantes (70), (71), (72) :

- <u>Voie injectable :</u>
  - Folinate de calcium (mélange racémique de dérivés lévogyres et dextrogyres (carbone chiral en position 6) dont seule la forme lévogyre est pharmacologiquement active). Le temps de demi-vie du métabolite actif est d'environ 6 heures. L'excrétion est principalement rénale, sous forme de métabolites inactifs 5- et 10-formyl tétrahydrofolates.
  - Lévofolinate de calcium (uniquement la forme lévogyre de l'acide folinique). Le temps de demi-vie du métabolite actif est d'environ 3 heures.

- <u>Voie orale :</u>
  - Folinate de calcium (mélange racémique). La biodisponibilité est très bonne. Le diastéréoisomère L actif est préférentiellement absorbé au niveau de l'intestin. La concentration plasmatique maximale en dérivé actif est obtenue 2 à 3 heures après la prise par voie orale. Sa demi-vie d'élimination est de 6 à 7 heures

La demi-vie du dérivé D inactif est plus longue que celle du L actif. Une administration intraveineuse répétée risque donc d'entraîner une accumulation de l'isomère D, pouvant entrer en compétition avec le L pour la captation cellulaire.
L'acide folinique ne passe pas la Barrière Hémato-Encéphalique.

L'administration d'acide folique est inefficace chez des patients traités par méthotrexate, sa réduction en acide folinique étant bloquée par l'inhibition de la DHFR. Ses indications se limitent aux carences d'apport ou par malabsorption et à la prévention des anomalies de fermeture du tube neural chez les femmes en période péri-conceptionnelle.

Boarman et al. (73) ont montré en 1990 sur des cellules de cancer mammaire exposées au méthotrexate que la concentration d'acide folinique nécessaire à la réversion de la cytotoxicité augmentait plus rapidement que la méthotrexatémie : elle était de 5-10 µmol/L pour une méthotrexatémie de 0,5 µmol/L et de 50-100 µmol/L lorsqu'elle était de 3 µmol/L. Pour une méthotrexatémie de 10 µmol/L, les cellules n'étaient pas sauvées malgré une concentration d'acide folinique de 100 µmol/L. Dans ces mêmes cellules, les concentrations intracellulaires de méthotrexate et de méthotrexate polyglutamylé augmentaient avec la méthotrexatémie. L'ajout d'acide folinique entraînait une diminution des dérivés polyglutamylés d'environ 50%, et une restauration du pool intracellulaire de folates réduits. Cela montre une interaction compétitive entre le méthotrexate et l'acide folinique.

Des abaques guidant la durée et l'intensité du sauvetage par l'acide folinique en fonction de la méthotrexatémie ont été développés. On parle d'administration d'acide folinique guidée pharmacocinétiquement.

Celui du protocole GRAALL utilisé dans la LAL est exposé dans le **tableau 2** :

Tableau 2: Protocole de sauvetage par l'acide folinique de l'étude GRAALL (17)

Méthotrexatémie	H36	H48	H72	H96	H>96
>10 µmol/l	25mgx4/j	100mgx4/j	400mgx4/j	400mgx4/j	400mgx4/j
5-10 µmol/l	25mgx4/j	25mgx4/j	200mgx4/j	400mgx4/j	400mgx4/j
1-5 µmol/l	25mgx4/j	25mgx4/j	100mgx4/j	200mgx4/j	400mgx4/j
0,5-1 µmol/l	25mgx4/j	25mgx4/j	25mgx4/j	100mgx4/j	200mgx4/j
0,2-0,5 µmol/l	25mgx4/j	25mgx4/j	25mgx4/j	25mgx4/j	100mgx4/j
<0,2 µmol/l	NA	NA	NA	NA	NA

La **figure 10** présente un autre exemple d'adaptation du sauvetage par l'acide folinique en fonction de la méthotrexatémie :

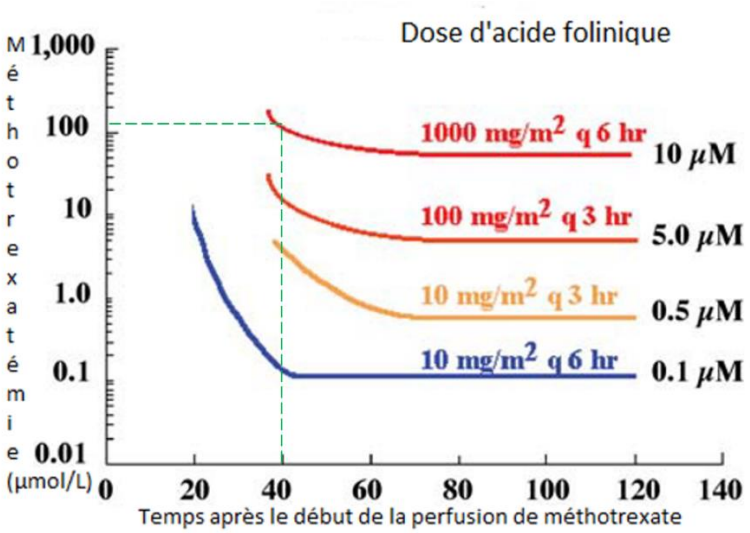

Figure 10 : Adaptation du sauvetage par acide folinique en fonction de la méthotrexatémie à différents temps. D'après Widemann et al. (27). Exemple d'interprétation : une méthotrexatémie de 120 µmol/L à H40 nécessite une administration d'acide folinique à la dose de 1000 mg/m² toutes les 6 heures jusqu'à l'obtention d'une méthotrexatémie inférieure à 10 µmol/L.

L'administration d'acide folinique débute généralement 36 à 42 heures après le début de la perfusion de méthotrexate dans la LAL, 24 heures dans l'ostéosarcome et le lymphome (74).
Elle doit être poursuivie jusqu'à l'obtention d'une méthotrexatémie inférieure à 0,1-0,05 µmol/L.

Il est nécessaire d'administrer l'acide folinique à la dose minimale efficace et au bon moment, afin de limiter la toxicité du méthotrexate tout en évitant d'annuler l'effet cytotoxique sur les cellules malignes.

Plusieurs auteurs ont évoqué un possible sur-sauvetage par l'acide folinique, qui entraînerait une diminution de la réponse à la chimiothérapie.

Skärby et al. (75) ont étudié cela en 2006 chez 419 enfants traités pour une LAL, classifiés en groupes de risque et pour lesquels l'administration d'acide folinique suivait des abaques préétablis. Ils observaient une importante variabilité intraindividuelle, tant pour la dose d'acide folinique reçue que pour la valeur de la méthotrexatémie à H23. Les résultats combinés de tous les groupes de risque suggéraient qu'une haute dose d'acide folinique était corrélée à un risque plus élevé de rechute, malgré le fait que cette haute dose fût également corrélée à des méthotrexatémies hautes et à un temps d'élimination allongé, qui sont pourtant des facteurs pronostiques positifs. Les auteurs soulignaient la nécessité d'une étude prospective pour valider ces résultats, mais alertaient sur l'importance du choix du ratio méthotrexate / acide folinique dans les protocoles ultérieurs.

4. Surveillance après administration

Les éléments à contrôler régulièrement après l'administration de méthotrexate sont : poids, diurèse, pH urinaire à chaque miction, créatininémie, bilan hépatique, hémogramme, état de la muqueuse buccale et survenue de troubles digestifs (46).

Des dosages plasmatiques de méthotrexate doivent être réalisés à intervalles réguliers, la méthotrexatémie étant le meilleur facteur prédictif de toxicité.

Le gold standard pour le dosage de la méthotrexatémie est la Chromatographie Liquide à Haute Pression (HPLC) couplée à une détection par Ultra-Violets, fluorescence ou spectrométrie de masse, mais cette méthode est longue et coûteuse. Les autres méthodes disponibles sont enzymatiques ou par immunofluorescence : Fluorescence Polarization Immunoassay (FPIA), Enzyme Inhibition Assay, Enzyme-Multiplied Immunoassay. Parmi elles, la plus sensible est la FPIA. Les méthodes autres que l'HPLC présentent toutes une réaction croisée avec le DAMPA. Une variabilité importante est observée entre ces différentes techniques. Les résultats sont donc à prendre avec précaution, notamment pour le sauvetage par l'acide folinique dont le schéma est basé sur la méthotrexatémie.
Il est nécessaire d'harmoniser la technique de dosage lors des essais multicentriques (76).

Le RCP des États-Unis (65) recommande de doser la créatininémie et la méthotrexatémie 24 heures après le début de la perfusion de méthotrexate et au moins une fois par jour jusqu'à ce que la méthotrexatémie soit inférieure à 0,05 µmol/L.

Piard et al. (77) ont estimé en 2007, grâce à un modèle de pharmacocinétique de population construit grâce aux données de 79 enfants traités pour une LAL par méthotrexate à la dose de 5 g/m² perfusée en 24 heures, que les méthotrexatémies dosées à H24 et H48 permettaient une prédiction précise du moment auquel le seuil de 0,2 µmol/L serait atteint. Les auteurs recommandaient donc de limiter les dosages à ces moments, pour le confort des patients et des raisons économiques.

VII. Pharmacogénétique et Résistances

1. Pharmacogénétique

La pharmacogénétique cherche à identifier l'origine génétique de la variabilité interindividuelle de la réponse aux médicaments. Elle est largement appliquée à l'étude des paramètres pharmacocinétiques et des résistances au méthotrexate.
Lors de son travail de thèse, soutenu en 2010, Nicolas Pottier (78) a utilisé des puces à ADN pour identifier un profil d'expression génique associé à la réponse au méthotrexate dans le traitement de la LAL pédiatrique. Il a mis en évidence 48 gènes dont l'expression était significativement associée à une réduction du nombre de cellules circulantes après traitement. Certains sont impliqués dans le métabolisme des nucléotides, d'autres dans la prolifération cellulaire et l'apoptose, ou la réplication et la réparation de l'ADN. Il retrouvait une association significative entre des niveaux bas d'expression de Dihydrofolate Réductase, Thymidylate Synthase et Cytidine Triphosphate synthase (enzyme impliquée dans la synthèse des bases pyrimidiques) et une mauvaise réponse au méthotrexate. Ces résultats suggèrent qu'un faible niveau d'expression de ces gènes correspond à une faible proportion de cellules leucémiques en phase S, qui est la phase du cycle cellulaire durant laquelle le méthotrexate est actif.

La Méthylènetétrahydrofolate Réductase catalyse la réduction du 5,10-méthylènetétrahydrofolate en 5-méthyltétrahydrofolate, forme circulante prédominante qui cède un groupement carbone lors de la reméthylation de l'homocystéine en méthionine par la méthionine synthase. Des polymorphismes ont été identifiés, notamment les substitutions 677C>T (entraînant le remplacement d'une alanine par une valine sur la protéine) et 1298 A>C (glutamine → alanine), connues pour entraîner une réduction de 30 à 60% de l'activité de l'enzyme. Les patients ayant une base T en position 677 développent une hyperhomocystéinémie, tandis que ceux ayant un C en position 1298 voient l'activité de leur MTHFR diminuée, sans retentissement sur le taux d'homocystéine.

Ongaro et al. (79) ont montré en 2009 chez 122 adultes traités par méthotrexate à faible dose en maintenance d'une LAL que la toxicité hépatique et la leucopénie augmentaient proportionnellement au nombre d'allèles T en position 677 du gène de la MTHFR.
Une délétion en position 19 du gène de la DHFR était également associée à une hépatotoxicité accrue dans cette étude.
La survie globale à 2 ans était significativement altérée chez les patients porteurs du génotype 677TT pour la MTHFR.

En 2011, d'Angelo et al. (80) ont étudié l'influence des polymorphismes de la MTHFR sur la toxicité et l'efficacité du traitement par méthotrexate en phase de consolidation chez 151 enfants atteints de LAL. Ils ne retrouvaient pas d'influence du génotype de cette enzyme sur la sévérité de la maladie. Les patients homozygotes 677TT avaient un risque 12 fois supérieur aux autres de développer des toxicités non hématologiques. La survie sans progression et la survie globale étaient significativement inférieures chez ces patients.

El Khodary et al. (81) se sont focalisés en 2012 sur le polymorphisme en position 677 et ont étudié son influence chez 40 enfants égyptiens traités par méthotrexate à la dose de 2 g/m² pour une LAL. La répartition des génotypes était la suivante : 55% CC, 35% CT, 10% TT, ce qui est similaire à celle de la population égyptienne. Les transaminases hépatiques, l'alpha-1-microglobuline (marqueur de l'atteinte tubulaire) et la créatininémie étaient significativement plus élevées chez les patients CT et TT que chez les CC, tandis que l'hémogramme était significativement plus altéré. Par ailleurs, les mutations entraînaient une augmentation de la demi-vie et de l'AUC du méthotrexate, et une diminution de la constante d'élimination et de la clairance totale. La survie sans progression et la

survie globale à 2 ans étaient significativement inférieures chez les homozygotes TT que les homozygotes CC.

L'homocystéine est un acide aminé non protéinogène ayant une activité pro-inflammatoire, pouvant donc être à l'origine d'une hépatotoxicité. Par ailleurs, une diminution de l'efficacité du méthotrexate a été décrite chez les patients dont l'activité de la MTHFR est diminuée. L'hypothèse la plus largement partagée est que cette diminution d'activité entraînerait une rétention accrue du 5,10-méthylènetétrahydrofolate dans les cellules, contrant l'effet dépléteur de folates du méthotrexate.

En 2012, Chiusolo et al. (82) ont étudié le rôle des polymorphismes du Reduced Folate Carrier (RFC) 1 (transporteur majeur des folates et du méthotrexate) sur la toxicité et le pronostic de 49 patients adultes traités pour une hémopathie maligne. Le polymorphisme 80G>A du gène du RFC (entraînant le remplacement d'une histidine par une arginine sur la protéine) est répandu dans la population caucasienne, qui présente le génotype GG à hauteur de 27%, GA à 51% et AA à 22%. Le phénotype GG était associé à un faible taux de folates sériques, une augmentation de l'homocystéinémie et des anomalies du tube neural. Dans cette étude, la méthotrexatémie n'était pas corrélée à ce polymorphisme, mais la survie sans progression et la survie globale étaient significativement améliorées chez les patients présentant le génotype GA ou AA pour le gène du RFC.

En 2008, Dulucq et al. (83) ont étudié l'influence de variations sur le promoteur du gène de la Dihydrofolate réductase sur le pronostic de 277 enfants traités par méthotrexate à la dose de 4 g/m² pour une LAL. Quinze polymorphismes ont été identifiés, dont 3 SNP significatifs : 317A>G ; 1610C>G/T ; 680C>A. Les homozygoties 317 AA et 1610CC étaient associées à une diminution de la survie sans événement et de la survie sans progression, qui étaient améliorées en cas d'homozygotie 1610TT. Ces résultats n'étaient pas significatifs pour la survie globale, mais montraient une tendance. Il n'y avait pas d'association retrouvée avec la toxicité de la chimiothérapie. Les différents haplotypes menaient à des niveaux de transcription de la DHFR différents, et une quantité augmentée de cette enzyme était liée à un pronostic plus sombre du fait de la résistance au méthotrexate qu'elle procure aux cellules cancéreuses.

Treviño et al. (84) ont mis en évidence en 2009 plusieurs SNP localisés sur le gène SLCO1B1 codant pour le transporteur OATP1B1, expliquant jusqu'à 9% de la variabilité interindividuelle de la clairance du méthotrexate. Ce transporteur est situé sur la membrane sinusoïdale des hépatocytes et participe à l'élimination biliaire du méthotrexate. Une diminution de son activité entraînait une augmentation de la méthotrexatémie mais une diminution de la toxicité gastro-intestinale. Ramsey et al. (85) ont conforté en 2013 l'importance des polymorphismes du gène codant pour l'OATP1B1 dans la variabilité de clairance du méthotrexate.

En 2017, Kienana et al. (86) ont étudié la relation entre le métabolome urinaire et l'élimination du méthotrexate chez 62 patients adultes traités pour une hémopathie lymphoïde. L'étude consistait en l'analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse de toutes les molécules de bas poids moléculaire présentes dans l'urine avant l'administration du méthotrexate, pour en extraire un profil métabolique traduisant l'activité des transporteurs et autres enzymes impliqués dans son élimination. Ces métabolites étaient principalement des anions, dont l'excrétion urinaire dépend des Organic Anion Transporters, également impliqués dans l'élimination du méthotrexate. Vingt-huit d'entre eux ont été retenus et une bonne corrélation était retrouvée entre leur concentration et le temps d'élimination (coefficient de corrélation de 0,591), avec cependant une mauvaise prédiction de la survenue d'un retard d'élimination.

2. Résistances au méthotrexate

L'usage de méthotrexate à haute dose permet d'outrepasser la résistance au traitement dans la plupart des cas, mais la réponse est très variable selon les patients.

Les différents moyens par lesquels les cellules acquièrent une résistance au méthotrexate sont les suivants :

- Altération du transport actif par diminution de l'expression ou mutation du gène du RFC. L'influx cellulaire de méthotrexate a été montré inférieur chez les patients qui rechutent de leur LAL.
- Modification de la structure de la DHFR (Acide aminé hydrophobe sur le site de liaison de l'enzyme) entraînant une diminution de son affinité pour le méthotrexate.
- Augmentation de la quantité de DHFR par amplification génique : il a été mis en évidence une augmentation du nombre de copies d'ARN messager et du nombre de gènes codants intra et extra-chromosomiques au fur et à mesure des administrations de méthotrexate (1).
- Diminution de la polyglutamylation par la folylpolyglutamate synthase. Les cellules formant peu de polyglutamates sont résistantes à une exposition courte au méthotrexate, mais y sont sensibles lorsqu'une concentration cytotoxique est maintenue plus de 24 heures (87).
- Augmentation de l'expression de la gamma-glutamyl-hydrolase, enzyme lysosomale hydrolysant le méthotrexate polyglutamylé.
- Augmentation de l'efflux actif du méthotrexate et de ses dérivés polyglutamylés par surexpression de la Breast Cancer Resistance Protein (également appelée Mitoxantrone Resistance Protein, ABCG2). Cet efflux est ATP-dépendant, osmotiquement sensible, suit une cinétique de Michaelis-Menten, est de faible affinité et grande capacité (88). Les MRP sont également impliqués dans la résistance au méthotrexate.

En 1996, Bertino et al. (89) et Gorlick et al. (87) ont évoqué le rôle de gènes suppresseurs de tumeurs :

- Le gène p53, dont la perte de fonction entraîne une annulation de l'effet pro-apoptotique de la protéine p53 sur les cellules dont le patrimoine génétique est altéré.
- Le gène rétinoblastome, dont la faible expression entraînerait une augmentation de la quantité d'enzymes impliquées dans la prolifération cellulaire (DHFR et TS). Cela serait dû à un plus haut niveau de facteur circulant E2F-1 libre, normalement liée à la protéine rétinoblastome hypophosphorylée. Lorsque la cellule passe de la phase G1 à la phase S, la protéine rétinoblastome est hyperphosphorylée et relâche le facteur, qui active la transcription de gènes impliqués dans la synthèse d'ADN. Les régulateurs de la phosphorylation de la protéine rétinoblastome (cycline D1 et Kinase 4 dépendante de la cycline) auraient également un rôle.

VIII. Toxicités et facteurs de risque

1. Toxicités non rénales

a) Description

Le **tableau 3** regroupe les effets indésirables mentionnés dans le RCP français (2) :

Tableau 3 : Effets Indésirables du méthotrexate mentionnés dans le RCP français (2)

	Très fréquent (≥1/10)	**Fréquent (≥1/100 , <1/10)**	**Peu fréquent (≥1/1000 , <1/100)**	**Rare (≥1/10000 , <1/1000)**	**Très rare (<1/10000)**	**Fréquence indéterminée**
Infections et Infestations		Pneumonie Zona	Infections opportunistes Cystite Vaginite Augmentation de la sensibilité aux infections	Sepsis Pharyngite	Pneumonie à Pneumocystis carinii Nocardiose Histoplasmose Cryptotoccose Hépatite herpétique Herpès disséminé Furonculose	
Néoplasmes bénins et malins			Lymphome pouvant régresser spontanément à l'arrêt du traitement		Syndrome de lyse tumorale Syndrome lymphoprolifératif	
Affections hématologiques et du système lymphatique	Thrombopénie Lymphopénie	Aplasie médullaire Anémie Pancytopénie		Anémie mégaloblastique Leucémie aiguë	Anémie aplasique Neutropénie Adénopathie	Agranulocytose
Affections du système immunitaire			Réaction anaphylactique		Hypogammaglobulinémie	
Troubles du métabolisme et de la nutrition			Diabète sucré			
Affections psychiatriques				Troubles de l'humeur	Perte de libido	
Affections du système nerveux		Céphalées	Sensations vertigineuses Hémiparésie Convulsions Encéphalopathie Leucoencéphalopathie	Troubles cognitifs transitoires Parésie Troubles de l'élocution Somnolence Dysesthésies crâniennes	Troubles sensoriels	
Affections oculaires				Irritation oculaire Troubles visuels	Conjonctivite Cécité transitoire Perte de la vision	
Affections cardiaques				Hypotension	Péricardite Epanchement péricardique	

	Très fréquent (≥1/10)	Fréquent (≥1/100 , <1/10)	Peu fréquent (≥1/1000 , <1/100)	Rare (≥1/10000 , <1/1000)	Très rare (<1/10000)	Fréquence indéterminée
Affections vasculaires			Vascularite	Evénement thromboembolique		
Affections respiratoires, thoraciques et médiastinales		Pneumopathie interstitielle	Fibrose pulmonaire		Pneumopathie interstitielle chronique Broncho-Pneumopathie Chronique Obstructive	
Affections gastro-intestinales	Douleurs abdominales Stomatite Nausées Anorexie Vomissements Mucite		Ulcération intestinale Saignements digestifs Diarrhée	Gingivite Entérite Méléna	Hématémèse	
Affections hépatobiliaires	Elévation des enzymes hépatiques		Stéatose hépatique Fibrose hépatique Cirrhose	Hépatotoxicité Hépatite aiguë	Atrophie hépatique Nécrose hépatique	
Affections de la peau et du tissu sous-cutané		Eruption érythémateuse	Syndrome de Stevens-Johnson Nécrolyse épidermique toxique (syndrome de Lyell) Urticaire Photosensibilité Pigmentation anormale Alopécie	Nodulose Ecchymoses Acné Erythème polymorphe Ulcération cutanée Poussée de psoriasis Erythème acral	Télangiectasie	Erythème des extrémités
Affections musculo-squelettiques et systémiques			Arthralgies Myalgies Ostéoporose	Fracture de stress		
Affections du rein et des voies urinaires			Insuffisance Rénale Dysurie Néphropathie		Urémie Hématurie	
Affections gravidiques, puerpérales et périnatales				Avortement		
Affections des organes de reproduction et du sein			Ulcération vaginale	Troubles menstruels	Diminution de l'ovogénèse/spermatogénèse Infertilité Impuissance Pertes vaginales	Aménorrhée Azoospermie

	Très fréquent (≥1/10)	Fréquent (≥1/100 , <1/10)	Peu fréquent (≥1/1000 , <1/100)	Rare (≥1/10000 , <1/1000)	Très rare (<1/10000)	Fréquence indéterminée
Affections congénitales, familiales et génétiques			Malformation fœtale			
Troubles généraux et anomalies au site d'administration		Malaise Fatigue	Fièvre	Décès		
Investigations			Diminution de l'albuminémie			

Le méthotrexate n'est pas une substance irritante, mais la perfusion devra être arrêtée en cas d'extravasation.

C'est un médicament tératogène et mutagène : il importe de vérifier l'absence de grossesse avant son administration. Une contraception fiable doit être instaurée ou maintenue, et devra être poursuivie 3 mois après l'arrêt du traitement chez la femme et 5 mois chez l'homme puisqu'il entraîne une altération de la spermatogénèse.

Il est également carcinogène : il provoque une augmentation du risque de développement de carcinomes secondaires.

Le méthotrexate peut induire un syndrome de lyse chez les patients présentant des tumeurs à croissance rapide.

Des réactions cutanées sévères, parfois fatales, telles que syndrome de Stevens-Johnson, nécrolyse épidermique toxique (syndrome de Lyell) et érythème polymorphe ont été observées dans les jours suivant l'administration de méthotrexate.

Des signes pulmonaires tels qu'une toux, pouvant être sèche, de la fièvre, une douleur thoracique, une dyspnée, une hypoxie, une infiltration sur une radiographie du thorax, ou une pneumopathie non spécifique survenant pendant le traitement par méthotrexate peuvent être le signe d'une lésion potentiellement dangereuse et doivent mener à une interruption du traitement et des investigations appropriées. Cela est observé lors d'un traitement prolongé par méthotrexate à faible dose.

Lors de l'utilisation de méthotrexate à haute dose, une cytolyse aiguë se traduisant par une augmentation brutale des enzymes hépatiques prédominant sur les ALAT survient régulièrement, généralement transitoire et asymptomatique.

La toxicité hématologique se traduit par une thrombopénie, puis une leuco-neutropénie à progression rapide. En résultent principalement des risques hémorragique et infectieux.

Une toxicité généralisée peut parfois se déclarer, appelée « syndrome de l'homme homard ». Elle est caractérisée par une atteinte cutanée sévère, une aplasie médullaire, une toxicité hépatique, une insuffisance rénale aiguë et une toxicité neurologique avec des convulsions.

La société américaine d'oncologie clinique classe le méthotrexate comme chimiothérapie à potentiel émétisant faible. La Dexaméthasone est donc suffisante pour prévenir les nausées et vomissements, qui peuvent néanmoins se déclarer chez un nombre non négligeable de patients. Il est nécessaire de compenser les pertes liquidiennes occasionnées par les vomissements.

En cas d'administration concomitante de méthotrexate et de radiothérapie, une augmentation du risque de nécrose des tissus mous peut être observée.

La toxicité neurologique est probablement liée à l'augmentation des concentrations d'homocystéine, acide aminé toxique générant des dérivés oxygénés réactifs (6). De plus, le méthotrexate interfère avec les réactions de transméthylation nécessaires à la synthèse de myéline.
La neurotoxicité aigüe peut se manifester par une leucoencéphalopathie, dont les symptômes vont de l'insomnie à la crise comitiale. Des déficits moteurs ou phasiques mimant un accident ischémique peuvent être observés environ 5 jours après l'administration, et sont spontanément résolutifs.
Au long terme, une neurotoxicité progressive et irréversible peut se développer : leucoencéphalopathie nécrosante et démyélinisante entraînant démence, déclin neuropsychologique, convulsions, ataxie, jusqu'au coma et au décès (46).
Chez l'enfant, une évaluation périodique par des tests cognitifs spécifiques est conseillée pour détecter les signes précoces de troubles cognitifs.

<u>Effets indésirables rapportés après l'administration de méthotrexate par voie intrathécale :</u>
La toxicité aiguë est une arachnoïdite chimique se manifestant par des céphalées, dorsalgies, cervicalgies, une raideur de la nuque et une fièvre.
La toxicité subaiguë peut inclure une parésie, généralement transitoire, une paraparésie/paraplégie due à l'atteinte d'une ou plusieurs racines des nerfs rachidiens, une paralysie des nerfs crâniens et un dysfonctionnement cérébelleux.
La toxicité chronique est une leucoencéphalopathie se manifestant sous forme d'irritabilité, confusion, ataxie, spasticité, convulsions occasionnelles, démence, somnolence, coma.

Treon et al. (7) signalaient en 1996 qu'avant l'instauration en routine dans les années 1970 de la prévention de la toxicité rénale du méthotrexate haute dose (alcalinisation et hydratation) et du sauvetage par l'acide folinique, la mortalité due au traitement était de 6%, dont 80% liés aux complications d'une myélosuppression sévère (sepsis, hémorragie) et 20% à la néphrotoxicité.

Les toxicités à moyen terme du méthotrexate sont principalement dues à l'inhibition de la synthèse des purines et de la thymidine par les cellules saines de l'organisme, compromettant leur réplication. Les tissus à fort renouvellement cellulaire sont les plus sensibles à la toxicité du méthotrexate.

Holmboe et al. (90) ont étudié en 2012 la toxicité du méthotrexate chez 65 patients traités à la dose de 12 g/m² pour un ostéosarcome. Les concentrations plasmatique et érythrocytaire de folates étaient mesurées. Elles étaient plus élevées chez les hommes que chez les femmes, et augmentaient au fur et à mesure des cycles, probablement du fait des administrations répétées d'acide folinique. La seule toxicité corrélée au taux de folates était la leucopénie, plus marquée lorsque le taux de folates était bas. Une élévation transitoire des ALAT était observée chez la plupart des patients, plus importante chez les femmes, les enfants, les patients chez qui le ratio $AUC_{7\text{-}OH\text{-}MTX}$ / AUC_{totale} était élevé, et ceux chez qui la clairance du méthotrexate était faible. Le pic de GammaGlutamyl Transférase (GGT) était plus élevé chez les femmes. La thrombopénie était moins marquée chez les enfants, et la mucite moins fréquente. Le 7-OH-MTX semble donc avoir une toxicité directe sur les cellules parenchymateuses hépatiques.

Csordas et al. (22) ont étudié en 2013 la toxicité du méthotrexate chez 153 enfants traités pour une LAL par une dose de 2 ou 5 g/m². Les toxicités hépatique et hématologique étaient significativement supérieures chez les patients recevant des doses plus élevées, mais cette corrélation n'était pas retrouvée pour la toxicité rénale. Parmi les patients recevant 2 g/m² de méthotrexate, l'Aire Sous la Courbe (AUC) était significativement supérieure chez ceux développant une hépatotoxicité. Davantage de créatininémies pathologiques et d'hépatotoxicité étaient observées chez les patients de plus de 14 ans.

La tolérance est meilleure chez les patients jeunes, chez qui la toxicité gastro-intestinale (nausées, mucite, diarrhée) est prépondérante. En effet, la fonction rénale se dégrade avec l'âge, ce qui cause un retard dans l'élimination du méthotrexate. Par ailleurs, les sujets âgés sont plus souvent polymédiqués, augmentant le risque d'interaction médicamenteuse.

Le lymphome primitif du Système Nerveux Central se déclare à un âge médian avoisinant les 60 ans chez les patients immunocompétents. Jahnke et al. (91) ont étudié en 2005 la toxicité du méthotrexate chez 154 patients atteints de ce cancer. La dose de base était de 4 g/m². Elle était diminuée d'un même facteur que la clairance de la créatinine de base (mesurée grâce aux urines de 24 heures) par rapport à 100 mL/min. Une hyperhydratation alcaline et un sauvetage par l'acide folinique standardisés étaient appliqués et poursuivis jusqu'à ce que la méthotrexatémie soit inférieure à 0,1 µmol/L. Aucune corrélation statistiquement significative n'était retrouvée entre les différentes toxicités et l'âge. Par contre, la réduction de posologie était plus fréquente chez les patients âgés de plus de 60 ans que chez les autres. Les auteurs concluaient à une nécessaire prise en compte de la fonction rénale dans la dose de méthotrexate prescrite chez le sujet âgé, mais appelaient à ne pas la réduire sur le seul critère de l'âge, car cela pourrait participer au pronostic plus sombre observé chez les sujets les plus âgés.

b) Rôle du retard d'élimination du méthotrexate

L'élimination retardée du méthotrexate a été identifiée comme l'un des principaux facteurs de la toxicité du médicament. Une exposition à une concentration élevée de méthotrexate sur un temps bref entraîne une toxicité rénale, nerveuse et hépatique, tandis qu'une concentration faible durant une période plus longue favorise la myélosuppression et les troubles impliquant la muqueuse du tractus digestif.

Bacci et al. (92) ont étudié rétrospectivement en 2003 l'administration dans leur hôpital de 4219 cycles de méthotrexate à une dose comprise entre 7,5 et 12 g/m² chez 790 patients traités par polychimiothérapie pour un ostéosarcome. Une élimination retardée du méthotrexate était définie comme une méthotrexatémie supérieure à 5 µmol/L 24 heures après le début de la perfusion. L'incidence était de 1,6% des cycles chez 8,6% des patients. Elle était plus fréquente chez les patients les plus âgés et lors des premiers cycles pour un patient donné. Il y avait également une association significative entre la méthotrexatémie à la fin de la perfusion, 18 heures après son début, et le retard d'élimination. Une toxicité significative a été observée chez les patients ayant présenté une élimination retardée, avec néanmoins une récupération totale pour tous.

En 2003, Skärby et al. (93) ont étudié la relation entre le temps d'élimination du méthotrexate et la fonction rénale ou la méthotrexatémie chez 264 enfants traités par méthotrexate à une dose de 5 ou 8 g/m² en 24 heures pour une LAL. Le DFG était significativement corrélé au temps d'élimination, ainsi que la créatininémie, le ratio créatininémie J2/créatininémie de base et la dose reçue. L'élimination retardée était définie comme une méthotrexatémie ≥ 0,2 µmol/L 120 heures après le début de la perfusion, tandis qu'une élimination normale correspondait à ce niveau de méthotrexatémie atteint en 72 heures. L'âge et la créatininémie de base n'étaient pas des facteurs prédictifs d'élimination

retardée. La combinaison des facteurs suivants : méthotrexatémie à H23 > 150 µmol/L et ratio créatininémie J1 pour une cure donnée/ créatininémie de base (moyenne des différentes cures du patient) supérieur à 1,5 permettait d'obtenir une valeur prédictive positive de 1 et une valeur prédictive négative de 0,98 pour une élimination retardée. L'utilisation de ces deux facteurs séparément était moins pertinente, avec une supériorité du ratio de créatininémie (prenant en compte les valeurs de base des cures précédentes) par rapport à la méthotrexatémie à H23. Cela montre une forte responsabilité de la fonction glomérulaire dans l'élimination rénale du méthotrexate. Selon les auteurs, le DFG initial expliquerait 31% de la variabilité d'élimination du méthotrexate. Ils recommandaient d'augmenter l'hydratation et l'alcalinisation en cas de ratio de créatininémie J1/H0 supérieur à 1,5.

Kagawa et al. (94) ont étudié en 2004 l'impact de la fièvre sur l'élimination du méthotrexate chez 22 enfants. La fièvre était définie comme une température corporelle supérieure à 38°C dans les 7 jours avant ou 3 jours après la perfusion de méthotrexate, et l'élimination retardée comme une méthotrexatémie supérieure à 1 µmol/L à H48 ou à 0,1 µmol/L à H72. Les méthotrexatémies à ces deux temps étaient significativement supérieures chez les patients ayant développé une hyperthermie, sans corrélation entre leur valeur et le jour de début de la fièvre. La créatininémie augmentait également davantage chez les patients ayant eu de la fièvre. Aucune corrélation n'était retrouvée entre méthotrexatémie et usage d'antipyrétiques, même après analyse par classe pharmacothérapeutique (les AINS étant connus pour entraîner un retard d'élimination). La dose, l'âge, le sexe, la maladie, le numéro de la cure pour un patient donné, le temps de perfusion, l'hydratation, la présence d'une diarrhée et l'usage concomitant d'antibiotiques n'influaient pas sur les méthotrexatémies à H48 et H72. La fièvre n'ayant pas d'impact sur la constante d'élimination entre H48 et H72, les auteurs émettaient l'hypothèse qu'elle entraîne une augmentation de la perméabilité vasculaire donc une plus vaste distribution du méthotrexate, se traduisant par un retard dans son élimination.

En 2007, Schwartz et al. (95) ont dressé une liste de facteurs favorisant l'élimination retardée du méthotrexate, d'après leurs observations portant sur 43 patients ayant nécessité l'administration de Carboxypeptidase G2. Celle-ci comprenait par ordre de fréquence : un Indice de Masse Corporelle (IMC) > 25 kg/m², un traitement concomitant à risque (AINS, salicylés, β-lactamines, sulfamides, aminosides), un pH urinaire < 7, des apports liquidiens < 3L /m²/24h, une dysfonction hépatique de base, la présence d'un troisième secteur, une insuffisance rénale préexistante, une diarrhée. Ils rapportaient que les patients présentant au moins 3 de ces facteurs avaient une survie significativement plus faible que les autres après administration de l'antidote.

Ranchon et al. (96) ont effectué en 2017 une étude rétrospective portant sur 179 patients adultes totalisant 412 cures, majoritairement dans le cadre d'un lymphome B diffus à grandes cellules à une dose de 3 g/m². L'élimination retardée était définie comme une méthotrexatémie ≥ 15 µmol/L à H24, ≥ 1,5 µmol/L à H48 et/ou ≥ 0,15 µmol/L à H72. L'incidence d'un retard d'élimination était de 20,9% des cycles chez 35% des patients. Ce retard était corrélé à une créatininémie de base élevée, mais pas à l'âge, au genre, ni à l'administration concomitante d'un médicament potentiellement pourvoyeur d'interaction.

De nombreuses équipes ont étudié la relation entre l'élimination retardée du méthotrexate, la fonction rénale et la toxicité du traitement :

- Dès 1977, Stoller et al. (97) ont montré une corrélation entre la méthotrexatémie dosée 48 heures après le début de la perfusion de méthotrexate et la toxicité, chez des patients traités par 2 à 8 g/m² en 6 heures pour des tumeurs solides. Le seuil de 0,9 µmol/L à H48 avait été défini comme celui au-delà duquel le risque de toxicité était élevé. Une augmentation de plus de 50% de la créatininémie était également associée à une augmentation de la toxicité. Les auteurs recommandaient de poursuivre l'administration d'acide folique jusqu'à ce que la méthotrexatémie soit inférieure à 0,01 µmol/L.

- En 1994, Relling et al. (98) ont identifié une méthotrexatémie de 1 µmol/L 42 heures après le début de la perfusion de méthotrexate comme seuil au-delà duquel le risque de toxicité était élevé. Ils ont étudié, chez 134 enfants traités pour une LAL par différentes de dose de méthotrexate perfusé en 24 heures, les facteurs de risque menant à une telle concentration toxique, atteinte pour 22% des administrations. L'analyse multivariée de leurs données identifiait les facteurs suivants comme statistiquement significatifs : une méthotrexatémie à H23 > 23 µmol/L, un pH urinaire bas, la survenue de vomissements durant la perfusion, la clairance du méthotrexate, la positivité du bilan entrées/sorties, l'usage d'antiémétiques, le nombre de perfusion de méthotrexate déjà reçues par un patient donné, un volume central élevé et l'administration de méthotrexate intrathécal. La combinaison des trois facteurs suivants : méthotrexatémie à H23 > 23 µmol/L, vomissements et pH urinaire bas chez un patient entraînait un risque de 47% d'atteindre une méthotrexatémie à H42 ≥ 1 µmol/L, tandis qu'il était de 12% chez les patients ne présentant aucune de ces trois caractéristiques. L'incidence de toxicités (principalement des mucites) était de 22% pour les administrations menant à une méthotrexatémie à H42 inférieure à 1µmol/L, et de 38% lorsqu'elle était supérieure. La méthotrexatémie à H42 était le seul facteur significativement corrélé à l'incidence de toxicités dans cette étude, malgré l'augmentation des doses d'acide folinique administrées aux patients concernés. Devant une forte incidence des toxicités, les auteurs ont modifié leur protocole en renforçant l'hydratation et l'alcalinisation : la proportion de méthotrexatémies à H42 ≥ 1µmol passait alors de 22% à 7%, et le taux de toxicité de 26% à 11%. Ils soulignaient la nécessité d'éviter les vomissements, entraînant une déshydratation et donc une diminution de la perfusion rénale et de l'élimination du méthotrexate. Dans cette étude, les facteurs testés suivants n'ont pas été significativement corrélés à une méthotrexatémie haute à H42 : dose de méthotrexate, clairance de la créatinine, antécédent d'insuffisance rénale, durée de la pré-hydratation, diurèse, usage concomitant de Triméthoprime-Sulfaméthoxazole.

- En 2007, Xu et al. (99) ont étudié le retard d'élimination du méthotrexate chez 121 enfants traités pour une LAL par une dose de 3 ou 5 g/m² selon leur groupe de risque, en 7 ou 24 heures. L'élimination retardée était définie comme une méthotrexatémie ≥ 1 µmol/L à H48 ou ≥ 0,1 µmol/L à H96. Son incidence était de 12,1% des cycles chez 30,6% des patients. Chez les patients ayant déjà fait un épisode d'élimination retardée, la probabilité d'en faire un second était de 45,5%, et un troisième de 35,3%, suggérant une prédisposition de certains enfants à un retard d'élimination. La dose et la durée d'administration n'étaient pas corrélées à la survenue de ce retard. Chez les patients ayant reçu 3 g/m² de méthotrexate, les mucites et les thrombopénies étaient significativement plus sévères lorsque le méthotrexate avait été éliminé avec retard, et il n'y avait pas de différence pour les autres toxicités. Chez les patients ayant reçu 5 g/m², seules les thrombopénies étaient plus sévères en cas d'élimination retardée. Les nausées et vomissements étaient plus sévères dans le groupe traité par 5 g/m². Dans les

deux groupes, un retard d'élimination du méthotrexate entraînait un délai avant l'administration de la cure suivante. Le ratio de dose entre l'acide folinique et le méthotrexate était moins élevé dans le groupe 5 g/m² que 3 g/m². La faible différence de toxicité entre ces deux groupes incitait les auteurs à proposer une réduction de la dose d'acide folinique administrée dans le groupe 3 g/m², pour éviter un sur-sauvetage risquant de diminuer l'efficacité de la chimiothérapie.

- En 2008, Cheng (100) s'est intéressé à la mucite chez les enfants traités par méthotrexate haute dose. Elle est responsable de 57,8% des douleurs associées au cancer et son incidence est de 50%. Sa physiopathologie n'est pas clairement connue, ni les facteurs de risque de la développer. Le rôle de différents facteurs et cytokines pro-inflammatoires et d'espèces oxygénées réactives est néanmoins acquis. Son pic d'incidence survient 7 jours après la chimiothérapie, et la guérison a lieu dans les 14 jours. Ses différents grades sont l'érythème, la dégénération pseudomembraneuse, l'ulcération franche et l'hémorragie. Elle favorise la translocation de microorganismes digestifs dans le secteur plasmatique, à risque dans un contexte de myélosuppression, et peut être à l'origine d'une prolongation d'hospitalisation voire de concessions posologiques ou d'arrêts de traitement. Le recours à une nutrition parentérale et à une antalgie par opioïdes est fréquent (101). Quelques études chez l'adulte traité pour une LAL suggèrent une influence de la méthotrexatémie. L'auteur a réalisé une étude cas-témoin chez des enfants traités par 5 ou 12 g/m² de méthotrexate en perfusion de 24 heures, bénéficiant tous de bains de bouche à la chlorhexidine en prévention de la mucite. Les enfants avec une méthotrexatémie à H42 ≥ 1 µmol/L avaient un Odds Ratio de 4,3 de développer une mucite par rapport aux autres, et il était de 8,2 pour les patients ayant une méthotrexatémie ≥ 0,2 µmol/L à H66. Les patients ayant souffert de nausées-vomissements de grade ≥ 2 avaient un OR de 8,7 de développer une mucite. Contrairement à certaines études, celle-ci ne montrait pas de corrélation entre l'incidence de la mucite et celle de la myélosuppression. La faible taille de l'échantillon peut expliquer cela. L'auteur recommandait de surveiller les nausées et vomissements et la méthotrexatémie à H66 afin de renforcer la prévention de la mucite si besoin.

- Mao et al. (102) ont étudié en 2014 le retard d'élimination du méthotrexate chez 105 enfants traités pour une hémopathie lymphoïde. Le seuil d'élimination retardée était défini comme une méthotrexatémie > 1 µmol/L à H48 et > 0,1 µmol/L à H96. Les créatininémies à H24 et H48 étaient significativement plus élevées et la clairance de la créatinine plus basse chez les patients connaissant un retard d'élimination du méthotrexate. Chez les enfants avec élimination normale du méthotrexate, la méthotrexatémie à H24 était significativement corrélée à la taille, au poids, à la surface corporelle et à la créatininémie à H0 et H48. Chez les patients avec élimination retardée, une corrélation négative entre la clairance de la créatinine à H24 et la méthotrexatémie au même temps était observée, ainsi qu'entre la clairance de la créatinine à H24 et H48 et la méthotrexatémie à H48.

- Yang et al. (103) ont également étudié en 2015 le retard d'élimination, chez 54 enfants traités pour une LAL, totalisant 173 administrations de méthotrexate. L'élimination était considérée retardée lorsque la méthotrexatémie à H48 était ≥ 1 µmol/L ou la méthotrexatémie à H96 était ≥ 0,1 µmol/L. L'insuffisance rénale était définie comme une altération de la clairance de la créatinine (calculée grâce aux urines de 24 heures) de plus de 50% en 48 heures. Les caractéristiques significativement corrélées à la survenue d'un retard d'élimination étaient la créatininémie initiale, le ratio de créatininémie (finale/initiale) et la diminution de la clairance de la créatinine à H24 et H48. Le seul paramètre significativement corrélé à la survenue d'une insuffisance rénale était le statut d'élimination du méthotrexate à H48 (normale ou retardée),

les autres variables testées ayant été l'âge, la surface corporelle, la dose de méthotrexate, la créatininémie initiale et la méthotrexatémie à H24.
La créatininémie à H24 et le ratio de créatininémie (H24/initiale) étaient corrélés aux méthotrexatémies à H48 et H96, tout comme la clairance de la créatinine et son ratio au même temps. Les auteurs concluaient donc que ces paramètres peuvent prédire l'élimination retardée du méthotrexate, le plus pertinent étant le ratio de créatininémie à H24.

- En 2015, Tsurusawa et al. (104) ont étudié la relation entre la méthotrexatémie et la toxicité chez 346 enfants traités pour un LNH. Une corrélation était retrouvée entre les méthotrexatémies à H48 et H72 au sein d'un même cycle, mais pas entre les méthotrexatémies à H48 du premier et du dernier cycles de chaque patient. Seule la néphrotoxicité était significativement liée à la méthotrexatémie. La demi-vie d'élimination n'était corrélée à aucune toxicité. L'incidence des toxicités hépatique et gastro-intestinale était plus élevée au premier cycle que pour les suivants, ce qui serait dû au faible taux de folates sériques de base, qui augmente ensuite avec les injections réitérées d'acide folinique.

- En 2018, Yang et al. (105) ont étudié cette relation chez 97 adultes traités pour une LAL ou un LNH par 149 cycles de méthotrexate à une dose comprise entre 1 et 5 g/m². Vingt-sept pour cent des cycles ont donné lieu à un retard d'élimination du méthotrexate. La créatininémie de départ et à H48 était significativement plus élevée pour les cycles avec retard d'élimination. La méthotrexatémie à H36 était corrélée à la fonction rénale de base, contrairement à celle de H24. La méthotrexatémie et la créatininémie à H48 étaient liées, ainsi que les méthotrexatémies à H48 et H72. La néphrotoxicité de grade ≥ 2 était corrélée à la méthotrexatémie à H36, H48 et H72, tout comme les infections de grade ≥ 2. Aucune corrélation n'était retrouvée entre la méthotrexatémie et l'hépatotoxicité, ni la survenue de mucites.

Il est désormais admis qu'une méthotrexatémie supérieure à : 10-15 µmol/L à H24, 1-1,5 µmol/L à H48 ou 0,1-0,15 µmol/L à H72 est prédictive de toxicités, et qu'au contraire le risque est minimal en cas de méthotrexatémie basse.

2. Néphrotoxicité

La toxicité rénale du méthotrexate est principalement due à sa précipitation dans les tubules rénaux, entraînant leur obstruction par des dépôts cristallins. Malgré les mesures préventives (hyperhydratation et alcalinisation), la néphrotoxicité persiste.
Les autres causes de toxicité sont une perturbation des résistances vasculaires pré-glomérulaires par vasoconstriction de l'artériole glomérulaire afférente entraînant une diminution de la perfusion rénale (46) , et une nécrose aiguë par toxicité directe du méthotrexate sur les cellules glomérulaires et tubulaires.
Garcia et al. (37) ont également évoqué le rôle d'une réaction inflammatoire interstitielle secondaire à la formation de cristaux intratubulaires, qui activent l'immunité innée, ce qui entraîne la formation d'interleukines pro-inflammatoires 1-A et 1-B.

Le rôle du 7-OH-MTX dans la néphrotoxicité n'est pas clair. Il est moins soluble dans l'urine que le méthotrexate, mais moins cytotoxique.

La néphrotoxicité aiguë se produit pendant ou peu après la perfusion de méthotrexate et est généralement asymptomatique. Des vomissements et diarrhées pendant ou peu après l'administration ont cependant été décrits chez des patients développant une néphrotoxicité. Feinsilber et al. (106) évoquaient également un nystagmus et des myoclonies. La diurèse est conservée.
Son diagnostic repose sur les dosages réguliers de la méthotrexatémie et de la créatininémie, montrant une brusque élévation en cas de néphrotoxicité. Il y a néanmoins un léger délai entre le dommage rénal et l'élévation de la créatininémie. La méthotrexatémie est un marqueur plus précoce d'élimination retardée. Un examen du sédiment urinaire sur urines fraîches peut mettre en évidence des cristaux médicamenteux.

L'insuffisance rénale aiguë est le plus souvent résolutive et n'entraîne pas de modification du schéma thérapeutique ultérieur.
Plusieurs cas de maladie rénale chronique séquellaire ont été rapportés, mais les données sont peu nombreuses sur le sujet.

Hempel et al. (107) ont étudié en 2003 l'influence du méthotrexate haute dose sur les fonctions glomérulaire et tubulaire de 49 enfants. Ils ont pour cela dosé la N-acétyl-bêta-D-glucosaminidase urinaire, qui subit une sécrétion tubulaire exclusive ; l'alpha-1-microglobuline urinaire, réabsorbée par le tubule proximal ; et la protéinurie comme marqueur de l'augmentation de la perméabilité glomérulaire. Ils ont mis en évidence une diminution rapide du DFG avec un retour à la normale en 7 jours, et une augmentation de la protéinurie. Le rapport méthotrexatémie/7-OH-méthotrexatémie était calculé, et n'était pas corrélé à la néphrotoxicité. Dans cette étude, la fonction tubulaire était altérée seulement lorsque d'autres molécules néphrotoxiques étaient également administrées.

Widemann et al. (108) ont effectué en 2004 une revue de la littérature focalisée sur la néphrotoxicité induite par le méthotrexate haute dose chez 3887 patients traités pour un ostéosarcome entre 1980 et 2000, après l'instauration en routine de l'hyperhydratation alcaline et du sauvetage par l'acide folinique. L'incidence de la toxicité rénale de grade 2 ou plus selon les critères de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) (créatininémie > 1,5 fois la valeur de base) était de 1,8% des cycles (0,6% pour grades 3 et 4), avec 4,4% de mortalité parmi ces cycles néphrotoxiques contre 0,08% de mortalité générale. Ces données concernaient seulement des patients inclus dans des essais cliniques, au suivi donc optimal.

Green et Chamberlain (109) ont étudié en 2009 la dysfonction rénale pendant et après le traitement par méthotrexate haute dose chez 23 patients d'âge médian 72 ans traités pour un lymphome primitif du SNC, totalisant 161 administrations. Une augmentation de la créatininémie de grade ≥ 2 était observée lors de 30 % des cycles, plus marquée chez les hommes de plus de 50 ans. La créatininémie de certains patients augmentait au fur et à mesure des cures. La méthotrexatémie n'était corrélée à la créatininémie que chez les hommes de plus de 50 ans, chez qui le temps pour atteindre une méthotrexatémie inférieure à 0,1 µmol/L était significativement plus long au dernier cycle qu'au premier. La créatininémie 4 mois après la dernière administration de méthotrexate était inchangée par rapport à celle immédiatement après la dernière cure. Les auteurs soulignaient les nécessaires précautions à observer lors de l'administration de méthotrexate haute dose aux patients âgés.

En 2014, May et al. (110) ont étudié la néphrotoxicité du méthotrexate haute dose en analysant rétrospectivement les données de 194 patients ayant reçu 649 cycles pour divers cancers, avec les mêmes mesures préventives. L'élimination retardée du méthotrexate était définie comme une méthotrexatémie ≥ 15 µmol/L à H24, ≥ 1,5 µmol/L à H48 et ≥ 0,15 µmol/L à H72. L'incidence d'une toxicité rénale de grade ≥ 2 était de 1,5% des cycles chez les patients traités pour un sarcome et de 9,1% chez ceux traités pour un lymphome. Une élimination retardée advenait lors de 14,6 % des cycles dans le groupe sarcome et 31,9 % dans le groupe lymphome. Ces différences étaient expliquées

par celles observées dans les caractéristiques de base des patients. Quatre-vingt pour cent des cycles ayant mené à une toxicité rénale de grade ≥ 2 étaient caractérisés par un retard d'élimination du méthotrexate. Seuls 22% des cycles avec élimination retardée du méthotrexate coïncidaient avec une toxicité rénale de grade ≥ 2. Parmi les cycles ayant présenté l'une ou l'autre de ces caractéristiques, 21% présentaient les 2. Les variables significativement corrélées à la survenue d'une toxicité rénale de grade ≥ 2 étaient l'âge élevé, le sexe masculin et la clairance de la créatinine initiale. Les variables significativement corrélées à un retard d'élimination du méthotrexate étaient les mêmes, en y ajoutant l'usage concomitant d'IPP. La néphrotoxicité et le délai d'élimination entraînaient un allongement significatif de la durée d'hospitalisation des patients.
Chez les patients traités pour un lymphome, l'analyse de survie montrait que ni la survenue d'une néphrotoxicité ni celle d'un retard d'élimination du méthotrexate n'influait sur la survie globale. Cependant, l'occurrence d'une néphrotoxicité était corrélée à une augmentation significative de la survie sans progression, expliquée par une prolongation de l'exposition à la chimiothérapie.

Garneau et al. (111) ont publié en 2015 leurs observations faites chez un patient de 52 ans traité pour un lymphome par 1,4 g/m² de méthotrexate et ayant développé une insuffisance rénale aiguë sans retard d'élimination. Ils observaient des cristaux dans les urines du patient. Une biopsie rénale effectuée 7 jours après la perfusion montrait des altérations tubulaires sévères avec de nombreux dépôts intratubulaires et interstitiels. Ces dépôts (**figure 11**) étaient constitués de cristaux dorés en forme d'aiguille, arrangés en structures annulaires. La coloration de Gomori-Grocott était positive, et une biréfringence bleue/dorée était observée à la lumière polarisée. Les glomérules du patient étaient normaux. Les auteurs avançaient les hypothèses que l'incidence de la formation de cristaux pourrait être sous-évaluée puisqu'elle n'est pas systématiquement accompagnée d'un retard d'élimination du méthotrexate, et qu'elle serait favorisée par une méthotrexatémie pic élevée plus que par des concentrations toxiques prolongées.

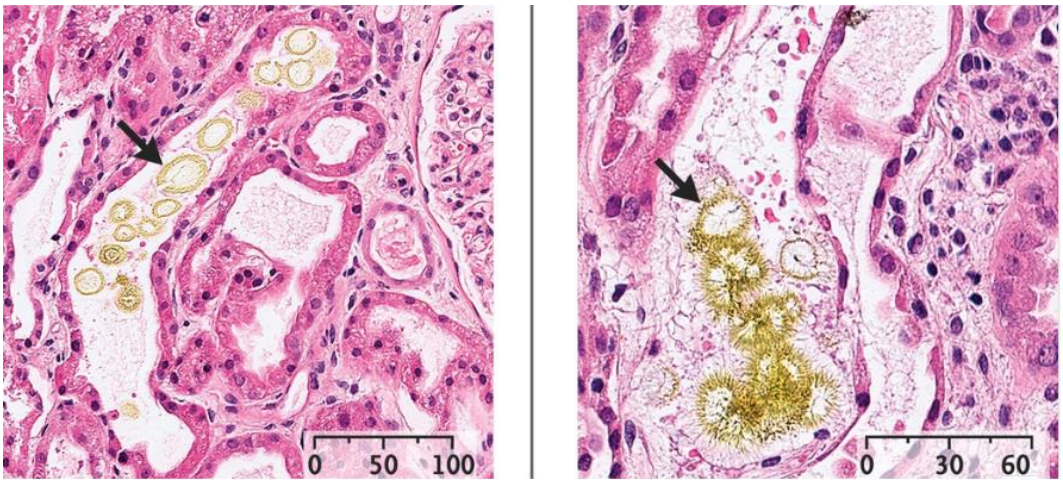

Figure 11 : Cristaux de méthotrexate observés au microscope sur des coupes de tubule rénal colorées à l'hématoxyline-éosine. Échelle en micromètres. D'après Garneau et al.(111)

Zhang et al. (112) ont réalisé en 2016 une analyse rétrospective portant sur 1277 patients traités pour un ostéosarcome par 4291 cycles de méthotrexate à la dose de 10 g/m² administrée en 4 à 6 heures, recherchant des facteurs influençant l'élimination de l'antimétabolite. Elle était considérée comme retardée lorsque la méthotrexatémie à H24 était ≥ 5 µmol/L, et un retard sévère correspondait à une méthotrexatémie à H24 ≥ 20 µmol/L. Un retard advenait chez 6,19 % des patients lors de 2,31 % des cycles, et un retard sévère chez 0,86 % des patients lors de 0,26 % des cycles. Le genre, l'âge et le nombre de cycles de chimiothérapie étaient testés comme facteurs influençants. Les seules corrélations retrouvées étaient le sexe féminin et l'appartenance à la population pédiatrique, associées à une plus grande incidence de retard sévère d'élimination. Aucune liaison n'était mise en évidence pour les retards modérés d'élimination. Le faible nombre de patients ayant développé un retard sévère d'élimination limite la portée de l'étude.

En 2016, Wiczer et al. (113) ont réalisé une étude rétrospective portant sur 140 patients adultes traités pour une hémopathie lymphoïde. Les facteurs significativement corrélés à l'occurrence d'une néphrotoxicité aiguë étaient : une dose élevée de méthotrexate, une albuminémie < 30 g/L, et l'usage concomitant de médicaments pourvoyeurs d'interactions (furosémide, IPP, pénicillines). Le risque n'augmentait pas au fur et à mesures des administrations pour un patient donné. Les auteurs soulignaient l'importance du statut nutritionnel. En effet, une albuminémie basse diminue la proportion de méthotrexate liée aux protéines plasmatiques et favorise donc l'accumulation tissulaire, entraînant une diminution de la vitesse d'élimination. Par ailleurs, elle est également à l'origine d'une diminution du volume intravasculaire et donc de la perfusion rénale.

En 2017, Ramsey et al. (74) estimaient l'incidence de l'IRA induite par le méthotrexate haute dose à 0,5-1% chez les enfants traités par une dose de 5 g/m² pour une LAL ; 1,8 % pour les enfants et jeunes adultes traités par une dose de 12 g/m² pour un ostéosarcome ; et 2-12% chez les adultes.

Cheng et al. (114) ont publié en 2018 les résultats d'une étude rétrospective effectuée chez 336 enfants traités pour une LAL, totalisant 1329 cycles de méthotrexate à des doses de 3 ou 5 g/m². Les facteurs identifiés comme significativement corrélés à l'occurrence d'une insuffisance rénale aiguë (définie comme une augmentation de la créatininémie supérieure à 50% pendant au moins 2 jours consécutifs) étaient les suivants : âge, première administration de méthotrexate, dose, protéinémie de base. Une méthotrexatémie à H48 supérieure à 1,20 µmol/L prédisait une insuffisance rénale aigüe avec une sensibilité de 0,79 et une spécificité de 0,9.

IX. Gestion du surdosage et de la toxicité

1. Approche conventionnelle

La gestion conventionnelle d'un surdosage au méthotrexate repose sur une intensification des mesures préventives : alcalinisation, maintien d'une diurèse importante, suivi de la méthotrexatémie et de la créatininémie, administration d'acide folinique guidée pharmacocinétiquement. L'acide folinique à dose élevée permet de restaurer le pool intracellulaire de folates réduits, par compétition avec le méthotrexate au niveau du transport et des enzymes cibles. La prise en charge doit être précoce pour une efficacité optimale.

La conduite à tenir décrite par le RCP américain du méthotrexate est présentée dans le **tableau 4** :

Tableau 4 : Conduite à tenir en cas d'élimination retardée du méthotrexate décrite dans le RCP de la FDA (65)

Situation clinique	Résultats biologiques	Administration d'acide folinique
Élimination normale du MTX	MTXémie < 10 µmol/L à H24 < 1 µmol/L à H48 < 0,2 µmol/L à H72	15 mg per os, intramusculaires ou intraveineux toutes les 6 heures pour 10 doses en commençant 24 heures après le début de la perfusion de MTX
Élimination retardée tardive du MTX	MTXémie > 0,2 µmol/L à H72 > 0,05 µmol/L à H96	Continuer le schéma ci-dessus jusqu'à ce que la MTXémie soit inférieure à 0,05µmol/L
Élimination retardée précoce du MTX et/ou preuve d'Insuffisance Rénale Aigue	MTXémie ≥ 50 µmol/L à H24 ≥ 5 µmol/L à H48 OU Doublement de la créatininémie à H24 par rapport à la valeur de base	150 mg IV toutes les 3 heures jusqu'à ce que MTXémie < 1 µmol/L, puis 15 mg IV toutes les 3 heures jusqu'à ce que MTXémie < 0,05 µmol/L

En 1983, Abelson et al. (115) ont montré sur un faible échantillon de patients traités par 7,5g/m² de méthotrexate administré en 6 heures que la clairance de la créatinine était altérée chez tous les patients. Ils mettaient en évidence une corrélation entre l'altération de la fonction rénale durant ou après la perfusion de méthotrexate et la survenue de toxicités. Dans cette cohorte, le sauvetage par acide folinique et thymidine des patients connaissant un retard d'élimination du méthotrexate a été efficace pour limiter la toxicité extra-rénale. La thymidine ayant une demi-vie très courte (10 minutes), elle nécessite d'être administrée en continu. Elle est directement convertie en thymidine monophosphate par la thymidine kinase et peut ainsi contrer le blocage de la synthèse de novo de ce nucléotide. Le développement commercial de cette molécule ayant été arrêté, elle n'est actuellement pas disponible en routine.

Les recommandations des auteurs quant au sauvetage à mettre en œuvre en cas d'élimination retardée sont résumées dans le **tableau 5** :

Tableau 5 : Recommandations d'Abelson et al. (115) pour la gestion de l'élimination retardée du méthotrexate

Situation clinique	**Définition**	**Conduite à Tenir**
Toxicité moyenne	Augmentation de la créatininémie de 25-50% par rapport à la valeur de base et MTXémie < Moyenne + 2 écarts-types à une heure donnée	Schéma normal d'administration d'acide folinique
Toxicité modérée	Augmentation de la créatininémie de 50-100% par rapport à la valeur de base et MTXémie < Moyenne + 2 écarts-types à une heure donnée OU Antécédent de mucite ou myélosuppression ayant entraîné un report de la cure suivante	Poursuite de l'hydratation intraveineuse et de l'alcalinisation. Poursuite de l'acide folinique 15mg per os toutes les 6 heures jusqu'à ce que MTXémie < 0,075 µmol/L et créatininémie < 50% de la valeur de base
Élimination retardée tardive	MTXémie > 0,2 µmol/L à H72 OU MTXémie > 0,075 µmol/L à H96	Poursuite de l'hydratation intraveineuse et de l'alcalinisation. Poursuite de l'acide folinique 15 mg per os toutes les 6 heures jusqu'à ce que MTXémie < 0,075 µmol/L
Toxicité sévère avec IRA	Augmentation de la créatininémie > 100% par rapport à la valeur de base ET MTXémie > Moyenne + 2 écarts-types à une heure donnée : 50 µmol/L à H24 ; 5 µmol/L à H48	Hydratation et alcalinisation avec 3000 mL/m²/jour de Glucose 5% avec 40 mEq/L de bicarbonate de sodium. Administration de potassium selon les besoins Surveillance rapprochée du poids corporel, de la diurèse et de la pression sanguine Hémogramme, créatininémie, fonction hépatique, MTXémie testés quotidiennement Si toxicité sévère : thymidine 8g/m²/j en perfusion IV continue jusqu'à MTXémie < 0,5 µmol/L + Acide folinique IV 150 mg toutes les 3 heures puis 15 mg IV toutes les 3 heures lorsque MTXémie < 1 µmol/L puis toutes les 6 heures lorsque MTXémie < 0,5 µmol/L jusqu'à MTXémie < 0,075 µmol/L

Howard et al. (68) recommandaient en 2016 d'associer du bicarbonate de sodium et de l'acétazolamide à une hydratation pouvant aller jusqu'à 3 L/m²/jour chez les patients développant une insuffisance rénale aiguë et/ou un retard d'élimination du méthotrexate. Cela doit être fait sous surveillance cardiaque et pulmonaire, mais la balance bénéfices-risques penche en faveur de cette hydratation agressive.

Flombaum et al. (116) ont publié en 2017 les résultats d'une étude rétrospective menée au sein de leur hôpital chez 88 patients d'âge médian 51 ans ayant développé un retard d'élimination du méthotrexate (méthotrexatémie à H48 ≥ 10 µmol/L et/ou méthotrexatémie à H72 ≥ 1 µmol/L) et ayant pour la grande majorité d'entre eux été traités seulement par acide folinique. L'augmentation médiane de la

créatininémie chez ces patients était de 200%, et atteignait 300% chez un quart d'entre eux. Le délai médian de retour à une créatininémie inférieure à 150% de la valeur de base était de 11 jours, et à une méthotrexatémie inférieure à 0,1 µmol/L de 9 jours. Une relation paradoxalement inverse entre la dose de méthotrexate et l'élévation de la créatininémie ainsi que la méthotrexatémie à H48 et H72 était observée, expliquée par le fait que les patients plus âgés reçoivent des doses plus faibles. La méthotrexatémie à H24 n'était corrélée ni à la dose de méthotrexate ni au degré de l'insuffisance rénale aigüe. Par contre, une relation étroite était observée entre le degré de l'IRA et la méthotrexatémie à H48 et H72. Les méthotrexatémies suivantes étaient liées entre elles : H24 et H48 ; H48 et H72, 96, 120. Cela montre que la méthotrexatémie à H24 préjuge mal de l'évolution ultérieure. L'incidence de : myélosuppression, mucite, diarrhée et infection a été comparable à celle des études où la Carboxypeptidase G2 a été utilisée, et aucun patient n'est décédé des suites de la toxicité du méthotrexate. Les auteurs recommandaient donc une utilisation de Carboxypeptidase G2 limitée aux patients développant une insuffisance rénale oligurique.

Malgré ces mesures, une surexposition au méthotrexate entraîne fréquemment une exacerbation de la toxicité de la chimiothérapie. Les symptômes toxiques sont prévenus avec des soins prophylactiques et gérés de façon symptomatique : antibiothérapie, équilibrage hydroélectrolytique, transfusion de produits sanguins, soins de bouche, antalgie, facteurs de croissance granulocytaires, arrêt des médicaments néphrotoxiques et hépatotoxiques.

2. Élimination du méthotrexate circulant

Pour les surdosages sévères, il est possible d'avoir recours à des techniques visant à éliminer le méthotrexate circulant. En effet, il a été montré que pour des méthotrexatémies très importantes, de hautes doses d'acide folinique ne suffisaient pas à contrer les effets toxiques.

a) Épuration extra-corporelle

Les RCP français (2) et américain (65) recommandent l'hémodialyse intermittente aiguë par dialyseur à haut débit comme technique d'épuration extra-corporelle en cas de méthotrexatémies toxiques.

Widemann et al. ont souligné en 2004 (108) que l'efficacité est très dépendante de la technique.
La dialyse péritonéale est inefficace, à cause de la forte liaison aux protéines plasmatiques du méthotrexate, de son haut degré d'ionisation et sa faible solubilité lipidique. L'hémodialyse à haut débit (baisse de la méthotrexatémie de 75,7% en 4 heures) et l'hémodiafiltration (82% en 3,5 jours) sont les plus efficaces. La combinaison de l'une de ces deux méthodes avec l'hémoperfusion sur charbon donne de bons résultats. Un rebond important est néanmoins rapporté (de 10 à 221% de la méthotrexatémie post-épuration), ainsi que des complications comme des arrêts cardiaques, hémorragies et thrombopénies (117) (118).
Le temps médian de retour à la fonction rénale de base était de 16 jours pour les méthodes d'épuration extra-rénale dans cette revue de la littérature.

b) Utilisation de la Carboxypeptidase G2

Les carboxypeptidases forment une classe d'enzymes bactériennes qui hydrolysent la liaison peptidique du glutamate en position carboxy-terminale du méthotrexate circulant et le transforment en DAMPA non toxique et glutamate (**figure 12**). La carboxypeptidase G1 a d'abord été extraite dans les années 1970 de *Pseudomonas sutzeri*, mais la souche bactérienne utilisée a ensuite été perdue. La Carboxypeptidase G2 a été extraite de bactéries des genres *Pseudomonas, Flavobacterium et Acinetobacter*. La forme commercialisée est une enzyme recombinante extraite en 1983 de *Pseudomonas souche RS-16* et produite par culture cellulaire dans *Escherichia coli*.

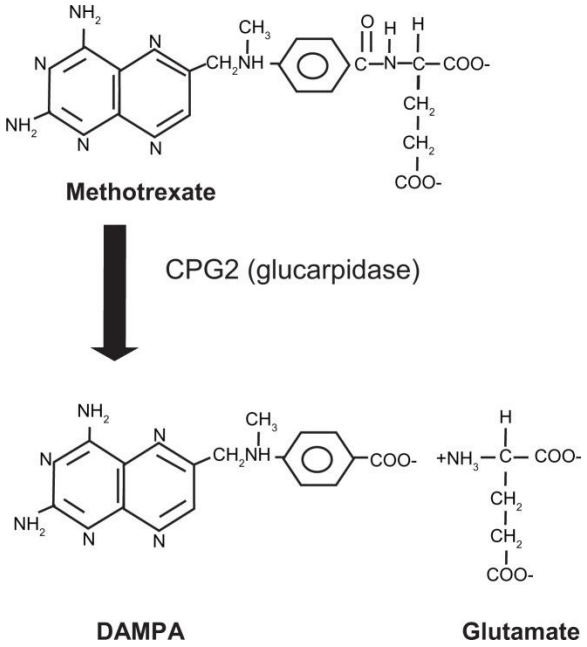

Figure 12 : Mode d'action de la Carboxypeptidase G2 (Glucarpidase en anglais)
DAMPA = Acide 2,4 diamino-N(10) méthylptéroïque. D'après Green (119).

En France, la Carboxypeptidase G2 est disponible via la spécialité Voraxaze® du laboratoire Protherics Medicines Development Ltd, développée en coopération avec le centre de recherche sur le cancer américain. Chaque flacon contient 1000 Unités de Carboxypeptidase G2 sous forme de poudre lyophilisée. Les excipients sont le lactose monohydraté, le Tris-HCl et l'acétate de zinc dihydraté. Les flacons doivent être conservés entre 2 et 8°C.

Ce médicament est sous Autorisation Temporaire d'Utilisation (ATU) nominative depuis 2005, et a le statut de médicament orphelin. Un accord auprès de l'Agence Nationale de Sécurité des Médicaments et produits de santé (ANSM) doit être obtenu avant d'initier le traitement antidotique. Le coût pour une administration unique chez un patient de 70 kg s'élève à 86784€. Une demande d'Autorisation de Mise sur le Marché (AMM) a été déposée auprès de l'Agence Européenne du Médicament, mais retirée en 2007 dans l'attente de réponses concernant sa stabilité et les modalités de sa co-administration avec l'acide folinique. Ce médicament a une AMM aux Etats-Unis depuis 2012.

Sherwood et al. (120) l'ont étudiée en 1985 après extraction et purification par chromatographies successives.

Sa masse moléculaire est de 83000 Daltons. C'est un dimère de deux sous-unités identiques de 41800 Da contenant chacune deux atomes de zinc. Elle est constituée de 390 acides aminés. Elle est active dans un rang de pH s'étendant entre 7 et 7,5. Son activité enzymatique suit une cinétique de Michaelis-Menten avec une constante Km de 4,4 µmol/L pour l'acide folique, 8 µmol/L pour le méthotrexate, 34 µmol/L pour le 5-méthyltétrahydrofolate et 120 µmol/L pour le 5-formyltétrahydrofolate (mélange racémique des deux diastéréoisomères de l'acide folinique).

Hempel et al. (121) ont apporté en 2005 les précisions suivantes : le produit de la réaction de la Carboxypeptidase G2 avec l'acide folinique est l'acide N-5-formyl-tétrahydroptéroïque, qui est également un mélange de diastéréoisomères. L'incubation de l'enzyme avec l'un et l'autre des diastéréoisomères de l'acide folinique, séparés par électrophorèse capillaire avec un sélecteur chiral, montre une dégradation plus rapide du dérivé L actif que du dérivé D inactif (le Km de ces deux réactions n'a pas pu être déterminé). La Carboxypeptidase G2 clive également le 7-OH-MTX. Les produits des réactions catalysées par l'enzyme sont moins solubles que les produits initiaux, du fait de la perte de leur(s) groupement(s) glutamate(s).

La posologie est de 50 U/kg de poids corporel, en injection intraveineuse de 5 minutes. Le lyophilisat de Carboxypeptidase G2 contenu dans un flacon doit être reconstitué dans un volume de 1 mL de sérum salé isotonique puis utilisé immédiatement ou conservé 4 heures entre 2 et 8°C.

Le volume de distribution de la Carboxypeptidase G2 est de 3,6L, suggérant une distribution exclusivement plasmatique. Ses paramètres pharmacocinétiques ne sont pas significativement modifiés chez les patients présentant une insuffisance rénale aiguë.

La méthotrexatémie doit être mesurée par HPLC (le DAMPA présentant une réaction croisée avec le méthotrexate avec les techniques immunoenzymatiques) 30 minutes puis 24 heures après l'administration de Carboxypeptidase G2. Cinq millilitres de plasma doivent être prélevés dans un tube sec plongé immédiatement dans la glace et rapidement centrifugé. La Carboxypeptidase G2 encore présente dans l'échantillon doit être inactivée, soit en chauffant le plasma dans un bain-marie à 80°C pendant 5 minutes, soit en y ajoutant un volume de HCl 1N pour obtenir une concentration finale de 0,1N de HCl. L'échantillon doit ensuite être rapidement congelé à -20°C jusqu'à l'analyse.

Il est nécessaire de poursuivre l'administration d'acide folinique car la Carboxypeptidase G2 est confinée au secteur plasmatique et n'hydrolyse donc pas le méthotrexate intracellulaire et interstitiel, qui est ensuite relargué dans la circulation. Néanmoins un intervalle libre d'acide folinique de 2 heures doit être observé avant après l'administration de Carboxypeptidase G2 puisqu'il en est également un substrat. Le sauvetage doit être repris à la dose basée sur la méthotrexatémie mesurée avant l'administration de l'antidote.

Widemann et al. (122) ont étudié en 2000 chez des singes la pharmacocinétique et le métabolisme du DAMPA. Sa clairance était de 1,9 L/kg/h et sa demi-vie terminale de 51 minutes. Quarante-six pour cent de la dose étaient éliminés dans les urines sous forme inchangée. Trois métabolites (hydroxy-DAMPA, DAMPA-glucuronide et hydroxy-DAMPA-glucuronide) ont été identifiés dans le plasma et l'urine de ces singes, mais également chez des personnes ayant reçu de la Carboxypeptidase G2 pour un surdosage en méthotrexate. Le test de cytotoxicité du DAMPA était négatif, et il n'altérait pas celle du méthotrexate. La part importante d'élimination non rénale du DAMPA est intéressante chez les patients souffrant d'IRA due au méthotrexate. Le DAMPA est moins soluble dans l'urine que le méthotrexate, mais le risque théorique d'aggravation de la néphrotoxicité par précipitation du DAMPA n'a pas été prouvé.

Le RCP américain du Voraxaze® (123) mentionne les effets indésirables suivants :

- Fréquents : paresthésies, flush, nausées et vomissements, céphalées, hypotension
- Peu fréquents : vision trouble, diarrhée, hypersensibilité, hypertension, éruption cutanée, irritation de la gorge, tremblements
- Dix-sept pour cent des patients étudiés ont développé des anticorps anti-Carboxypeptidase G2.

De nombreuses équipes ont étudié l'effet de la Carboxypeptidase G2 sur la réduction de la méthotrexatémie, tandis que sa capacité à réduire la toxicité du méthotrexate est mal connue :

- Krause et al. (117) ont observé en 2002 chez 8 patients adultes une baisse médiane de 90% de la méthotrexatémie en 5 minutes, 94% en 24 heures et 97 % en 48 heures. Une deuxième administration a été nécessaire chez deux de ces patients pour obtenir une méthotrexatémie inférieure à 1 µmol/L. La méthode de dosage utilisée était immunoenzymatique, donc connue pour présenter une réaction croisée avec le DAMPA.

- Widemann et al. (108) ont effectué en 2004 une revue de la littérature portant sur 20 patients. La Carboxypeptidase permettait une réduction rapide de la méthotrexatémie, avec une médiane de 98,7%. Un rebond était observé dans 60% des cas, inférieur à 10% de la méthotrexatémie initiale. Vingt pour cent de symptômes d'intolérance ont été rapportés : sensation de chaleur ou de brûlure de la face et des extrémités, picotements des doigts, céphalées, flush, tremblements. Le temps médian de retour à la fonction rénale de base était de 22 jours chez les patients ayant reçu de la carboxypeptidase (supérieur aux 16 jours observés chez les patients ayant bénéficié de la prise en charge conventionnelle. Néanmoins, les surdosages étaient plus sévères chez les patients ayant reçu de la Carboxypeptidase G2).

- Buchen et al. (118) ont étudié en 2005 65 patients d'âge médian 15,4 ans. Les critères d'éligibilité étaient une combinaison d'une méthotrexatémie supérieure à 10 µmol/L à H36 ; 5 µmol/L à H42 ou 3 µmol/L à H48 ET d'une diminution de la diurèse ou d'une augmentation de la créatininémie jusqu'à une valeur dépassant 1,5 fois la limite normale supérieure. Une dose de 50 U/kg étaient administrée en 5 minutes ou en bolus, à une médiane de 52 heures après le début de la perfusion de méthotrexate. Quinze minutes après l'injection de Carboxypeptidase G2, la baisse médiane de la méthotrexatémie était de 87 %, et 97% lorsque la méthode de dosage utilisée était l'HPLC. Le DAMPA était alors détecté à une concentration comparable à la méthotrexatémie initiale. Des effets indésirables ont été rapportés chez seulement 3 patients, à type de flush ou tremblements, résolutifs spontanément. Une deuxième administration de Carboxypeptidase G2 chez certains patients a entraîné une diminution supplémentaire de 26% de la méthotrexatémie. Quatre patients sont décédés des suites d'une myélosuppression sévère. Chez 3 d'entre eux, la méthotrexatémie avait été insuffisamment diminuée par la Carboxypeptidase G2. Les auteurs soulignaient la nécessité de poursuivre l'hyperhydratation alcaline après l'administration du traitement antidotique afin d'éviter que le DAMPA, moins soluble que le méthotrexate, ne cristallise. Ils émettaient l'hypothèse que les hautes concentrations circulantes de DAMPA après l'administration de Carboxypeptidase G2 inhibent l'hydrolyse du méthotrexate résiduel lors d'une deuxième administration, ce qui expliquerait la baisse d'efficacité. Ils suggéraient donc une administration initiale de 100 U/kg chez les patients ayant une méthotrexatémie très élevée, et au contraire une réduction à 25 U/kg chez les patients chez qui elle est relativement basse. Ils recommandaient de combiner l'hémodialyse à la Carboxypeptidase G2 chez les patients anuriques ou oliguriques.
  En 2015, Widemann (124) a appelé à la réalisation d'études avec différentes doses de Carboxypeptidase G2, les 50 Unités/kg ayant été définies arbitrairement et des doses inférieures semblant tout aussi efficaces dans de nombreux cas.

- Schwartz et al. (95) ont étudié en 2007 43 patients d'âge médian 54 ans traités par méthotrexate à une dose ≥ 1 g/m². Les critères d'administration de Carboxypeptidase G2 étaient soit une méthotrexatémie ≥ 5 µmol/L à H42, soit la combinaison de signes de néphrotoxicité (créatininémie ≥ 1,5 fois la limite normale supérieure ou oligurie) et d'une méthotrexatémie ≥ 1 µmol/L à H42 ou 0,4 µmol/L à H48. La Carboxypeptidase G2 était administrée à la dose de 50 U/kg en 5 minutes, et une deuxième administration était possible si la méthotrexatémie résiduelle était supérieure à 0,1 µmol/L 24 heures après la première administration. Le délai moyen entre le début de l'administration de méthotrexate et l'injection de Carboxypeptidase G2 était de 56 heures. Très peu d'effets indésirables ont été rapportés. Une deuxième administration a été nécessaire chez 3 patients, sans événement signalé. Une réduction médiane de 97% de la méthotrexatémie était observée en 15 minutes, parallèlement à l'augmentation de 70% de la concentration de DAMPA. Des rebonds ont été observés, jusqu'à une médiane de 0,24 µmol/L. Il n'y a pas eu de différence dans le taux de réduction de la méthotrexatémie selon le délai d'administration de la Carboxypeptidase G2

lorsqu'un seuil à 56 heures était considéré. Une diminution de la concentration de 7-OH-MTX a également été mesurée. L'excrétion urinaire de DAMPA et d'hydroxy-DAMPA a été détectée, à hauteur de 0,2-3,5% de la méthotrexatémie initiale. Des anticorps anti-Carboxypeptidase G2 ont été détectés chez certains patients, avec effet sur l'activité de l'enzyme pour l'un d'entre eux. Le taux de décès a été de 23% pour les patients de cette étude, avec comme causes principales des infections, hyperurémies, neurotoxicités aiguës et défaillances multiviscérales. La méthotrexatémie initiale, la dose de Carboxypeptidase G2 et l'âge avaient un effet significatif sur la toxicité et la survie. La dose d'acide folinique reçue n'était pas corrélée aux toxicités, mises à part les mucites. Le rétablissement de la fonction rénale advenait après un délai médian de 19 jours. Le taux de mortalité élevé était attribué à l'âge des patients. Les auteurs remarquaient une sur-représentation des patients en surpoids dans cette étude, et proposaient de calculer la dose de méthotrexate en fonction du poids idéal et non du poids réel. Ils concluaient que l'usage de la Carboxypeptidase G2 est sûr et efficace pour faire baisser la méthotrexatémie, mais il ne leur était pas possible de statuer sur son efficacité sur les toxicités extra-rénales.

- Widemann et al. (125) ont observé en 2010, chez 100 patients d'âge médian 17 ans, une diminution médiane de la méthotrexatémie de 98,7% en 15 minutes. Les administrations supplémentaires n'avaient pas d'effet. La tolérance était bonne. Un rebond était observé chez de nombreux patients. Le pic de créatininémie était atteint à J4 et le retour à une fonction rénale normale prenait 22 jours. L'administration de la Carboxypeptidase G2 avec un délai supérieur à 96 heures par rapport à la perfusion de méthotrexate était un facteur prédictif de développement de toxicités de grade 4, tout comme l'administration de doses d'acide folinique trop faibles et l'usage de diurétiques. Les auteurs recommandaient d'administrer la Carboxypeptidase G2 avec un délai inférieur à 96 heures, et ne rapportaient pas de bénéfice de la thymidine, qu'ils ont utilisée chez certains patients.

- Widemann et al. (126) encore ont réalisé en 2014 une analyse d'efficacité poolée de 4 études totalisant 156 patients. La Carboxypeptidase G2 permettait une diminution de la méthotrexatémie de plus de 95% en 15 minutes chez 87% d'entre eux. Une réponse durable définie comme une méthotrexatémie inférieure à 1 µmol/L sur toutes les mesures post-administration de Carboxypeptidase G2 a été observée chez 59% des patients. Plus la méthotrexatémie initiale était élevée, moins cette réponse durable était fréquente, mais plus le pourcentage de réduction de la méthotrexatémie était élevé. La clairance de la créatinine continuait à décroître après l'administration de Carboxypeptidase G2 avec un pic à 3 jours, puis s'améliorait.

- Garcia et al. (37) ont publié en 2018 les résultats d'une étude rétrospective portant sur 76 patients d'âge moyen 50,3 ans, tous cancers confondus, présentant des signes de retard d'élimination du méthotrexate (méthotrexatémie ≥ 3 µmol/L à H42) ou d'insuffisance rénale aiguë (augmentation de la créatininémie ≥ 50%) ou ayant reçu de la Carboxypeptidase G2. Soixante-et-un pour cent d'entre eux avaient reçu le traitement antidotique, après un délai moyen de 2,1 jours. Chez les patients éligibles selon les modalités suivantes : méthotrexatémie ≥ 10 µmol/L à H ≥ 48 ou méthotrexatémie ≥ 3 µmol/L à H48 associée à une augmentation de la créatininémie ≥ 50%), l'utilisation de la Carboxypeptidase G2 n'était pas associée à une réduction significative de la durée d'hospitalisation ni des complications rénales ou extra-rénales.

Les situations cliniques dans lesquelles la Carboxypeptidase G2 est indiquée ne sont pas clairement définies et varient selon les auteurs, sociétés savantes et institutions, comme nous avons pu le voir dans les études précédemment citées.

L'AMM a été obtenue aux Etats-Unis pour l'indication suivante : méthotrexatémie > 1 µmol/L chez les patients avec élimination retardée due à une altération de la fonction rénale.

Les critères d'octroi de l'ATU en France sont les suivants : méthotrexatémie > 1 µmol/L et présence d'une insuffisance rénale (clairance de la créatinine < 60 mL/min ou créatininémie > 1,5 fois la Limite Normale Supérieure)

La Société Française d'Oncologie Pédiatrique recommandait en 2001 d'utiliser la Carboxypeptidase G2 jusqu'à 96 heures après le début d'administration du méthotrexate dans le cadre d'un ostéosarcome si :

Méthotrexatémie > 10 µmol/L à H42

OU

Créatininémie ≥ 1,5 x la valeur de base

OU

Clairance de la créatinine < 60mL/min

} Associée à retard d'élimination du MTX (concentration > moyenne + 2 écarts-types à H≥12)

Avec Moyenne + 2 écarts-types (µmol/L) = 10,22 à H24 ; 1,49 à H48 et 0,26 à H72 pour une administration de 8 à 12 g/m² en 4 heures chez l'enfant, l'adolescent et l'adulte jeune.

Widemann et Adamson (27) recommandaient en 2006 l'utilisation de la carboxypeptidase en cas de combinaison des critères suivants : méthotrexatémie H(>42) > 10 µmol/L et néphrotoxicité.

En 2008, Blasco et al. (127) ont appelé à mieux définir les critères d'administration de la carboxypeptidase, en soulignant qu'ils divergent selon les sources, et qu'il n'y a pas de recul sur l'utilisation de ce produit, pourtant extrêmement coûteux. Ils définissaient les critères suivants dont au moins l'un devait être rempli : méthotrexatémie H48 > 3 µmol/L (quel que soit le protocole) ; altération de la fonction rénale (créatininémie ≥ 1,5 x Limite Normale Supérieure ou valeur de base) et réalisaient une étude rétrospective du devenir clinique de 18 patients d'âge médian 42 ans y répondant mais ayant bénéficié de la prise en charge conventionnelle (hyperhydratation, alcalinisation, acide folinique). Le pic de créatininémie était majoritairement atteint en 48 heures. Le délai médian pour atteindre une méthotrexatémie inférieure à 0,2 µmol/L était de 139 heures. Au moins une toxicité de grade ≥ 3 a été rapportée pour 35% des administrations. Ces toxicités étaient principalement extra-rénales, et résolutives avant la date prévue de la cure suivante. Une diminution de la clairance de la créatinine à un mois (-7%) et trois mois (-10%) était observée. Sous réserve d'un effectif faible et de l'absence de méthotrexatémie très élevée dans cette étude, les auteurs soulignaient que les soins conventionnels avaient été suffisants pour ces patients. Ils proposaient les critères suivants pour l'administration de Carboxypeptidase G2 : méthotrexatémie H48 > 10 µmol/L et créatininémie > 1,5 x valeur de base.

L'Observatoire du Médicament, des Dispositifs Médicaux et de l'Innovation Thérapeutique (OMEDIT) de la région Centre proposait en 2008 le tableau décisionnel suivant (**tableau 6**) et précisait qu'il est possible d'administrer la Carboxypeptidase G2 jusqu'à 96 heures après le début de la perfusion de méthotrexate (128) :

Tableau 6 : Tableau décisionnel en cas de surdosage au méthotrexate – OMEDIT Centre 2008 (128)

	Méthotrexatémie à H48		
	3 µmol/L < MTXémie < 10 µmol/L		MTXémie > 10 µmol/L
Créatininémie	< 1,5 x valeur basale	> 1,5 x valeur basale	Non prise en compte
Interprétation	Retard d'élimination	Surexposition	
Conduite à tenir	Surveillance rapprochée Intensification des mesures de sauvetage (hydratation, alcalinisation, acide folinique)	Administration de Carboxypeptidase G2	

Il recommandait également d'envisager une hémodialyse complémentaire en cas de méthotrexatémie résiduelle supérieure à 0,2 µmol/L 30 minutes après l'administration de Carboxypeptidase G2.

Ramsey et al. (74) ont publié en 2017 des « recommandations consensuelles pour l'usage de la Carboxypeptidase G2 chez les patients avec Insuffisance Rénale Aiguë induite par le méthotrexate haute dose et élimination retardée du méthotrexate ». Leur élaboration a été en partie financée par le laboratoire commercialisant l'antidote. Il y est précisé qu'il n'y a pas eu d'étude de dose, mais que 50 U/kg est une posologie sûre et efficace, entraînant des effets indésirables chez moins de 3% des patients et une faible immunogénicité. Les auteurs recommandaient d'administrer la Carboxypeptidase G2 dans les 60 heures après le début de la perfusion de méthotrexate pour une meilleure prévention de la toxicité non-rénale.
Ils ont extrait et analysé les données pharmacocinétiques de nombreux cycles, pour donner les valeurs de méthotrexatémie normales et pathologiques après administration à différentes doses et durées. Ces valeurs sont résumées dans les **tableaux 7 et 8**, le premier pour la population pédiatrique et le second pour les adultes.

Tableau 7 : Méthotrexatémies (en µmol/L) moyennes et pathologiques après différents schémas d'administration de méthotrexate haute dose pour la population pédiatrique. D'après Ramsey et al.(74)

Temps après le début de la perfusion de MTX (heures)	**Dose de méthotrexate**											
	3 g/m² en 3 heures		1-3 g/m² en 24 heures		4 g/m² en 24 heures		5 g/m² en 24 heures		8-9 g/m² en 4 heures		10-14 g/m² en 4 heures	
	Moy	moy + 2 écart-types	Moy	moy + 2 écart-types	Moy	moy + 2 écart-types	Moy	moy + 2 écart-types	Moy	moy + 2 écart-types	Moy	moy + 2 écart-types
24	1,17	3,95	26,9	81,6	57,8	103,0	97,74	188,18	5,47	29,7	8,6	60,1
36							2,9	11,9				
42							1,26	5,82				
48	0,17	0,69	0,38	1,78	0,48	2,12	0,69	3,65	0,28	0,85	0,38	2,1
60							0,46	1,9				
72	0,11	0,41	0,11	0,30	0,16	0,75	0,33	1,36	0,12	0,34	0,11	0,46

Tableau 8 : Méthotrexatémies (en µmol/L) moyennes et pathologiques après différents schémas d'administration de méthotrexate haute dose pour la population adulte. D'après Ramsey et al. (74)

Temps après le début de la perfusion de MTX (heures)	**Dose de méthotrexate**									
	1-2 g/m² en 3-4 h		2-3 g/m² en 3-4 h		3-4 g/m² en 3-4 h		4-6 g/m² en 3-4 h		> 6 g/m² en 3-4 h	
	Moy	moy + 2 écart-types	Moy	moy + 2 écart-types	Moy	moy + 2 écart-types	Moy	moy + 2 écart-types	Moy	moy + 2 écart-types
24	4,14	19,7	11,39	42,17	7,61	62,95	3,67	20,09	8,59	50,39
48	0,24	0,76	0,62	1,64	0,77	6,71	0,62	6,62	1,31	13,27
72	0,11	0,43	0,3	1,48	0,4	4,6	0,09	0,23	0,4	3,1

Les critères d'administration de la Carboxypeptidase G2 de ces recommandations sont résumés dans l'arbre décisionnel ci-dessous (**figure 13**) :

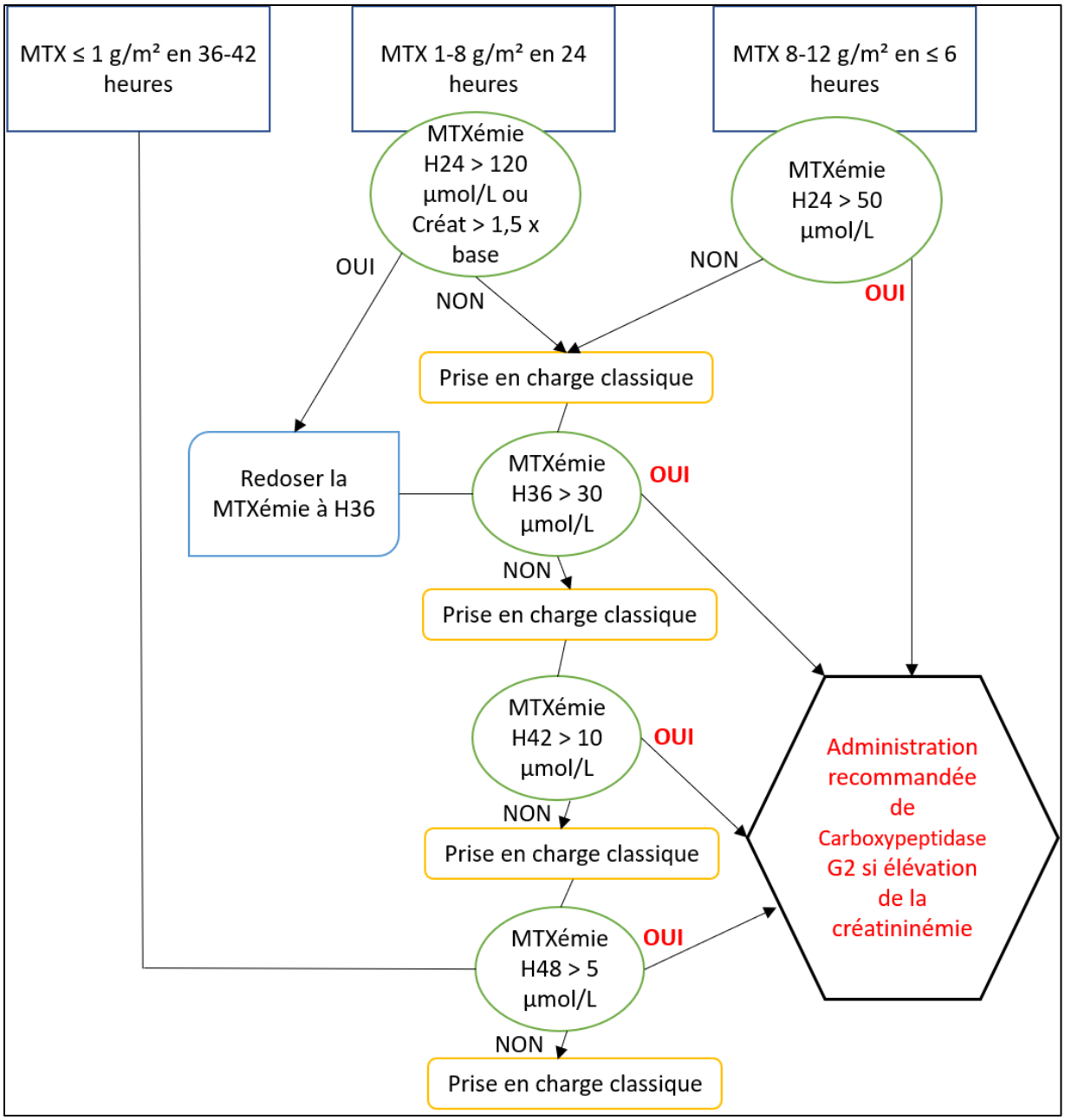

Figure 13: Arbre décisionnel pour l'administration de Carboxypeptidase G2, d'après Ramsey et al. (74)

Les auteurs ne recommandaient pas d'injection supplémentaire de Carboxypeptidase en cas d'efficacité insuffisante de la première administration.

Partie 2 : Recherche de facteurs de susceptibilité à la toxicité du méthotrexate haute dose chez les patients adultes traités pour une hémopathie lymphoïde

I. Introduction - Objectifs

Cette analyse de la littérature nous a permis de mettre en évidence que les facteurs prédictifs de toxicité du méthotrexate haute dose sont mal connus.

La surveillance post-administration et la gestion des toxicités font l'objet de nombreuses recommandations. En revanche, la conduite à tenir pour limiter *a priori* le risque de toxicité chez les patients à risque est peu précise.

Le RCP français (2) stipule qu'avant chaque administration de méthotrexate, il est indispensable de vérifier la numération-formule sanguine et le taux de plaquettes, ainsi que l'absence d'une éventuelle atteinte rénale et/ou insuffisance hépatique.

Selon ce RCP, l'administration doit être reportée en cas de :

- Leucopénie < 1500/mm^3
- Neutropénie < 200/mm^3
- Thrombopénie < 75 G/L
- Bilirubinémie > 20,4 µmol/L
- Taux d'ALAT > 450 UI/L
- Présence de mucite
- Effusion pleurale ou liquide d'ascite
- Clairance de la créatinine < 60 mL/min

Cependant, il n'est pas précisé de modalité d'adaptation de posologie chez ces patients lorsque l'administration du méthotrexate s'avère indispensable.

Cette question d'une éventuelle adaptation de la dose de méthotrexate chez certaines catégories de patients est délicate. En effet, s'il est nécessaire de limiter le risque de toxicité, aux conséquences potentiellement mortelles, nous avons vu l'importance de l'intensité de l'exposition à la chimiothérapie sur les résultats du traitement (32), (55), (56), (58).

Certains auteurs recommandent de diminuer la dose de 50% si la clairance de la créatinine est comprise entre 30 et 60 mL/min, et de 75% entre 10 et 30 mL/min (46).

La posologie du méthotrexate est exprimée en mg/m² de surface corporelle. Cette pratique est supportée par les études de pharmacocinétique de population qui ont mis en évidence une influence de la surface corporelle sur la clairance d'élimination et/ou le volume de distribution du méthotrexate (39), (40), (41), (42). Toutes les études ne retrouvent pas de corrélation entre surface corporelle et clairance d'élimination (38), ce qui pose la question du rationnel de l'adaptation des doses à la surface corporelle chez les patients avec des corpulences extrêmes.

Le protocole du GRAALL (17) prévoit notamment un plafonnement du calcul des doses à une surface corporelle maximale de 2 m², ce qui peut amener à de fortes réductions de doses chez les patients les plus corpulents.

Le plafonnement empirique de la surface corporelle va à l'encontre des recommandations de l'American Society of Clinical Oncology (ASCO), qui préconise d'utiliser le poids réel des patients pour calculer la surface corporelle employée dans la détermination de la dose administrée, y compris chez les sujets obèses (129).
Il n'existe pas de donnée concernant l'adaptation de la posologie du méthotrexate chez les patients en surpoids ou obèses. En pratique, il n'existe pas de recommandation supportée par des données cliniques pour l'adaptation des posologies chez ces patients et/ou ceux ayant une surface corporelle supérieure à 2 m².

La constatation d'une utilisation fréquente de Carboxypeptidase G2 dans notre établissement a posé la question de l'adaptation des posologies du méthotrexate dans notre pratique. C'est pourquoi nous avons entrepris d'étudier la toxicité du méthotrexate chez les patients de notre centre pour en connaître l'incidence en pratique courante et évaluer s'il était possible de mettre en évidence des caractéristiques associées à une augmentation du risque de toxicité.

II. Patients et Méthodes

1. Patients et données recueillies

Notre analyse porte sur l'ensemble des administrations de méthotrexate haute dose (dose protocolaire ≥ 500 mg/m², avec seulement 13 cures où elle était inférieure à 1 g/m²) chez les patients adultes traités à l'Oncopôle – Institut Universitaire du Cancer de Toulouse pour une Leucémie Aiguë Lymphoblastique ou un Lymphome Non Hodgkinien entre janvier 2014 et septembre 2018 (4 ans et 9 mois).
Ont été exclues de l'analyse les administrations pour lesquelles nous ne disposions pas à la fois d'une créatininémie antérieure et postérieure à la perfusion de méthotrexate.

Une extraction de données depuis le logiciel Chimio® nous a permis d'obtenir la liste des administrations correspondantes. Elle contenait les informations suivantes : âge, sexe, poids, taille et surface corporelle du patient, date d'administration, protocole, dose protocolaire, concession de posologie éventuelle, dose effectivement fabriquée, durée de la perfusion, présence d'un fractionnement en dose de charge puis d'entretien avec rapport entre ces doses, présence d'un plafonnement de la dose à 2 m² de surface corporelle.

Nous avons ensuite collecté pour chaque administration les informations figurant dans le **tableau 9**, sur les logiciels DPI® et Orbis® et le serveur de résultats biologiques SRI® :

Tableau 9 : Informations recueillies

Données collectées <u>préalables</u> à l'administration de méthotrexate (dans les 3 jours précédant la perfusion)	**Données collectées <u>postérieures</u> à l'administration de méthotrexate**
Pathologie traitée	Toutes les méthotrexatémies dosées
Protéinémie	Présence d'une hospitalisation ou d'une prolongation d'hospitalisation pour toxicité hématologique
Albuminémie	Administration de Carboxypeptidase G2 et son délai par rapport à celle de méthotrexate
Créatininémie	Créatinémies à J1, J2, J3, J4
Bilan hépatique : taux de : ◊ Aspartate AminoTransférase (ASAT) ◊ Alanine AminoTransférase ◊ Phosphatase Alcaline (PAL) ◊ Gamma Glutamyl Transférase ◊ Bilirubine	Bilan hépatique (réalisé entre J1 et J7)
Hémogramme : taux de : ◊ Hémoglobine ◊ Leucocytes ◊ Polynucléaires Neutrophiles ◊ Plaquettes	Hémogramme (réalisé entre J3 et J18)

Nous avons rendu binaires certaines variables continues mesurées avant l'administration de méthotrexate, en fonction des limites normales inférieures ou supérieures du laboratoire où ont été réalisées les analyses pour les valeurs biologiques :

- Hypoalbuminémie pour albuminémie < 34 g/L
- Hypoprotéinémie pour protéinémie < 64 g/L
- Hyperbilirubinémie pour bilirubinémie > 21 µmol/L
- Surpoids pour IMC > 25 kg/m², correspondant au seuil de surcharge pondérale défini par l'OMS
- Surface corporelle haute pour surface corporelle > 1,93 m², correspondant au 3éme quartile de la population étudiée
- Insuffisance Rénale pour DFG calculé par CKD-EPI et rapporté à la surface corporelle individuelle < 60 mL/min
- Administration lors d'un mois chaud si elle avait eu lieu entre juin et septembre

Les toxicités ont été définies par rapport aux valeurs antérieures à l'administration de méthotrexate pour les toxicités rénale et hépatique, selon la classification Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE) version 5.0 de l'institut national du cancer des États-Unis.

Voici les critères retenus pour évaluer les toxicités étudiées :

- **Toxicité rénale** : le ratio entre la créatininémie maximale dans les 4 jours suivant l'administration de méthotrexate et la valeur de base a été évalué (grade 2 : 1,5 ≤ ratio < 3 ; grade ≥ 3 : ratio ≥ 3). Pour les analyses statistiques, ce ratio a été considéré comme une variable continue en tant que critère d'évaluation de la toxicité, et comme une variable discrète (toxicité rénale grade ≥ 2) lorsqu'il était envisagé comme facteur prédictif d'autres toxicités.
- **Toxicité hépatique** : au moins un des critères ci-dessous rempli pour les paramètres du bilan hépatique :
    - Toxicité sur les ASAT grade ≥ 2 : Taux d'ASAT post méthotrexate élevé d'un facteur supérieur ou égal à 3 par rapport au taux de base.
    - Toxicité sur les ALAT grade ≥ 2 : Taux d'ALAT post méthotrexate élevé d'un facteur supérieur ou égal à 3 par rapport au taux de base.
    - Toxicité sur les PAL grade ≥ 2 : Taux de PAL post méthotrexate élevé d'un facteur supérieur ou égal à 2,5 par rapport au taux de base.
    - Toxicité sur la GGT grade ≥ 2 : Taux de GGT post méthotrexate élevé d'un facteur supérieur ou égal à 2,5 par rapport au taux de base.
    - Toxicité sur la bilirubine grade ≥ 2 : Taux de bilirubine post méthotrexate élevé d'un facteur supérieur ou égal à 1,5 par rapport au taux de base.
- **Toxicité hématologique** : hospitalisation ou prolongation d'hospitalisation en raison d'une toxicité hématologique, retrouvée dans les comptes-rendus médicaux.
- Les autres toxicités (neurologique, digestive, mucites) n'ont pas été étudiées car n'étaient pas facilement collectables dans les dossiers des patients.

2. Analyse statistique des données

L'analyse statistique a été effectuée à l'aide du logiciel R version 3.5.1 et de son annexe R Studio version 1.1.463.

Pour la toxicité rénale, des régressions linéaires univariée puis multivariée ont été utilisées.

Pour les toxicités hématologique et hépatique, des régressions logistiques univariées puis multivariées ont été utilisées (130).

Construction des modèles de covariables :

Les covariables retenues en analyse univariée (celles avec un $p < 0,2$) ou considérées comme cliniquement pertinentes (comme la dose) ont été intégrées dans un modèle de covariables.

Une procédure d'élimination pas à pas a permis d'éliminer les covariables non pertinentes sur la base du critère d'Akaike.

La pertinence des covariables du modèle final dont le p était supérieur à 0,05 était éprouvée par le test du rapport de vraisemblance. Seules les covariables dont la délétion entraînait une dégradation significative ($p < 0,05$) de la qualité de l'ajustement selon le test du rapport de vraisemblance étaient conservées.

III. Résultats

1. Patients

Huit cent trente-six administrations ont été étudiées, reçues par 321 patients différents : 92 traités pour une Leucémie Aiguë Lymphoblastique (28,66%) et 229 pour un Lymphome Non Hodgkinien (71,34%).
Chaque administration était considérée de manière indépendante.

Les caractéristiques de la population générale étaient les suivantes (**tableaux 10** et **11**, **figure 14**) :

Tableau 10 : Caractéristiques de la population générale (variables continues).

Variable	Médiane	Valeur minimale	Valeur maximale	Nombre d'adm. sans valeur disponible
Âge lors de l'administration (ans)	52,31	18,56	83,61	
Poids (kg)	69	41	136	
Taille (cm)	170	140	194	
Surface corporelle (m²)	1,81	1,35	2,55	
IMC (kg/m²)	23,94	15,78	46,66	
Créatininémie (µmol/L)	69	23	166	
Débit de Filtration Glomérulaire calculé avec CKD-EPI et rapporté à la surface corporelle du patient (mL/min)	103,34	32,49	185,32	
Bilirubinémie (µmol/L)	4	0,85	436	
ASAT (UI/L)	21	6	192	
ALAT (UI/L)	31	7	257	
Phosphatases Alcalines (UI/L)	76,50	9	662	16
GammaGlutamylTransférase (UI/L)	54	4,50	1470	16
Albuminémie (g/L)	32	11,00	59	208
Protéinémie (g/L)	58	28,00	89	
Dose reçue (mg/m²)	2992,60	300,70	7862,5	
Durée de la perfusion (h)	3	2	36	19
Débit maximal (mg/m²/min)	16,56	0,21	43,68	19

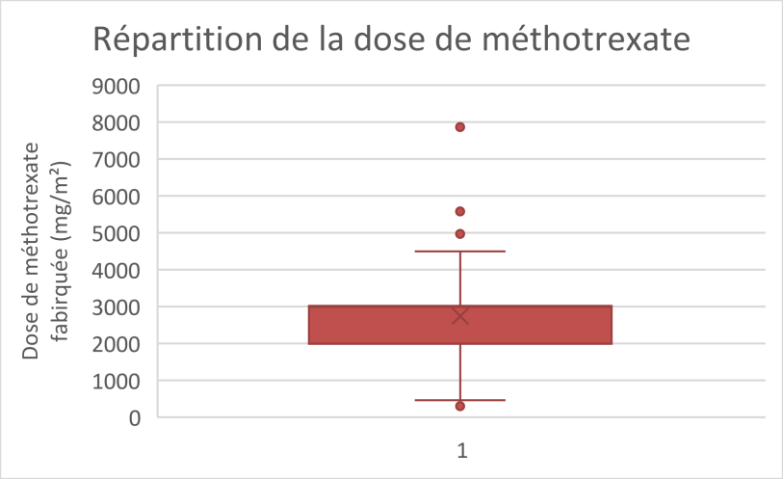

Figure 14 : Représentation graphique de la répartition de la dose de méthotrexate

Tableau 11 : Caractéristiques de la population générale (variables binaires).

Variable	**Proportion (Nombre d'administrations)**
Sexe féminin	42,1 % (352)
Lymphomes Non Hodgkiniens	73,32 % (613)
Leucémies Aiguës Lymphoblastiques	26,67% (223)
Dose de charge	13,2% (110) (seulement LAL)
Surpoids	40% (334)
Surface corporelle élevée	28,8% (241)
Hypoalbuminémie	68,3% (429)
Hypoprotéinémie	84% (702)
Administration durant un mois chaud	39,2% (328)
Insuffisance Rénale	4,3 % (36)
Hyperbilirubinémie	1,7% (14)

Parmi les Lymphomes Non Hodgkiniens, 18,6% des cures s'inscrivaient dans le traitement d'un lymphome de Burkitt (N=114), 29,9% d'un lymphome primitif du Système Nerveux Central (N=183) et 46,2% d'un Lymphome B Diffus à Grandes Cellules (N=283). Les 3,3% restants correspondaient à d'autres lymphomes (N=20).

2. Traitement

Les protocoles reçus par les patients comprenaient du méthotrexate administré aux doses et selon les modalités suivantes **(tableau 12**) :

Tableau 12 : Protocoles reçus par les patients.

Pathologie	**Dose protocolaire (mg/m²)**	**Temps de perfusion (h)**	**Plafonnement de la dose à SC max = 2 m²**	**Fractionnement de la dose**	**Rapport entre les doses de charge et d'entretien**	**Nombre d'administrations**	**Proportion (%)**
LNH	1000	3	NON	NON		3	0,36
LNH	1500	4	OUI			12	1,44
LNH	2000	3	OUI			5	0,60
LNH	2000	3	NON			6	0,72
LNH	3000	3	OUI			337	40,19
LNH	3000	3	NON			89	10,65
LNH	3000	4	NON			47	5,62
LNH	3000	24	OUI			4	0,48
LNH	3000	NC	NC			7	0,84
LNH	3500	2	OUI			101	12,08
LNH	8000	3	OUI			3	0,36
LAL	500	24	OUI	NON		13	1,56
LAL	1000	24	OUI	OUI	4	2	0,24
LAL	1000	24	OUI	NON		33	3,95
LAL	1000	24	NON	NON		28	3,35
LAL	1000	36	OUI	OUI	9	17	2,03
LAL	1500	24	OUI	OUI	2	1	0,12
LAL	1500	24	NON	NON		1	0,12
LAL	3000	3	OUI	NON		2	0,24
LAL	3000	24	NON	OUI	5	24	2,87
LAL	3000	24	NON	NON		16	1,91
LAL	3000	NC	NC	NC	NC	13	1,56
LAL	3500	2	OUI	NON		1	0,12
LAL	5000	24	OUI	OUI	9	1	0,12
LAL	5000	24	NON	OUI	9	58	6,94
LAL	5000	24	NON	NON		13	1,56

3. Toxicités

L'incidence des différentes toxicités, tenant compte des valeurs manquantes, est présentée dans le **tableau 13** ci-dessous :

Tableau 13 : Incidence des toxicités en % (nombre)

Toxicité	**Incidence population générale**		**Incidence Lymphomes**		**Incidence Leucémies**	
	Administrations % (N)	Patients % (N)	Administrations % (N)	Patients % (N)	Administrations % (N)	Patients % (N)
Augmentation des ASAT de grade ≥ 2	5,4 (44)	12 (35)	6,7 (31)	11,3 (23)	7,6 (13)	13,2 (12)
Augmentation des ALAT de grade ≥ 2	6,5 (53)	13,8 (40)	8,3 (38)	12,8 (26)	8,8 (15)	15,4 (14)
Augmentation des PAL de grade ≥ 2	0,4 (3)	1,1 (3)	0,7 (3)	1,5 (3)	0	0
Augmentation des GGT de grade ≥ 2	6 (49)	13,4 (38)	8,3 (37)	13,8 (27)	7 (12)	12,1 (11)
Augmentation de la bilirubinémie de grade ≥ 2	30,7 (252)	59,2 (161)	41,2 (160)	54,6 (101)	55,4 (92)	67,8 (61)
Au moins une toxicité hépatique de grade ≥ 2	37,2 (305)	62,5 (182)	44,1 (204)	58,3 (204)	58,4 (101)	70,3 (64)
Hospitalisation ou prolongation pour toxicité hématologique	14 (117)	23,1 (74)	15,3 (94)	23,6 (54)	10,3 (23)	21,7 (20)
Néphrotoxicité grade ≥ 2	11,7 (98)	27,1 (87)	10,1 (62)	23,1 (59)	16,1 (36)	37 (34)
Néphrotoxicité grade ≥ 3	1,1 (9)	2,8 (9)	0,8 (5)	2,2 (5)	1,8 (4)	4,3 (4)
Ratio entre pire créatininémie post-méthotrexate (J1 à 4) et valeur initiale	1,22		1,20		1,28	
Administration de Carboxypeptidase G2	4,2 (35)	10,6 (34)	4,1 (25)	10,5 (24)	4,5 (10)	10,9 (10)

On remarque notamment qu'au moins une **toxicité hépatique de grade ≥ 2** a été causée par 37,2% des administrations, chez 62,5% des patients. Cette toxicité portait principalement sur la bilirubinémie.

La **toxicité hématologique** du méthotrexate a entraîné une prolongation de l'hospitalisation ou une nouvelle hospitalisation pour 14% des administrations, chez 23,1% des patients.

Une **toxicité rénale de grade ≥ 2** s'est déclarée à l'occasion de 11,7% des administrations, et 27,1% des patients de l'étude ont été concernés.

4. Utilisation de la Carboxypeptidase G2

a) Conditions du recours à l'antidote

Parmi les 35 perfusions (soit 4,2%) de méthotrexate ayant nécessité l'administration de Carboxypeptidase G2 :

- Le délai médian entre le début de la perfusion de méthotrexate et l'administration de l'antidote était de 47 heures (de 23 à 81 heures)
- La valeur médiane de la méthotrexatémie avant l'administration de carboxypeptidase G2 était de 4,28 µmol/L (de 0,22 à 128 µmol/L)
- Le ratio médian de créatininémie entre la dernière valeur mesurée avant l'administration de l'antidote et la valeur de base était de 1,95 (de 0,83 à 5,2)

Les patients concernés ont reçu une dose de 50 U/kg de Carboxypeptidase G2, plafonnée à 4000 unités.

b) Efficacité de la Carboxypeptidase G2

i. Sur la méthotrexatémie

- Sur 33 administrations évaluables, l'antidote a permis la négativation de la méthotrexatémie (< 0,05 µmol/L) dans 27 cas (82%).
- Sur 25 évaluables, un rebond de la méthotrexatémie a été observé pour 10 administrations (40%).

ii. Sur la fonction rénale

- Sur 33 administrations évaluables, la créatinémie continuait à augmenter pendant un temps médian de 2 jours après l'administration de carboxypeptidase G2 (de 1 à 6 jours) avant de redescendre
- Sur 23 administrations évaluables, le délai médian de retour à une créatininémie inférieure à 1,5 fois la valeur basale était de 20 jours (de 4 à 64 jours).
  En comparaison, sur 61 administrations évaluables ayant causé une toxicité rénale de grade ≥ 2, ce délai médian était de 7 jours.

- Six administrations respectaient les critères d'éligibilité pour l'administration de Carboxypeptidase G2 définis par l'OMEDIT Centre (128) :
  - Cinq pour une méthotrexatémie à H48 entre 3 et 10 µmol/L avec hausse de la créatininémie d'un facteur supérieur à 1,5 par rapport à la valeur de base.
  - Une pour une méthotrexatémie à H48 supérieure à 10 µmol/L.
  - Parmi la population générale, 1 seule administration remplissait les critères de l'OMEDIT mais n'a pas donné lieu à l'administration de Carboxypeptidase G2.
- Cinq administrations respectaient les critères définis dans l'article de Ramsey et al. (74). Parmi la population générale, aucune administration ne remplissait ces critères sans avoir conduit à l'administration de Carboxypeptidase G2.

Quatre patients sont décédés des conséquences du surdosage en méthotrexate malgré l'administration de l'antidote.

5. Recherche de facteurs de risque

Pour l'analyse statistique, seules les administrations pour lesquelles nous disposions de toutes les variables que nous souhaitions étudier ont été retenues. Cela correspond à 616 administrations de méthotrexate pour les toxicités rénale et hématologique, et 465 pour la toxicité hépatique.

a) Toxicité rénale

Les résultats de l'analyse statistique pour l'étude de la toxicité rénale (variable expliquée = rapport entre la créatininémie post-méthotrexate de J1 à J4 la plus haute et la valeur initiale) sont détaillés dans le **tableau 14** ci-dessous. Les cases colorées en bleu correspondent aux variables retenues après l'analyse univariée.

Tableau 14 : Analyse statistique des facteurs influençant la toxicité rénale du méthotrexate.

Variable	**Analyse univariée**		**Modèle final**	
	Coefficient	p	Coefficient	p
Bilirubinémie élevée	0,05573	0,7		
Hypoalbuminémie	0,17402	$8,82 \times 10^{-5}$	0,1427	0,00134
Hypoprotéinémie	0,14698	0,0283		
Sexe féminin	-0,09508	0,024		
Age	0,004724	0,000132	0,007880	$3,99 \times 10^{-6}$
Surpoids	0,17422	$3,49 \times 10^{-5}$	0,1372	0,00123
Surface Corporelle élevée	0,19382	$2,04 \times 10^{-5}$		
DFG ajusté à la SC	0,0011082	0,178	0,004840	$5,16 \times 10^{-6}$
Leucémie	0,07915	0,0827		
Dose fabriquée (mg/m²)	$-1,889 \times 10^{-5}$	0,302	$8,427 \times 10^{-6}$	0,66295
Dose fabriquée (mg)	$1,436 \times 10^{-6}$	0,882		
Chaleur	0,02941	0,486		

Selon ce modèle final, les facteurs suivants favorisent la toxicité rénale du méthotrexate : hypoalbuminémie, âge élevé, surpoids, bonne fonction rénale et dose élevée.

Ce modèle permet d'obtenir une équation censée prédire la valeur du ratio de créatininémie en fonction des différentes variables retenues, auxquelles on affecte le coefficient figurant dans le tableau ci-dessus.
L'intercept ou ordonnée à l'origine de cette équation est de 0,1919.
Le R^2 ajusté est de 0,09, ce qui signifie que ce modèle ne permet de prédire que 9 % de la variabilité du ratio de créatininémie. Cela est illustré par la **figure 15** : si la prédiction avait été parfaite, les points auraient été alignés sur la bissectrice de l'angle formé par les deux axes.

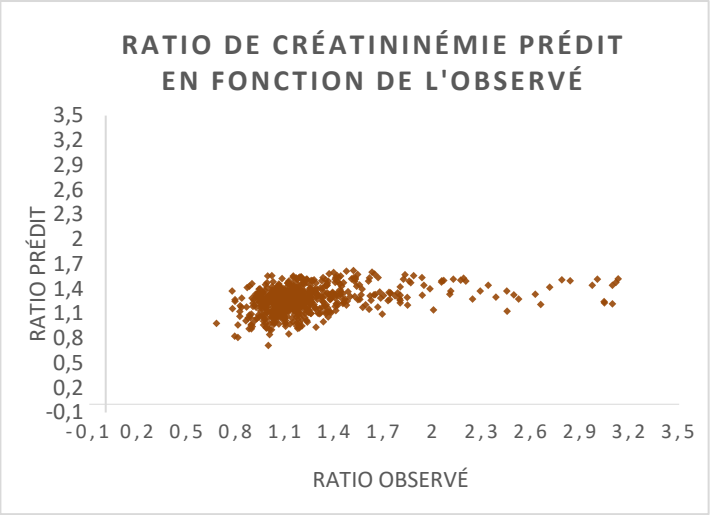

Figure 15 : Graphique présentant le ratio de créatininémie prédit par le modèle final en fonction du ratio observé chez les patients de notre étude.

b) Toxicité hématologique

Les résultats de l'analyse statistique pour l'étude de la toxicité hématologique (variable expliquée = survenue d'une hospitalisation ou d'une prolongation d'hospitalisation pour toxicité hématologique) sont détaillés dans le **tableau 15** ci-dessous. Les cases colorées en bleu correspondent aux variables retenues après analyse univariée.

Tableau 15 : Analyse statistique des facteurs influençant la toxicité hématologique du méthotrexate

Variable	**Analyse univariée**		**Modèle final**		
	OR	p	OR	p	Intervalle de confiance à 95%
Hyperbilirubinémie	1,06405	0,9363			
Hypoalbuminémie	2,385807	0,002775	2,5285180	0,001537	[1,459814 ; 4,6330]
Hypoprotéinémie	0,74364	0,3861			
Sexe féminin	0,50270	0,00619	0,4736192	0,003217	[0,283586 ; 0,7694]
Age	0,998938	0,8761			
Surpoids	0,79808	0,3421			
SC élevée	1,13204	0,616			
DFG ajusté à la SC	1,003037	0,5045			
Insuffisance Rénale	1,90602	0,1816			
Leucémie	0,65357	0,1161			
Dose fabriquée (mg/m²)	0,99994	0,5785			
Dose fabriquée (mg)	0,99999	0,8343			
Chaleur	0,89207	0,6249			
Occurrence d'une toxicité rénale grade ≥ 2	2,08501	0,009037			

Selon ce modèle, les patients présentant une hypoalbuminémie ont un risque multiplié par 2,53 de développer une toxicité hématologique par rapport aux autres patients, tandis que ce risque est multiplié par 0,47 chez les femmes par rapport aux hommes : le sexe féminin est donc un facteur protecteur.

c) Toxicité hépatique

Les résultats des différentes étapes de l'analyse statistique pour l'étude de la toxicité hépatique (variable expliquée = survenue d'au moins une toxicité hépatique de grade 2) sont détaillés dans le **tableau 16** ci-dessous. Les cases colorées en bleu correspondent aux variables retenues après analyse univariée.

Tableau 16 : Analyse statistique des facteurs influençant la toxicité hépatique du méthotrexate.

Variable	**Analyse univariée**		**Modèle final**		
	OR	p	OR	p	Intervalle de confiance à 95%
Hyperbilirubinémie	0,66395	0,5182			
Hypoalbuminémie	1,21268	0,34819			
Hypoprotéinémie	1,46835	0,2005			
Sexe féminin	1,11437	0,56740			
Age	0,98080	0,001081	0,98155	0,002835	[0,96951 ; 0,9935]
Surpoids	0,90704	0,6052			
SC élevée	0,81770	0,3225			
DFG ajusté à la SC	1,00607	0,10034			
Insuffisance Rénale	0,42368	0,0785			
Leucémie	1,85654	0,002326	1,56889	0,033037	[1,03714 ; 2,3769]
Dose fabriquée (mg/m²)	1,00020	0,016961			
Dose fabriquée (mg)	1,00009	0,028417			
Chaleur	0,99496	0,9788			
Occurrence d'une toxicité rénale grade ≥ 2	1,55188	0,07830	1,68946	0,043297	[1,01792 ; 2,8230]

L'âge élevé protège légèrement de la toxicité hépatique du méthotrexate (Odds Ratio = 0,98), tandis que les patients traités pour une leucémie y sont plus susceptibles que ceux traités pour un lymphome (OR = 1,57), et que la survenue d'une toxicité rénale de grade ≥ 2 lors de la même administration de méthotrexate augmente de 69% le risque de toxicité hépatique.

IV. Discussion

Parmi les paramètres constituant le bilan hépatique, seule la bilirubinémie initiale a été testée comme facteur prédictif. En effet, pour limiter les biais dans l'analyse statistique, nous avons choisi de ne tester que les variables à l'implication cliniquement plausible. C'est le cas du taux de bilirubine, dont une valeur élevée peut être le reflet d'un déficit en transporteur MRP2, impliqué dans l'élimination rénale et hépatique du méthotrexate. Ce n'est en revanche pas le cas des taux d'ASAT, ALAT, PAL et GGT, puisque proportion de méthotrexate métabolisée par le foie est faible.

La durée de la perfusion de méthotrexate n'a pas été prise en compte, car très différente entre les leucémies et les lymphomes.

Le numéro de cycle pour un patient donné n'a pas non plus été exploité, car certains patients avaient commencé leur traitement avant la période étudiée.

1. Toxicité rénale

L'incidence d'une augmentation de la créatininémie d'au moins 200% chez les patients de notre étude est similaire à celle rapportée par Wiczer et al. (113) dans une population comparable (10,6% de nos patients contre 10,7% des leurs).
L'incidence de survenue d'une néphrotoxicité de grade ≥ 2 selon les critères CTCAE est comparable à celle rapportée par May et al. (110) pour les patients traités pour un lymphome (9,1% des cycles dans leur étude contre 10,1% parmi nos patients).
Une focalisation sur le lymphome primitif du SNC montre une incidence parmi les patients de notre étude (15,8% des cycles chez 46,7% des patients) supérieure à celles rapportées par Kasenda et al. (58) (12,2% des patients), et Jahnke et al. (91) (3,9% des cycles), ces derniers ayant adapté les doses de méthotrexate en fonction du débit de filtration glomérulaire initial. Elle est inférieure à celle relatée par Green et Chamberlain (30% des cycles), qui concernait des patients plus âgés.

Le modèle obtenu ne permet pas de prédire précisément la variation de créatininémie après administration de méthotrexate (voir figure 15).
Cependant, les facteurs suivants ont été significativement associés à une altération de la fonction rénale, de façon indépendante :

- **Hypoalbuminémie** : cela concorde avec les données de la littérature (19), (20), (113), (114) : elle entraîne une réduction du volume intravasculaire donc de la perfusion rénale et favorise ainsi la précipitation intratubulaire du méthotrexate. L'influence sur le taux de médicament lié aux protéines plasmatiques est controversée. Par ailleurs, l'hypoalbuminémie traduit une dénutrition, courante chez les patients à l'état général altéré donc plus sensibles aux effets toxiques des médicaments.

- **Surpoids** : Schwartz et al. (95) ont également remarqué en 2007 une sur-représentation des patients en surpoids dans une étude portant sur l'utilisation de la Carboxypeptidase G2 et donc la toxicité rénale du méthotrexate. L'antimétabolite ayant une distribution principalement vasculaire, le calcul de la dose basé sur la surface corporelle peut mener à des concentrations sanguines élevées chez les patients en surpoids, car la surface corporelle croît plus rapidement que le volume intravasculaire lorsque le poids augmente. Cela favoriserait la précipitation tubulaire du méthotrexate et donc sa toxicité rénale. Il pourrait donc être bénéfique de calculer la dose d'après la surface corporelle idéale chez ces patients, contrairement aux recommandations de l'ASCO (129).

- **Débit de Filtration Glomérulaire** ajusté à la surface corporelle individuelle : étonnamment, nous trouvons qu'une bonne fonction rénale de base favorise la toxicité rénale du méthotrexate. Cela est probablement dû au fait que des concessions de dose sont fréquemment appliquées chez les patients à la fonction rénale altérée. En effet, 157 administrations sur les 836 de la population générale (18,8%) ont bénéficié d'une concession de posologie, tandis que cette proportion est portée à 39,3% (N=95) parmi les 242 correspondant à des patients ayant un DFG inférieur à 90 mL/min, et 63,9% (23/36) lorsque le seuil est fixé à 60 mL/min.
  Afin de tenter de s'affranchir de ce facteur de confusion que représente la concession de dose, nous avons forcé dans le modèle de covariables la présence de la dose administrée en mg/m². Malgré cela, nous conservons cet effet paradoxal de la fonction rénale. Il est possible que cet effet soit le résultat d'une hydratation plus importante chez les patients à fonction rénale altérée, qui entraînerait artificiellement une diminution du ratio de créatininémie.
  May et al. (110) trouvaient en 2014 une corrélation inverse entre la fonction rénale de base et la survenue d'une néphrotoxicité.

- **Age élevé** : les patients âgés sont plus fragiles et susceptibles à la toxicité des médicaments. Ce facteur de risque persiste malgré les ajustements de posologie effectués chez ces patients. Leur débit de filtration glomérulaire est altéré, ce qui diminue la clairance du méthotrexate et augmente le risque de précipitation tubulaire. De plus, la prise concomitante d'autres médicaments potentiellement néphrotoxiques ou pourvoyeurs d'interactions est plus courante que chez les patients jeunes. Cela est en accord avec les observations de Green et Chamberlain en 2009 (109) et May et al. (110) en 2014, qui remarquaient une augmentation de la créatininémie plus marquée chez les sujets âgés. Ces deux équipes, tout comme celle de Wiczer et al. (113), trouvaient également que le sexe masculin favorisait cette toxicité, facteur que nous ne retrouvons pas dans notre étude. La faible incidence de la toxicité rénale dans le traitement de l'ostéosarcome (1,8%) (108) peut être en partie expliquée par l'âge jeune des patients.

Wiczer et al. (113) ainsi que Cheng et al. (114) trouvaient une corrélation entre la dose de méthotrexate administrée et la survenue d'une néphrotoxicité. Cette corrélation n'est pas retrouvée ici.

Aucune des molécules de chimiothérapie coadministrées avec le méthotrexate dans les protocoles de traitement des LNH et LAL de notre étude n'est connue pour entraîner une toxicité rénale de manière fréquente.

2. Toxicité hématologique

Les critères de définition d'une toxicité hématologique étant particuliers dans notre étude pour cause de disponibilité des données, la comparaison de son incidence avec les données de la littérature n'est pas réalisable.

Les facteurs suivants ont été mis en évidence par notre analyse :

- **Hypoalbuminémie** : Elle entraîne une plus vaste distribution extravasculaire et un retard d'élimination. La moelle osseuse est donc exposée à des concentrations toxiques de façon plus intense et prolongée, ce qui résulte en une toxicité hématologique accrue. Reiss et al. (19) retrouvaient une augmentation de l'incidence des anémies chez les patients présentant une hypoalbuminémie

- **Sexe féminin comme facteur protecteur** : peu de données concernant l'impact du sexe sur la toxicité sont disponibles dans la littérature. Cela n'est cependant pas en accord avec les résultats de l'étude conduite par Wall et al. (63) en 2000 chez des enfants traités pour une LAL, montrant une clairance retardée du méthotrexate chez les filles, expliquée par une plus grande propension à polyglutamyler le médicament. Ce résultat ne concorde pas non plus avec ceux de Holmboe et al. (90), qui mettaient en évidence en 2012 que les concentrations sérique et érythrocytaire de folates étaient plus élevées chez l'homme que chez la femme. Cela devrait en effet entraîner une plus grande susceptibilité des femmes à l'action myélosuppressive du méthotrexate.

La toxicité hématologique dépend fortement des autres chimiothérapies administrées aux patients et l'impact propre du méthotrexate est difficilement isolable.

Chiusolo et al. (82) ont rapporté que les patients jeunes développaient plus d'hématotoxicité que les plus âgés. Cela n'est pas retrouvé dans notre étude.

Il est à noter que nous n'avons pas forcé la dose dans ce modèle de covariables, contrairement à celui utilisé pour l'analyse des facteurs prédictifs de toxicité rénale. Ceci se justifie par l'observation en analyse univariée de l'influence de la toxicité rénale précoce sur la toxicité hématologique. Dans ce contexte de l'existence d'un facteur intercurrent de variabilité de la clairance d'élimination, la prise en compte de la dose perdait de sa pertinence.

3. Toxicité hépatique

Notre revue de la littérature n'a permis de retrouver des données de toxicité hépatique chez les patients adultes que dans la sous-catégorie des lymphomes primitifs du SNC.
Son incidence parmi nos patients est plus élevée que celle rapportée par Jahnke et al. (91), qui adaptaient les doses selon la fonction rénale : elle était de 11,79% des administrations pour les transaminases contre 15,5% (23/148) dans notre étude, 0,81% contre 2% (3/149) pour la PAL, et 0,81 % contre 42,9% pour la bilirubine. Les doses et molécules reçues de manière concomitante ne sont néanmoins pas les mêmes.

La toxicité hépatique du méthotrexate se manifeste principalement par une élévation de la bilirubinémie. Cela est probablement dû à l'interaction entre le médicament et la bilirubine au niveau du transporteur MRP2, qui permet leur excrétion dans le sang.

Les facteurs suivants ont été identifiés comme significativement corrélés à la survenue d'une toxicité hépatique de grade ≥ 2 :

- **Âge comme facteur protecteur** : ce résultat étonnant est probablement dû aux concessions de posologie appliquées chez les patients âgés. En effet, 26,9% (124/461) des administrations effectuées chez des patients âgés de plus de 50 ans en ont bénéficié, contre 18,8% (157/836) dans la population générale de l'étude. Par ailleurs, dans le traitement de la LAL et de certains LNH, des protocoles prévoient une réduction systématique de la dose à partir d'un âge prédéfini.

- **Leucémie par rapport à lymphome** : le rôle des chimiothérapies administrées de manière concomitante au méthotrexate est probablement important. En effet, parmi les molécules employées dans le traitement des LAL mais pas des LNH, on retrouve la mercaptopurine, l'asparaginase et le nilotinib, dont les RCP mentionnent qu'elles entraînent des perturbations du bilan hépatique avec une fréquence élevée, tandis que les molécules utilisées dans le traitement des LNH mais pas des LAL sont peu hépatotoxiques (rituximab, procarbazine, carmustine, doxorubicine). Par ailleurs, les taux d'ASAT et ALAT initiaux étaient significativement plus élevés chez les patients traités pour une leucémie que pour un lymphome (tests de student non montrés).

- **Survenue d'une toxicité rénale de grade ≥ 2** : nous avons vu le lien entre élévation de la créatininémie et retard d'élimination du méthotrexate. Les patients qui développent une toxicité rénale suite à l'administration du méthotrexate sont donc exposés à des concentrations plus importantes durant une durée allongée, ce qui est à l'origine d'une majoration de l'exposition hépatique au méthotrexate et donc d'une cytotoxicité accrue.

Holmboe et al. (90) retrouvaient le sexe féminin comme facteur significativement corrélé à l'occurrence d'une élévation des enzymes hépatiques. Nous ne mettons pas en évidence ce facteur, mais les populations des deux études ne sont pas comparables.
Reiss et al. (19) montraient une association entre hypoalbuminémie et augmentation du taux de bilirubine, que nous ne trouvons pas dans notre étude.

4. Patients avec une surface corporelle supérieure à 2 m²

Cent cinquante-trois administrations ont été effectuées chez des patients avec une surface corporelle supérieure ou égale à 2 m².
Parmi ces administrations, l'incidence d'une toxicité rénale de grade ≥ 2 était de 20,9% (N=32), d'une toxicité hématologique de 15% (N=23), et d'une toxicité hépatique de grade ≥ 2 de 46,4% (N=58) pour les 125 évaluables.
Le calcul de la dose utilisait une surface corporelle maximale de 2 m² pour 94 de ces 153 administrations (61,4%).
Une analyse univariée ne montre pas d'influence de la limitation de la surface corporelle sur le delta de créatininémie comme étudié dans la population générale de l'étude.
En revanche, la limitation de la dose entraîne une réduction de 72% de l'incidence d'hospitalisation ou prolongation d'hospitalisation pour aplasie (OR = 0,28 ; $IC_{95\%}$ [0,10278 ; 0,6774] ; p=0,0063) et de 57% de la survenue d'une toxicité hépatique (OR = 0,43 ; $IC_{95\%}$ [0,20186 ; 0,8803] ; p=0,0225).

5. Administration de Carboxypeptidase G2

L'antidote a montré une bonne efficacité sur la réduction immédiate de la méthotrexatémie.
Les situations menant à son administration ne respectent cependant pas de critères précis, et la comparaison avec des patients exposés au même retard d'élimination du méthotrexate mais n'ayant pas reçu de Carboxypeptidase G2 n'a donc pas pu être faite dans le cadre de cette étude.
Son influence sur l'évolution à moyen terme des patients qui l'ont reçu reste à éclaircir, car si ce produit présente un bon profil de tolérance, il est également très coûteux.
Par ailleurs, la dose optimale n'est pas définie.

6. Limites de l'étude

Notre étude n'a pas tenu compte *a priori* des autres molécules de chimiothérapie administrées aux patients de façon concomitante au méthotrexate, ni de leurs autres médicaments, qui ont pu avoir un rôle important dans la survenue des différentes toxicités étudiées.

Les caractéristiques des patients étaient différentes selon la pathologie pour laquelle ils étaient traités. Nous avons néanmoins choisi de réaliser une analyse globale afin d'en maximiser la puissance pour mettre en évidence des facteurs prédictifs des différentes toxicités.

Les valeurs de méthotrexatémies n'ont pas été exploitées dans ce travail, excepté pour les administrations ayant nécessité l'emploi de Carboxypeptidase G2. Nous n'avons donc pas pu mettre en évidence de lien entre la cinétique d'élimination du méthotrexate et les différentes toxicités.

Les administrations d'acide folinique et de solutés d'hydratation n'étant pas tracées informatiquement par les services utilisateurs de méthotrexate, nous n'avons pas pu analyser ces paramètres.

Nous ne disposions pas des données pharmacogénétiques des patients, qui semblent pourtant expliquer une part non négligeable de la variabilité de leurs paramètres pharmacocinétiques et pharmacodynamiques, corrélés à la survenue des toxicités, principalement hématologique et hépatique (79), (82).

La diminution systématique de la dose de méthotrexate chez les sujets âgés prévue par certains protocoles et les concessions appliquées *a priori* chez ces patients et ceux présentant un DFG abaissé limitent l'interprétabilité de notre étude quant à l'influence de l'âge et de la fonction rénale initiale sur la toxicité de méthotrexate.
C'est le problème des études rétrospectives, qui ne permettent pas le contrôle des variables étudiées.

Conclusion générale

Nous avons pu voir que la littérature ne permet pas d'identifier clairement de facteurs entraînant une augmentation du risque de toxicité du méthotrexate haute dose.

Ceux que nous mettons en évidence dans notre étude ne permettent pas en l'état de conseiller des adaptations de prise en charge visant à limiter le risque de toxicité chez les patients concernés.

En effet, l'administration de méthotrexate est souvent nécessaire, même chez les patients identifiés comme à risque, les alternatives thérapeutiques étant rares.
Les facteurs que nous avons mis en évidence ne sont pas modifiables (âge, sexe, traitement pour une leucémie) ; ou peu, dans un délai rendu court par la nécessité de traiter la pathologie cancéreuse (poids, albuminémie). Il convient donc non pas d'agir sur ces facteurs, mais d'adapter le traitement reçu.

Il est en premier lieu nécessaire d'arrêter chez tous les patients les médicaments pouvant interagir avec le méthotrexate avant l'administration de ce dernier, et de drainer d'éventuels épanchements liquidiens.

Des concessions de posologie peuvent être prévues chez les patients à risque, mais il importe de conserver une dose permettant d'obtenir des concentrations thérapeutiques, sous peine de compromettre le pronostic.
Par ailleurs, la réduction de la dose ne garantit pas une disparition des toxicités, celles-ci se déclarant également à dose modérée.

L'intégration des données de pharmacogénétique en pratique courante pourrait permettre d'identifier certains génotypes à risque devant mener à des concessions de posologie ou à une surveillance renforcée. Elle n'est cependant pas réalisable à l'heure actuelle.

Il paraît essentiel d'éviter la survenue d'une toxicité rénale. Celle-ci est associée à un retard d'élimination du méthotrexate, qui favorise ses toxicités systémiques.
L'hydratation alcaline est la mesure la plus importante pour limiter la néphrotoxicité.
Une intensification de l'hydratation chez les patients identifiés comme à risque ne paraît cependant pas être une piste intéressante. En effet, en cas d'hypoalbuminémie, les solutés administrés fuiraient dans le compartiment extravasculaire, ne remplissant pas l'objectif recherché d'augmentation du débit sanguin rénal. Par ailleurs, les patients âgés sont plus susceptibles de développer des complications cardiaques en cas d'hydratation agressive.
Il est néanmoins primordial de s'assurer que la diurèse et l'alcalinisation soient suffisantes.

L'administration d'albumine humaine avant celle de méthotrexate aux patients présentant une hypoalbuminémie a été évoquée mais non retenue par Reiss et al. (19), car celle-ci serait rapidement redistribuée dans le compartiment extravasculaire, et cette méthode n'a pas montré d'intérêt dans la prévention de la neurotoxicité de l'Ifosfamide.

Une réduction de la dose de méthotrexate administrée chez les patients âgés semble bénéfique, mais pourrait être limitée aux patients dont la fonction rénale et/ou l'état général sont altérés.

Enfin, l'utilisation du poids idéal dans le calcul de la surface corporelle utilisée pour déterminer la dose de méthotrexate pourrait permettre de limiter l'incidence de la toxicité rénale chez les patients en surpoids.

La pertinence clinique des variables que nous avons identifiées doit désormais être validée par une étude prospective étudiant les paramètres pharmacocinétiques du méthotrexate à plusieurs doses, son efficacité et l'incidence des différentes toxicités chez les patients présentant ces caractéristiques. Cela permettrait de mettre en place des recommandations de prise en charge chez les patients à risque.

Bibliographie

1. Jolivet J, Cowan KH, Curt GA, Clendeninn NJ, Chabner BA. The pharmacology and clinical use of methotrexate. New England Journal of Medicine. 3 nov 1983;309(18):1094-104.

2. Méthotrexate : Résumé des Caractéristiques du Produit - Base de données publique des médicaments.

3. Recherche - Stabilis 4.0 [Internet]. [cité 23 févr 2019]. Disponible sur: https://www.stabilis.org/Recherche.php?rechercheGlobale=methotrexate&x=0&y=0

4. Métabolisme de l'acide folique [Internet]. [cité 27 févr 2019]. Disponible sur: http://www.hematocell.fr/index.php/enseignement-de-lhematologie-cellulaire/globules-rouges-et-leur-pathologie/51-metabolisme-de-la-vitamine-b12-et-de-lacide-folique

5. Jaspard E. Métabolisme des bases puriques, bases pyrimidiques et nucléotides [Internet]. [cité 27 févr 2019]. Disponible sur: http://biochimej.univ-angers.fr/Page2/COURS/Zsuite/3BiochMetab/9BasesNucleotides/1BasesNucleotides.htm

6. Schmiegelow K. Advances in individual prediction of methotrexate toxicity: a review. British Journal of Haematology. sept 2009;146(5):489-503.

7. Treon P, Chabner BA. Concepts in use of high-dose methotrexate therapy. Clinical Chemistry. 1996;42(8):1322-9.

8. Chabner BA, Young RC. Threshold Methotrexate Concentration for In Vivo Inhibition of DNA Synthesis in Normal and Tumorous Target Tissues. Journal of Clinical Investigation. 1 août 1973;52(8):1804-11.

9. Blasco H. Facteurs pharmacocinétiques et variabilité de réponse aux médicaments utilisés dans le traitement des lymphomes. Toulouse; 2008.

10. Institut Gustave Roussy. Protocole OS2006. 2007.

11. Grommes C, Rubenstein JL, DeAngelis LM, Ferreri AJM, Batchelor TT. Comprehensive approach to diagnosis and treatment of newly diagnosed primary CNS lymphoma. Neuro-Oncology. 19 févr 2019;21(3):296-305.

12. Joerger M, Huitema ADR, Illerhaus G, Ferreri AJM. Rational administration schedule for high-dose methotrexate in patients with primary central nervous system lymphoma. Leukemia & Lymphoma. oct 2012;53(10):1867-75.

13. Han CH, Batchelor TT. Diagnosis and management of primary central nervous system lymphoma: Primary CNS Lymphoma. Cancer. 15 nov 2017;123(22):4314-24.

14. ONCOOCCITANIE. Traitement des Lymphomes de l'adulte. 2018.

15. Goldschmidt N, Horowitz NA, Hefetz V, Darawshy F, Mashiach T, Shaulov A, et al. Addition of high-dose methotrexate to standard treatment for patients with high-risk diffuse large B-cell lymphoma contributes to improved freedom from progression and survival but does not prevent central nervous system relapse. Leukemia & Lymphoma. 28 janv 2019;1-9.

16. Institut Gustave Roussy. Protocole LMBA02. 2004.

17. Group for Research on Adult Acute Lymphoblastic Leukemia. Protocole GRAALL 2014. 2015.

18. European Working Group on Adult Lymphoblastic Leukemia. Protocole EWALL-PH-02. 2012.

19. Reiss SN, Buie LW, Adel N, Goldman DA, Devlin SM, Douer D. Hypoalbuminemia is significantly associated with increased clearance time of high dose methotrexate in patients being treated for lymphoma or leukemia. Annals of Hematology. déc 2016;95(12):2009-15.

20. Evans WE, Hutson PR, Stewart CF, Cairnes DA, Bowman WP, Rivera G, et al. Methotrexate cerebrospinal fluid and serum concentrations after intermediate-dose methotrexate infusion. Clinical Pharmacology and Therapeutics. mars 1983;33(3):301-7.

21. Nathan PC, Whitcomb T, Wolters PL, Steinberg SM, Balis FM, Brouwers P, et al. Very high-dose methotrexate (33.6 g/m2) as central nervous system preventive therapy for childhood acute lymphoblastic leukemia: results of National Cancer Institute/Children's Cancer Group trials CCG-191P, CCG-134P and CCG-144P. Leukemia & Lymphoma. janv 2006;47(12):2488-504.

22. Csordas K, Hegyi M, Eipel OT, Muller J, Erdelyi DJ, Kovacs GT. Comparison of pharmacokinetics and toxicity after high-dose methotrexate treatments in children with acute lymphoblastic leukemia: Anti-Cancer Drugs. févr 2013;24(2):189-97.

23. Li J, Gwilt P. The effect of malignant effusions on methotrexate disposition. Cancer Chemotherapy and Pharmacology. 1 nov 2002;50(5):373-82.

24. Chabner BA, Allegra CJ, Curt GA, Clendeninn NJ, Baram J, Koizumi S, et al. Polyglutamation of methotrexate. Is methotrexate a prodrug? Journal of Clinical Investigation. 1 sept 1985;76(3):907-12.

25. Ackland SP, Schilsky RL. High-dose methotrexate: a critical reappraisal. Journal of Clinical Oncology. déc 1987;5(12):2017-31.

26. Mantadakis E, Cole PD, Kamen BA. High-Dose Methotrexate in Acute Lymphoblastic Leukemia: Where Is the Evidence for Its Continued Use? Pharmacotherapy. mai 2005;25(5):748-55.

27. Widemann BC, Adamson PC. Understanding and Managing Methotrexate Nephrotoxicity. The Oncologist. 1 juin 2006;11(6):694-703.

28. Collège Universitaire des Enseignants de Néphrologie. Eléments de Physiologie Rénale.

29. Pallet N. Physiologie Rénale [Internet]. [cité 27 févr 2019]. Disponible sur: https://www.biomedicale.parisdescartes.fr/enseignement/toxico/M2THERV_2013_2014/documents/C1/N%20PALLET%20-%20Physiologie-Toxicologie%20Rein%203.ppt

30. Levey AS. A More Accurate Method To Estimate Glomerular Filtration Rate from Serum Creatinine: A New Prediction Equation. Annals of Internal Medicine. 16 mars 1999;130(6):461-70.

31. Levey AS, Stevens LA, Schmid CH, Iii AFC, Feldman HI, Kusek JW, et al. A New Equation to Estimate Glomerular Filtration Rate. Annals of Internal Medicine. 5 mai 2009;150(9):604-12.

32. Evans WE, Stewart CF, Chen C-H, Crom WR, Bowman WP, Abromowitch M, et al. Methotrexate systemic clearance influences probability of relapse in children with standard-risk acute lymphocytic leukaemia. The Lancet. 18 févr 1984;359-62.

33. Evans WE, Crom WR, Abromowitch M, Dodge R, Look AT, Bowman WP, et al. Clinical pharmacodynamics of high-dose methotrexate in Acute Lymphocytic Leukemia. New England Journal of Medicine. 20 févr 1986;314(8):471-7.

34. Takeda M, Khamdang S, Narikawa S, Kimura H, Hosoyamada M, Seok HC, et al. Characterization of Methotrexate Transport and Its Drug Interactions with Human Organic Anion Transporters. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. 1 août 2002;302(2):666-71.

35. Chen Z-S, Lee K, Walther S, Raftogianis RB, Kuwano M, Zeng H, et al. Analysis of Methotrexate and Folate Transport by Multidrug Resistance Protein 4 (ABCC4). Cancer Research. 1 juin 2002;62:3144-50.

36. Rau T, Erney B, Gores R, Eschenhagen T, Beck J, Langer T. High-dose methotrexate in pediatric acute lymphoblastic leukemia: Impact of ABCC2 polymorphisms on plasma concentrations. Clinical Pharmacology & Therapeutics. nov 2006;80(5):468-76.

37. Garcia H, Leblond V, Goldwasser F, Bouscary D, Raffoux E, Boissel N, et al. Toxicité rénale du méthotrexate à haute dose. Néphrologie & Thérapeutique. avr 2018;14:S103-13.

38. Faltaos DW, Hulot JS, Urien S, Morel V, Kaloshi G, Fernandez C, et al. Population pharmacokinetic study of methotrexate in patients with lymphoid malignancy. Cancer Chemotherapy and Pharmacology. nov 2006;58(5):626-33.

39. Dupuis C, Mercier C, Yang C, Monjanel-Mouterde S, Ciccolini J, Fanciullino R, et al. High-dose methotrexate in adults with osteosarcoma: a population pharmacokinetics study and validation of a new limited sampling strategy: Anti-Cancer Drugs. mars 2008;19(3):267-73.

40. Lui G, Treluyer J-M, Fresneau B, Piperno-Neumann S, Gaspar N, Corradini N, et al. A Pharmacokinetic and Pharmacogenetic Analysis of Osteosarcoma Patients Treated With High-Dose Methotrexate: Data From the OS2006/Sarcoma-09 Trial. The Journal of Clinical Pharmacology [Internet]. 23 mai 2018 [cité 7 août 2018]; Disponible sur: http://doi.wiley.com/10.1002/jcph.1252

41. Mei S, Li X, Jiang X, Yu K, Lin S, Zhao Z. Population Pharmacokinetics of High-Dose Methotrexate in Patients With Primary Central Nervous System Lymphoma. Journal of Pharmaceutical Sciences. mai 2018;107(5):1454-60.

42. Hui KH, Chu HM, Fong PS, Cheng WTF, Lam TN. Population Pharmacokinetic Study and Individual Dose Adjustments of High-Dose Methotrexate in Chinese Pediatric Patients With Acute Lymphoblastic Leukemia or Osteosarcoma. The Journal of Clinical Pharmacology. 17 déc 2018;1-12.

43. Joerger M, Bongard HJGD van den, Baas P, Schornagel JH, Schellens JHM, Beijnen JH. Determinants of the elimination of methotrexate and 7-hydroxy-methotrexate following high-dose infusional therapy to cancer patients. British Journal of Clinical Pharmacology. juill 2006;62(1):71-80.

44. Bezabeh S, Mackey AC, Kluetz P, Jappar D, Korvick J. Accumulating Evidence for a Drug-Drug Interaction Between Methotrexate and Proton Pump Inhibitors. The Oncologist. 1 avr 2012;17(4):550-4.

45. Gowarty JL, Patel IJ, Herrington JD. Altered methotrexate clearance in the treatment of CNS lymphoma with concurrent use of nitrofurantoin for a urinary tract infection. Journal of Oncology Pharmacy Practice. 28 nov 2018;0(0):1-4.

46. Reutenauer S, Chauveau D, Récher C. Surdosage au méthotrexate : complications, prise en charge et prévention. Réanimation. oct 2009;18(7):654-8.

47. Gerber DE, Grossman SA, Batchelor T, Ye X. Calculated versus measured creatinine clearance for dosing methotrexate in the treatment of primary central nervous system lymphoma. Cancer Chemotherapy and Pharmacology. 19 mars 2007;59(6):817-23.

48. Barreto JN, McClanahan AL, Rule AD, Thompson CA, Frazee E. Incorporating Cystatin C to Predict Methotrexate Elimination in Patients with CNS Lymphoma and Suspicious Renal Function. Case Reports in Hematology. 2018;2018:1-5.

49. Borsi J, Schuler D, Moe P. Methotrexate administered by 6-h and 24-h infusion : a pharmacokinetic comparison. Cancer Chemotherapy and Pharmacology. 1988;33-5.

50. Bacci G, Ferrari S, Picci P, Zolezzi C, Gherlinzoni F, Iantorno D, et al. Methotrexate Serum Concentration and Histological Response to Multiagent Primary Chemotherapy for Osteosarcoma of the Limbs. Journal of Chemotherapy. janv 1996;8(6):472-8.

51. Bacci G, Loro L, Longhi A, Bertoni F, Bacchini P, Versari M, et al. No correlation between methotrexate serum level and histologic response in the pre-operative treatment of extremity osteosarcoma: Anti-Cancer Drugs. avr 2006;17(4):411-5.

52. Zelcer S, Kellick M, Wexler LH, Shi W, Sankaran M, Lo S, et al. Methotrexate levels and outcome in osteosarcoma. Pediatric Blood & Cancer. 15 juin 2005;44(7):638-42.

53. Lin F, Juan Y, Zheng S-E, Shen Z, Tang L-N, Zhao H, et al. Relationship of serum methotrexate concentration in high-dose methotrexate chemotherapy to prognosis and tolerability: A prospective cohort study in chinese adults with osteosarcoma. Current Therapeutic Research. avr 2009;70(2):150-60.

54. Wang B, Yao H, Xie X, Yin J, Zou C, Huang G, et al. Relationship of peak serum methotrexate concentration to prognosis and drug tolerance in non-metastatic extremity osteosarcomas. Cancer Chemotherapy and Pharmacology. août 2018;82(2):221-7.

55. Ferreri AJM, Guerra E, Regazzi M, Pasini F, Ambrosetti A, Pivnik A, et al. Area under the curve of methotrexate and creatinine clearance are outcome-determining factors in primary CNS lymphomas. British Journal of Cancer. janv 2004;90(2):353-8.

56. Joerger M, Huitema ADR, Krähenbühl S, Schellens JHM, Cerny T, Reni M, et al. Methotrexate area under the curve is an important outcome predictor in patients with primary CNS lymphoma: A pharmacokinetic–pharmacodynamic analysis from the IELSG no. 20 trial. British Journal of Cancer. févr 2010;102(4):673-7.

57. Blasco H, Senecal D, Le Gouge A, Pinard E, Benz-de Bretagne I, Colombat P, et al. Influence of methotrexate exposure on outcome in patients treated with MBVP chemotherapy for primary central nervous system lymphoma: Methotrexate exposure in patients treated with MBVP chemotherapy. British Journal of Clinical Pharmacology. sept 2010;70(3):367-75.

58. Kasenda B, Rehberg M, Thürmann P, Franzem M, Veelken H, Fritsch K, et al. The prognostic value of serum methotrexate area under curve in elderly primary CNS lymphoma patients. Annals of Hematology. août 2012;91(8):1257-64.

59. Dalia S, Price S, Forsyth P, Sokol L, Jaglal M. What is the optimal dose of high-dose methotrexate in the initial treatment of primary central nervous system lymphoma? Leukemia & Lymphoma. févr 2015;56(2):500-2.

60. Farhi J, Laribi K, Orvain C, Hamel J-F, Mercier M, Sutra Del Galy A, et al. Impact of front line relative dose intensity for methotrexate and comorbidities in immunocompetent elderly patients with primary central nervous system lymphoma. Annals of Hematology. déc 2018;97(12):2391-401.

61. Woessmann W, Seidemann K, Mann G, Zimmermann M, Burkhardt B, Oschlies I, et al. The impact of the methotrexate administration schedule and dose in the treatment of children and adolescents with B-cell neoplasms: a report of the BFM Group Study NHL-BFM95. Blood. 1 févr 2005;105(3):948-58.

62. Mikkelsen TS, Sparreboom A, Cheng C, Zhou Y, Boyett JM, Raimondi SC, et al. Shortening Infusion Time for High-Dose Methotrexate Alters Antileukemic Effects: A Randomized Prospective Clinical Trial. Journal of Clinical Oncology. mai 2011;29(13):1771-8.

63. Wall A, Gajjar A, Link A, Mahmoud H, Pui C-H, Relling M. Individualized methotrexate dosing in children with relapsed acute lymphoblastic leukemia. Leukemia. févr 2000;14(2):221-5.

64. Foster JH, Thompson PA, Bernhardt MB, Margolin JF, Hilsenbeck SG, Jo E, et al. A prospective study of a simple algorithm to individually dose high-dose methotrexate for children with leukemia at risk for methotrexate toxicities. Cancer Chemotherapy and Pharmacology. 28 nov 2018;1-12.

65. Methotrexate : Résumé des Caractéristiques du Produit - Food and Drug Administration.

66. Mikkelsen TS, Mamoudou AD, Tuckuviene R, Wehner PS, Schroeder H. Extended duration of prehydration does not prevent nephrotoxicity or delayed drug elimination in high-dose methotrexate infusions: A prospectively randomized cross-over study: Prehydration for High-Dose Methotrexate. Pediatric Blood & Cancer. févr 2014;61(2):297-301.

67. Mir O, Ropert S, Babinet A, Alexandre J, Larousserie F, Durand J-P, et al. Hyper-alkalinization without hyper-hydration for the prevention of high-dose methotrexate acute nephrotoxicity in patients with osteosarcoma. Cancer Chemotherapy and Pharmacology. nov 2010;66(6):1059-63.

68. Howard SC, McCormick J, Pui C-H, Buddington RK, Harvey RD. Preventing and Managing Toxicities of High-Dose Methotrexate. The Oncologist. 1 déc 2016;21(12):1471-82.

69. Groupe Lymphomes Oculo-Cérébraux. Recommandations pour le traitement des lymphomes oculaires et cérébraux. 2014.

70. Folinate de calcium IV : Résumé des Caractéristiques du Produit - Base de données publique des médicaments.

71. Lévofolinate de calcium IV : Résumé des Caractéristiques du Produit - Base de données publique des médicaments.

72. Folinate de calcium per os : Résumé des Caractéristiques du Produit - Base de données publique des médicaments.

73. Boarman DM, Baram J, Allegra CJ. Mechanism of leucovorin reversal of methotrexate cytotoxicity in human MCF-7 breast cancer cells. Biochemical Pharmacology. déc 1990;40(12):2651-60.

74. Ramsey LB, Balis FM, O'Brien MM, Schmiegelow K, Pauley JL, Bleyer A, et al. Consensus Guideline for Use of Glucarpidase in Patients with High-Dose Methotrexate Induced Acute Kidney Injury and Delayed Methotrexate Clearance. The Oncologist. 27 oct 2017;23(1):52-61.

75. Skärby Tvc, Anderson H, Heldrup J, Kanerva J, Seidel H, Schmiegelow K. High leucovorin doses during high-dose methotrexate treatment may reduce the cure rate in childhood acute lymphoblastic leukemia. Leukemia. 21 sept 2006;2006(20):1955-62.

76. Albertioni F, Rask C, Eksborg S, Poulsen JH, Pettersson B, Beck O, et al. Evaluation of clinical assays for measuring high-dose methotrexate in plasma. Clinical Chemistry. 1996;42(1):39-44.

77. Piard C, Bressolle F, Fakhoury M, Zhang D, Yacouben K, Rieutord A, et al. A limited sampling strategy to estimate individual pharmacokinetic parameters of methotrexate in children with acute lymphoblastic leukemia. Cancer Chemotherapy and Pharmacology. 17 juill 2007;60(4):609-20.

78. Pottier N. Pharmacogénomique des anticancéreux : exemples de la Bléomycine et du Méthotrexate. Lille; 2010.

79. Ongaro A, De Mattei M, Della Porta MG, Rigolin G, Ambrosio C, Di Raimondo F, et al. Gene polymorphisms in folate metabolizing enzymes in adult acute lymphoblastic leukemia: effects on methotrexate-related toxicity and survival. Haematologica. 1 oct 2009;94(10):1391-8.

80. D'Angelo V, Ramaglia M, Iannotta A, Crisci S, Indolfi P, Francese M, et al. Methotrexate toxicity and efficacy during the consolidation phase in paediatric acute lymphoblastic leukaemia and MTHFR polymorphisms as pharmacogenetic determinants. Cancer Chemotherapy and Pharmacology. nov 2011;68(5):1339-46.

81. EL-Khodary NM, EL-Haggar SM, Eid MA, Ebeid EN. Study of the pharmacokinetic and pharmacogenetic contribution to the toxicity of high-dose methotrexate in children with acute lymphoblastic leukemia. Medical Oncology. sept 2012;29(3):2053-62.

82. Chiusolo P, Giammarco S, Bellesi S, Metafuni E, Piccirillo N, De Ritis D, et al. The role of MTHFR and RFC1 polymorphisms on toxicity and outcome of adult patients with hematological malignancies treated with high-dose methotrexate followed by leucovorin rescue. Cancer Chemotherapy and Pharmacology. mars 2012;69(3):691-6.

83. Dulucq S, St-Onge G, Gagne V, Ansari M, Sinnett D, Labuda D, et al. DNA variants in the dihydrofolate reductase gene and outcome in childhood ALL. Blood. 1 avr 2008;111(7):3692-700.

84. Treviño LR, Shimasaki N, Yang W, Panetta JC, Cheng C, Pei D, et al. Germline Genetic Variation in an Organic Anion Transporter Polypeptide Associated With Methotrexate Pharmacokinetics and Clinical Effects. Journal of Clinical Oncology. 10 déc 2009;27(35):5972-8.

85. Ramsey LB, Panetta JC, Smith C, Yang W, Fan Y, Winick NJ, et al. Genome-wide study of methotrexate clearance replicates SLCO1B1. Blood. 7 févr 2013;121(6):898-904.

86. Kienana M, Benz-de Bretagne I, Nadal-Desbarats L, Blasco H, Gyan E, Choquet S, et al. Endogenous metabolites that are substrates of organic anion transporter's (OATs) predict methotrexate clearance. Pharmacological Research. avr 2017;118:121-32.

87. Gorlick R, Goker E, Trippett T, Waltham M, Banerjee D, Bertino JR. Intrinsic and Acquired Resistance to Methotrexate in Acute Leukemia. New England Journal of Medicine. 3 oct 1996;335(14):1041-8.

88. Volk EL, Schneider E. Wild-Type Breast Cancer Resistance Protein (BCRP/ABCG2) is a Methotrexate Polyglutamate Transporter. Cancer Research. 1 sept 2003;63:5538-43.

89. Bertino JR, Göker E, Gorlick R, Li WW, Banerjee D. Resistance Mechanisms to Methotrexate in Tumors. Stem Cells. janv 1996;14(1):5-9.

90. Holmboe L, Andersen AM, Mørkrid L, Slørdal L, Hall KS. High dose methotrexate chemotherapy: pharmacokinetics, folate and toxicity in osteosarcoma patients: High dose methotrexate toxicity in osteosarcoma patients. British Journal of Clinical Pharmacology. janv 2012;73(1):106-14.

91. Jahnke K, Korfel A, Martus P, Weller M, Herrlinger U, Schmittel A, et al. High-dose methotrexate toxicity in elderly patients with primary central nervous system lymphoma. Annals of Oncology. 1 mars 2005;16(3):445-9.

92. Bacci G, Ferrari S, Longhi A, Forni C, Loro L, Beghelli C, et al. Delayed methotrexate clearance in osteosarcoma patients treated with multiagent regimens of neoadjuvant chemotherapy. Oncology Reports. 2003;10(4):251-7.

93. Skärby T, Jönsson P, Hjorth L, Behrentz M, Björk O, Forestier E, et al. High-dose methotrexate : on the relationship of methotrexate elimination time vs renal function and serum methotrexate levels in 1164 courses in 264 Swedish children with acute lymphoblastic leukaemia (ALL). Cancer Chemotherapy and Pharmacology. 28 mars 2003;2003(51):311-20.

94. Kagawa Y, Mukohara R, Hori H, Kawasaki H, Komada Y, Kojima M. Fever as a risk factor causing delayed elimination of methotrexate in pediatric patients receiving high doses of cancer chemotherapy. Cancer Chemotherapy and Pharmacology. juill 2004;54(1):34-8.

95. Schwartz S, Borner K, Muller K, Martus P, Fischer L, Korfel A, et al. Glucarpidase (Carboxypeptidase G2) Intervention in Adult and Elderly Cancer Patients with Renal Dysfunction and Delayed Methotrexate Elimination After High-Dose Methotrexate Therapy. The Oncologist. 1 nov 2007;12(11):1299-308.

96. Ranchon F, Vantard N, Henin E, Bachy E, Sarkozy C, Karlin L, et al. Delayed methotrexate elimination: Incidence, interaction with antacid drugs, and clinical consequences? Hematological Oncology. 7 sept 2017;36(2):399-406.

97. Stoller RG, Hande KR, Jacobs SA, Rosenberg SA, Chabner BA. Use of plasma pharmacokinetics to predict and prevent methotrexate toxicity. New England Journal of Medicine. 1977;297(12):630-4.

98. Relling MV, Fairclough D, Ayers D, Crom WR, Rodman JH, Pui CH, et al. Patient characteristics associated with high-risk methotrexate concentrations and toxicity. Journal of Clinical Oncology. août 1994;12(8):1667-72.

99. Xu W, Tang Y, Song H, Shi S, Yang S. Retrospective Study on Elimination Delay of Methotrexate in High-dose Therapy of Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia in China: Journal of Pediatric Hematology/Oncology. oct 2007;29(10):688-93.

100. Cheng KK-F. Association of plasma methotrexate, neutropenia, hepatic dysfunction, nausea/vomiting and oral mucositis in children with cancer. European Journal of Cancer Care. mai 2008;17(3):306-11.

101. Sonis ST. The pathobiology of mucositis. Nature Reviews Cancer. avr 2004;4(4):277-84.

102. Mao J, Zhang L, Shen H, Tang Y, Song H, Zhao F, et al. Creatinine clearance rate and serum creatinine concentration are related to delayed methotrexate elimination in children with lymphoblastic malignancies. Neoplasma. 2014;61(01):77-82.

103. Yang S-L, Zhao F-Y, Song H, Shen D-Y, Xu X-J. Methotrexate Associated Renal Impairment Is Related to Delayed Elimination of High-Dose Methotrexate. The Scientific World Journal. 2015;2015:1-8.

104. Tsurusawa M, Gosho M, Mori T, Mitsui T, Sunami S, Kobayashi R, et al. Statistical analysis of relation between plasma methotrexate concentration and toxicity in high-dose methotrexate therapy of childhood nonHodgkin lymphoma: HDMTX and Toxicity in Childhood B-NHL. Pediatric Blood & Cancer. févr 2015;62(2):279-84.

105. Yang Y, Wang X, Tian J, Wang Z. Renal Function and Plasma Methotrexate Concentrations Predict Toxicities in Adults Receiving High-Dose Methotrexate. Medical Science Monitor. 29 oct 2018;2018(24):7719-26.

106. Feinsilber D, Leoni RJ, Siripala D, Leuck J, Mears KA. Evaluation, Identification, and Management of Acute Methotrexate Toxicity in High-dose Methotrexate Administration in Hematologic Malignancies. Cureus. 8 janv 2018;10(1):1-8.

107. Hempel L, Misselwitz J, Fleck C, Kentouche K, Leder C, Appenroth D, et al. Influence of high-dose methotrexate therapy (HD-MTX) on glomerular and tubular kidney function. Medical and Pediatric Oncology. juin 2003;40(6):348-54.

108. Widemann BC, Balis FM, Kempf-Bielack B, Bielack S, Pratt CB, Ferrari S, et al. High-dose methotrexate-induced nephrotoxicity in patients with osteosarcoma: Incidence, treatment, and outcome. Cancer. 15 mai 2004;100(10):2222-32.

109. Green MR, Chamberlain MC. Renal dysfunction during and after high-dose methotrexate. Cancer Chemotherapy and Pharmacology. mars 2009;63(4):599-604.

110. May J, Carson KR, Butler S, Liu W, Bartlett NL, Wagner-Johnston ND. High incidence of methotrexate associated renal toxicity in patients with lymphoma: a retrospective analysis. Leukemia & Lymphoma. juin 2014;55(6):1345-9.

111. Garneau AP, Riopel J, Isenring P. Acute Methotrexate-Induced Crystal Nephropathy. New England Journal of Medicine. 31 déc 2015;373(27):2691-3.

112. Zhang W, Zhang Q, Zheng T-T, Zhen J-C, Niu X-H. Delayed High-dose Methotrexate Excretion and Influencing Factors in Osteosarcoma Patients. Chinese Medical Journal. 5 nov 2016;129(21):2530-4.

113. Wiczer T, Dotson E, Tuten A, Phillips G, Maddocks K. Evaluation of incidence and risk factors for high-dose methotrexate-induced nephrotoxicity. Journal of Oncology Pharmacy Practice. juin 2016;22(3):430-6.

114. Cheng D-H, Lu H, Liu T-T, Zou X-Q, Pang H-M. Identification of Risk Factors in High-Dose Methotrexate-Induced Acute Kidney Injury in Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia. Chemotherapy. 19 avr 2018;63(2):100-6.

115. Abelson HT, Fosburg MT, Beardsley GP, Goorin AM, Gorka C, Link M, et al. Methotrexate-induced renal impairment: clinical studies and rescue from systemic toxicity with high-dose leucovorin and thymidine. Journal of Clinical Oncology. mars 1983;1(3):208-16.

116. Flombaum CD, Liu D, Yan SQ, Chan A, Mathew S, Meyers PA, et al. Management of Patients with Acute Methotrexate Nephrotoxicity with High-Dose Leucovorin. Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy. juill 2018;38(7):714-24.

117. Krause AS, Weihrauch MR, Bode U, Fleischhack G, Elter T, Heuer T, et al. Carboxypeptidase-G 2 Rescue in Cancer Patients with Delayed Methotrexate Elimination after High-dose Methotrexate Therapy. Leukemia & Lymphoma. janv 2002;43(11):2139-43.

118. Buchen S, Ngampolo D, Melton RG, Hasan C, Zoubek A, Henze G, et al. Carboxypeptidase G2 rescue in patients with methotrexate intoxication and renal failure. British Journal of Cancer. févr 2005;92(3):480-7.

119. Green J. Glucarpidase to combat toxic levels of methotrexate in patients. Therapeutics and Clinical Risk Management. nov 2012;(8):403-13.

120. Sherwood RF, Melton RG, Alwan SM, Hughes P. Purification and properties of carboxypeptidase G2 from Pseudomonas sp. strain RS-16. Use of a novel triazine dye affinity method. European Journal of Biochemistry. mai 1985;148(3):447-53.

121. Hempel G, Lingg R, Boos J. Interactions of carboxypeptidase G2 with 6S-leucovorin and 6R-leucovorin in vitro: implications for the application in case of methotrexate intoxications. Cancer Chemotherapy and Pharmacology. avr 2005;55(4):347-53.

122. Widemann B, Sung E, Anderson L, Salzer W, Balis F, Monitjo K, et al. Pharmacokinetics and metabolism of the methotreaxte metabolite 2, 4-diamino-N(10)-methylpteroic acid. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. sept 2000;294(3):894-901.

123. Voraxaze : Résumé des Caractéristiques du Produit - Food and Drug Administration.

124. Widemann BC. Practical considerations for the administration of glucarpidase in high-dose methotrexate (HDMTX) induced renal dysfunction. Pediatric Blood & Cancer. sept 2015;62(9):1512-3.

125. Widemann BC, Balis FM, Kim A, Boron M, Jayaprakash N, Shalabi A, et al. Glucarpidase, Leucovorin, and Thymidine for High-Dose Methotrexate-Induced Renal Dysfunction: Clinical and Pharmacologic Factors Affecting Outcome. Journal of Clinical Oncology. sept 2010;28(25):3979-86.

126. Widemann BC, Schwartz S, Jayaprakash N, Christensen R, Pui C-H, Chauhan N, et al. Efficacy of Glucarpidase (Carboxypeptidase G2) in Patients with Acute Kidney Injury After High-Dose Methotrexate Therapy. Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy. mai 2014;34(5):427-39.

127. Blasco H, Silly S, Tournamille J-F, Gyan E, Sénécal D, André V, et al. Les critères d'utilisation de la carboxypeptidase dans les surexpositions au méthotrexate doivent être mieux définis. Thérapie. janv 2008;63(1):19-28.

128. OMEDIT Centre. Fiche de recommandations : Carboxypeptidase G2 et surdosage en méthotrexate. 2008.

129. Griggs JJ, Mangu PB, Anderson H, Balaban EP, Dignam JJ, Hryniuk WM, et al. Appropriate Chemotherapy Dosing for Obese Adult Patients With Cancer: American Society of Clinical Oncology Clinical Practice Guideline. JOURNAL OF CLINICAL ONCOLOGY. 1 mai 2012;30(13):1553-61.

130. El Sanharawi M, Naudet F. Comprendre la régression logistique. Journal Français d'Ophtalmologie. oct 2013;36(8):710-5.

Abstract:

High-dose methotrexate (≥ 500 mg/m²) is widely used in the treatment of Acute Lymphoblastic Leukaemia and Non-Hodgkin Lymphoma. Despite measures encouraging methotrexate elimination (alkaline hydration) and preserving normal cells from its cytotoxic effects (leucovorin rescue), a large number of patients develop toxicity, which may be life-threatening.

In this study, we investigated the incidence of renal, haematological and hepatic toxicities during 836 administrations of methotrexate to 321 adult patients treated for a lymphoid malignancy at Toulouse's University Cancer Institute between 2014 and 2018.
On review of the literature, there is currently no clearly identifiable risk factors which may increase the likelihood of methotrexate toxicity. Therefore, using collection and analysis of biologic and anthropometric data, our aim was to identify such markers.

Our results demonstrate that grade ≥ 2 renal toxicity happened in 11,7% of methotrexate perfusions. Hypoalbuminemia, advanced age, overweight and good renal function were associated with nephrotoxicity risk.

Haematological toxicity was seen in 14% of administrations and was independently correlated with hypoalbuminemia (OR = 2,53 ; $CI_{95\%}$ [1,46 ; 4,63] ; p = 0,0015) and female gender (OR : 0,47 ; $CI_{95\%}$ [0,28 ; 0,77] ; p = 0,0032).

Grade ≥ 2 hepatotoxicity incidence was 37,2% (mostly hyperbilirubinemia) and was more likely to occur when there was evidence of renal toxicity in the same course (OR = 1,57 ; $CI_{95\%}$ [1,04 ; 2,38] ; p = 0,033), treatment was for leukaemia rather than a lymphoma (OR = 1,69 ; $CI_{95\%}$ [1,02 ; 2,82] ; p = 0,0433), and decreased with age (OR = 0,98 ; $CI_{95\%}$ [0,97 ; 0,99] ; p = 0,0028).

Amongst the patient risk factors which correlated with methotrexate toxicity, age, overweight and hypoalbuminemia seem relevant to consider for a dose adjustment on a case-by-case basis.

Titre : Recherche de facteurs de risque de toxicité du méthotrexate haute dose chez les patients adultes traités pour une hémopathie lymphoïde

Résumé :

Le méthotrexate haute dose (≥ 500 mg/m²) est largement utilisé dans le traitement de la Leucémie Aiguë Lymphoïde et de certains Lymphomes Non Hodgkiniens. Malgré les mesures favorisant son élimination (hyperhydratation alcaline) et préservant les cellules saines de son action cytotoxique (sauvetage par l'acide folinique), de nombreux patients développent une toxicité, aux conséquences parfois mortelles.

Nous avons étudié l'incidence des toxicités rénale, hématologique et hépatique lors de 836 administrations de méthotrexate haute dose chez 321 patients adultes traités pour une hémopathie lymphoïde au sein de l'Institut Universitaire du Cancer de Toulouse entre 2014 et 2018.

Les données de la littérature n'identifiant pas clairement de facteurs prédisposant à ces toxicités, nous avons tenté d'en mettre en évidence grâce au recueil et à l'analyse de données biologiques et anthropométriques.

Une toxicité rénale de grade ≥ 2 s'est déclarée lors de 11,7% des perfusions de méthotrexate. L'hypoalbuminémie, l'âge élevé, un surpoids et une bonne fonction rénale étaient associés au risque de néphrotoxicité.

L'incidence de la toxicité hématologique était de 14% des administrations et était indépendamment corrélée à l'hypoalbuminémie (OR = 2,53 ; IC95% [1,46 ; 4,63] ; p = 0,0015) et au sexe féminin (OR : 0,47 ; IC95% [0,28 ; 0,77] ; p = 0,0032).

L'incidence de la toxicité hépatique de grade ≥ 2 était de 37,2%. Elle se manifestait principalement par une hyperbilirubinémie et était favorisée par la survenue d'une toxicité rénale durant le même cycle (OR = 1,57 ; IC95% [1,04 ; 2,38] ; p = 0,033), le traitement d'une leucémie plutôt que d'un lymphome (OR = 1,69 ; IC95% [1,02 ; 2,82] ; p = 0,0433), et diminuait avec l'âge (OR = 0,98 ; IC95% [0,97 ; 0,99] ; p = 0,0028).

Parmi les variables identifiées comme corrélées à la toxicité du méthotrexate, l'âge, le surpoids et l'hypoalbuminémie semblent pertinentes à considérer pour une adaptation de dose *a priori* au cas par cas.

Mots clés : Méthotrexate, Toxicité, Leucémie, Lymphome

Title: Research of risk factors for high-dose methotrexate toxicity in adult patients treated for a lymphoid malignancy

Keywords : Methotrexate, Toxicity, Leukaemia, Lymphoma

Abstract : Voir au recto de la dernière feuille du document