



**HAL**  
open science

# Évaluation de l'apport du dosage pharmacologique de l'hydroxycarbamide dans la prise en charge des enfants drépanocytaires au CHU de Clermont-Ferrand

Julie Missaire

► **To cite this version:**

Julie Missaire. Évaluation de l'apport du dosage pharmacologique de l'hydroxycarbamide dans la prise en charge des enfants drépanocytaires au CHU de Clermont-Ferrand. Médecine humaine et pathologie. 2022. dumas-03832153

**HAL Id: dumas-03832153**

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03832153v1>

Submitted on 27 Oct 2022

**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.

UNIVERSITÉ CLERMONT AUVERGNE  
UFR DE MÉDECINE ET DES PROFESSIONS PARAMÉDICALES

**THÈSE D'EXERCICE**

pour le

**DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN MÉDECINE**

par

MISSAIRE Julie

Présentée et soutenue publiquement le 11 octobre 2022

**Evaluation de l'apport du dosage pharmacologique de  
l'hydroxycarbamide dans la prise en charge des enfants  
drépanocytaires au CHU de Clermont-Ferrand**

Directeur de thèse :

Monsieur MERLIN Etienne, Professeur, UFR de Médecine et des Professions paramédicales de Clermont-Ferrand

Président du jury :

Madame KANOLD Justyna, Professeur, UFR de Médecine et des Professions paramédicales de Clermont-Ferrand

Membres du jury :

Monsieur RICHARD Damien, Docteur, CHU de Clermont-Ferrand, Service de Pharmacologie Médicale

Madame SERRE-SAPIN Anne-Françoise, Docteur, CHU de Clermont-Ferrand, Service d'Hématologie Biologique



## UNIVERSITE CLERMONT AUVERGNE

---

PRESIDENTS HONORAIRES  
UNIVERSITE D'AUVERGNE

: **JOYON** Louis  
: **DOLY** Michel  
: **TURPIN** Dominique  
: **VEYRE** Annie  
: **DULBECCO** Philippe  
: **ESCHALIER** Alain

PRESIDENTS HONORAIRES  
UNIVERSITE BLAISE PASCAL

: **CABANES** Pierre  
: **FONTAINE** Jacques  
: **BOUTIN** Christian  
: **MONTEIL** Jean-Marc  
: **ODOUARD** Albert  
: **LAVIGNOTTE** Nadine

PRESIDENT DE L'UNIVERSITE et  
PRESIDENT DU CONSEIL ACADEMIQUE PLENIER  
PRESIDENT DU CONSEIL ACADEMIQUE RESTREINT  
VICE-PRESIDENT DU CONSEIL D'ADMINISTRATION  
VICE-PRESIDENT DE LA COMMISSION DE LA RECHERCHE  
VICE PRESIDENTE DE LA COMMISSION DE LA  
FORMATION ET DE LA VIE UNIVERSITAIRE  
DIRECTEUR GENERAL DES SERVICES

: **BERNARD** Mathias  
: **DEQUIEDT** Vianney  
: **FOGLI** Anne  
: **HENRARD** Pierre  
: **PEYRARD** Françoise  
: **PAQUIS** François



## UFR DE MEDECINE ET DES PROFESSIONS PARAMEDICALES

DOYENS HONORAIRES

: **DETEIX** Patrice  
: **HAZAL** Jean

DOYEN  
RESPONSABLE ADMINISTRATIVE

: **CLAVELOU** Pierre  
: **ROBERT** Gaëlle

## LISTE DU PERSONNEL ENSEIGNANT

### **PROFESSEURS HONORAIRES :**

MM. BACIN Franck - BEGUE René-Jean - BEYTOUT Jean - BOMMELAER Gilles - BOUCHER Daniel - BUSSIERE Jean-Louis - CANO Noël - CASSAGNES Jean - CATILINA Pierre - CHABANNES Jacques - CHAZAL Jean - CHIPPONI Jacques - CHOLLET Philippe - CITRON Bernard - COUDERT Jean - DASTUGUE Bernard - DAUPLAT Jacques - DECHELOTTE Pierre - DEMEOCQ François - DE RIBEROLLES Charles - DETEIX Patrice - ESCANDE Georges - Mme FONCK Yvette - MM. GENTOU Claude - Mme GLANDDIER Phyllis - MM IRTTHUM Bernard - JACQUETIN Bernard - Mme LAVARENNE Jeanine - MM. LAVERAN Henri - LESOURD Bruno - LEVAI Jean-Paul - MAGE Gérard - MARCHEIX Jean-Claude - MICHEL Jean-Luc - MONDIE Jean-Michel - PHILIPPE Pierre - PLAGNE Robert - PLANCHE Roger - PONSONNAILLE Jean - REY Michel - Mme RIGAL Danièle - MM. ROZAN Raymond - SCHOEFFLER Pierre - SIROT Jacques - RIBAL Jean-Pierre - SOUTEYRAND Pierre - TANGUY Alain - TERVER Sylvain - THIEBLOT Philippe - TOURNILHAC Michel - VANNEUVILLE Guy - VIALLET Jean-François - Mlle VEYRE Annie

### **PROFESSEURS EMERITES :**

MM. AUMAITRE Olivier - BOITEUX Jean-Paul - CHAMOUX Alain - DUBRAY Claude - ESCHALIER Alain - KEMENY Jean-Louis - LABBE André - Mme LAFEUILLE Hélène - MM. LEMERY Didier - LUSSON Jean-René

## **PROFESSEURS DES UNIVERSITES-PRATICIENS HOSPITALIERS**

### **CLASSE EXCEPTIONNELLE**

M. VAGO Philippe	Histologie-Embryologie Cytogénétique
M. AVAN Paul	Biophysique et Traitement de l'Image
M. DURIF Franck	Neurologie
M. BOIRE Jean-Yves	Biostatistiques, Informatique Médicale et Technologies de Communication
M. BOYER Louis	Radiologie et Imagerie Médicale option Clinique
M. POULY Jean-Luc	Gynécologie et Obstétrique
M. CANIS Michel	Gynécologie-Obstétrique
Mme PENAULT-LLORCA Frédérique	Anatomie et Cytologie Pathologiques
M. BAZIN Jean-Etienne	Anesthésiologie et Réanimation Chirurgicale
M. BIGNON Yves Jean	Cancérologie option Biologique
M. BOIRIE Yves	Nutrition Humaine

M. CLAVELOU Pierre	Neurologie
M. GILAIN Laurent	O.R.L.
M. LEMAIRE Jean-Jacques	Neurochirurgie
M. CAMILLERI Lionel	Chirurgie Thoracique et Cardio-Vasculaire
M. DAPOIGNY Michel	Gastro-Entérologie
M. LLORCA Pierre-Michel	Psychiatrie d'Adultes
M. PEZET Denis	Chirurgie Digestive
M. SOUWEINE Bertrand	Réanimation Médicale
M. BOISGARD Stéphane	Chirurgie Orthopédique et Traumatologie
Mme DUCLOS Martine	Physiologie
M. SCHMIDT Jeannot	Thérapeutique
M. BERGER Marc	Hématologie
M. GARCIER Jean-Marc	Anatomie-Radiologie et Imagerie Médicale
M. ROSSET Eugénio	Chirurgie Vasculaire
M. SOUBRIER Martin	Rhumatologie
M. ABERGEL Armando	Hépatologie
Mlle BARTHELEMY Isabelle	Chirurgie Maxillo-Faciale
M. RUIVARD Marc	Médecine Interne

### *1ère CLASSE*

M. CAILLAUD Denis	Pneumo-phtisiologie
M. VERRELLE Pierre	Radiothérapie option Clinique
M. D'INCAN Michel	Dermatologie -Vénérologie
Mme JALENQUES Isabelle	Psychiatrie d'Adultes
M. GERBAUD Laurent	Epidémiologie, Economie de la Santé et Prévention
M. SOUBRIER Martin	Rhumatologie
M. TAUVERON Igor	Endocrinologie et Maladies Métaboliques
M. MOM Thierry	Oto-Rhino-Laryngologie
M. RICHARD Ruddy	Physiologie
M. SAPIN-DEFOUR Vincent	Biochimie et Biologie Moléculaire
M. BAY Jacques-Olivier	Cancérologie
M. BERGER Marc	Hématologie
M. COUDEYRE Emmanuel	Médecine Physique et de Réadaptation
Mme GODFRAIND Catherine	Anatomie et Cytologie Pathologiques
M. LAURICHESSE Henri	Maladies Infectieuses et Tropicales
M. TOURNILHAC Olivier	Hématologie
M. CHIAMBARETTA Frédéric	Ophtalmologie
M. FILAIRE Marc	Anatomie – Chirurgie Thoracique et Cardio-Vasculaire
M. GALLOT Denis	Gynécologie-Obstétrique
M. GUY Laurent	Urologie
M. TRAORE Ousmane	Hygiène Hospitalière
M. ANDRE Marc	Médecine Interne
M. BONNET Richard	Bactériologie, Virologie
M. CACHIN Florent	Biophysique et Médecine Nucléaire
M. COSTES Frédéric	Physiologie

M. FUTIER Emmanuel	Anesthésiologie-Réanimation
Mme HENG Anne-Elisabeth	Néphrologie
M. MOTREFF Pascal	Cardiologie
Mme PICKERING Gisèle	Pharmacologie Clinique
M. RABISCHONG Benoît	Gynécologie Obstétrique
M. CHABROT Pascal	Radiologie et Imagerie Médicale
M. DESCHAMPS Stéphane	Chirurgie Orthopédique et Traumatologie
Mme HENQUELL Cécile	Bactériologie Virologie
M. POMEL Christophe	Cancérologie – Chirurgie Générale

### **2ème CLASSE**

Mme CREVEAUX Isabelle	Biochimie et Biologie Moléculaire
M. FAICT Thierry	Médecine Légale et Droit de la Santé
Mme KANOLD LASTAWIECKA Justyna	Pédiatrie
M. TCHIRKOV Andréï	Cytologie et Histologie
M. CORNELIS François	Génétique
M. LESENS Olivier	Maladies Infectieuses et Tropicales
M. AUTHIER Nicolas	Pharmacologie Médicale
M. BROUSSE Georges	Psychiatrie Adultes/Addictologie
M. BUC Emmanuel	Chirurgie Digestive
M. LAUTRETTE Alexandre	Néphrologie Réanimation Médicale
Mme BRUGNON Florence	Biologie et Médecine du Développement et de la Reproduction
M. ESCHALIER Romain	Cardiologie
M. MERLIN Etienne	Pédiatrie
Mme TOURNADRE Anne	Rhumatologie
M. DURANDO Xavier	Cancérologie
M. DUTHEIL Frédéric	Médecine et Santé au Travail
Mme FANTINI Maria Livia	Neurologie
M. SAKKA Laurent	Anatomie – Neurochirurgie
M. BOURDEL Nicolas	Gynécologie-Obstétrique
M. GUIEZE Romain	Hématologie
M. POINCLOUX Laurent	Gastroentérologie
M. SOUTEYRAND Géraud	Cardiologie
M. EVRARD Bertrand	Immunologie
M. POIRIER Philippe	Parasitologie et Mycologie
Mme PHAM DANG Nathalie	Chirurgie Maxillo-Faciale et Stomatologie
Mme SARRET Catherine	Pédiatrie

## **PROFESSEURS DES UNIVERSITES DE MEDECINE GENERALE**

### **1ère CLASSE**

M. CLEMENT Gilles  
M. VORILHON Philippe

Médecine Générale  
Médecine Générale

## PROFESSEURS DES UNIVERSITES

### *2ème CLASSE*

Mme MALPUECH-BRUGERE Corinne Nutrition Humaine

## PROFESSEURS ASSOCIES DES UNIVERSITES

Mme BOTTET-MAULOUBIER Anne Médecine Générale  
M. CAMBON Benoît Médecine Générale  
M. TANGUY Gilles Médecine Générale

## MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS

### *HORS CLASSE*

Mme CHAMBON Martine Bactériologie Virologie  
Mme BOUTELOUP Corinne Nutrition  
Mme FOGLI Anne Biochimie Biologie Moléculaire  
Mle GOUAS Laetitia Cytologie et Histologie, Cytogénétique

### *1ère CLASSE*

M. MORVAN Daniel Biophysique et Traitement de l'Image  
Mle GOUMY Carole Cytologie et Histologie, Cytogénétique  
M. MARCEAU Geoffroy Biochimie Biologie Moléculaire  
Mme MINET-QUINARD Régine Biochimie Biologie Moléculaire  
M. ROBIN Frédéric Bactériologie  
Mle VERONESE Lauren Cytologie et Histologie, Cytogénétique  
M. DELMAS Julien Bactériologie

Mle MIRAND Andrey	Bactériologie Virologie
M. OUCHCHANE Lemlih	Biostatistiques, Informatique Médicale et Technologies de Communication
M. LIBERT Frédéric	Pharmacologie Médicale
Mle COSTE Karen	Pédiatrie
Mle AUMERAN Claire	Hygiène Hospitalière
Mme CASSAGNES Lucie	Radiologie et Imagerie Médicale
M. LEBRETON Aurélien	Hématologie
M. BUISSON Anthony	Gastroentérologie
M. BOUVIER Damien	Biochimie et Biologie Moléculaire
M. MAQDASY Salwan	Endocrinologie, Diabète et Maladies Métaboliques
Mme NOURRISSON Céline	Parasitologie - Mycologie
Mme PONS Hanaë	Biologie et Médecine du Développement et de la Reproduction

### ***2ème CLASSE***

M. JABAUDON-GANDET Matthieu	Anesthésiologie – Réanimation Chirurgicale
M. COLL Guillaume	Neurochirurgie
M. GODET Thomas	Anesthésiologie – Réanimation et Médecine Péri-Opératoire
M. LACHAL Jonathan	Pédopsychiatrie
M. MOUSTAFA Farès	Médecine d’Urgence

## **MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES DE MEDECINE GENERALE**

### ***1ère CLASSE***

Mme VAILLANT-ROUSSEL Hélène	Médecine Générale
-----------------------------	-------------------

### ***2ème CLASSE***

Mme LAPORTE Catherine	Médecine Générale
-----------------------	-------------------

## **MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES**



### ***HORS CLASSE***

M. BLANCHON Loïc	Biochimie Biologie Moléculaire
M. MARCHAND Fabien	Pharmacologie Médicale
Mme VAURS-BARRIERE Catherine	Biochimie Biologie Moléculaire

### ***CLASSE NORMALE***

M. BAILLY Jean-Luc	Bactériologie Virologie
Mle AUBEL Corinne	Oncologie Moléculaire
Mle GUILLET Christelle	Nutrition Humaine
M. BIDET Yannick	Oncogénétique
M. MARCHAND Fabien	Pharmacologie Médicale
M. DALMASSO Guillaume	Bactériologie
M. PIZON Frank	Santé Publique
M. SOLER Cédric	Biochimie Biologie Moléculaire
M. GIRAUDET Fabrice	Biophysique et Traitement de l'Image
M. LOLIGNIER Stéphane	Neurosciences – Neuropharmacologie
Mme MARTEIL Gaëlle	Biologie de la Reproduction
M. PINEL Alexandre	Nutrition Humaine

### **MAITRES DE CONFERENCES ASSOCIES DES UNIVERSITES**

M. BERNARD Pierre	Médecine Générale
Mme ESCHALIER Bénédicte	Médecine Générale
Mme RICHARD Amélie	Médecine Générale
M. TESSIERES Amélie	Médecine Générale
Mme ROUGE Laure	Médecine Générale

## REMERCIEMENTS

### A notre Présidente du jury

Madame le Professeur Justyna KANOLD, je vous remercie de me faire l'honneur de présider ce jury de thèse et de juger mon travail. Je vous remercie également d'avoir toujours répondu présente pour mes différents projets, merci pour votre enseignement et vos précieux conseils.

### A notre Directeur de thèse

Monsieur le Professeur Etienne MERLIN, merci infiniment de m'avoir accordé ta confiance pour la réalisation de ce travail, merci pour ton soutien, pour tes encouragements et pour ta grande disponibilité, qui m'ont permis de mener ce travail à bien. Je te remercie également pour ton encadrement et ta bienveillance depuis le début de mon internat. J'espère pouvoir profiter encore longtemps de tes enseignements.

### A notre Jury de thèse

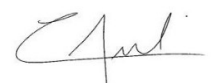
Monsieur le Docteur Damien RICHARD, merci d'avoir rendu ce travail possible. Je te remercie pour ta patience et ta pédagogie qui m'ont permis de m'initier au monde de la pharmacologie. Je souhaite que nous ayons l'occasion de continuer à travailler ensemble dans l'avenir.

Madame le Docteur Anne-Françoise SERRE-SAPIN, je vous remercie d'avoir accepté de siéger dans ce jury et d'apporter votre expertise dans ce travail.

Pour sa participation à ce travail, je souhaite aussi remercier Madame Marie DE ANTONIO qui m'a apporté une aide précieuse.

Dédicaces validées le 12/09/2022

Le Directeur de thèse



# TABLE DES MATIERES

LISTE DES TABLEAUX ET FIGURES .....	11
LISTE DES ABREVIATIONS .....	12
RESUME.....	13
INTRODUCTION.....	15
MATERIELS ET METHODES.....	20
1) Type d'étude.....	20
2) Population d'étude.....	20
3) Réalisation des dosages pharmacologiques.....	20
3.1) Cinétiques d'hydroxycarbamide.....	20
3.2) Adaptations posologiques.....	22
4) Analyses pharmacologiques .....	22
4.1) Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS).....	22
4.2) Préparation des échantillons.....	23
4.3) Préparation de la gamme et des contrôles .....	24
4.4) Chromatographie en phase gazeuse : séparation des molécules.....	25
4.5) Spectrométrie de masse : qualification et quantification.....	26
4.6) Validité des résultats .....	28
5) Recueil de données.....	29
6) Critères de jugement.....	30
7) Considérations statistiques .....	31
8) Ethique.....	31
RESULTATS .....	32
1) Population d'étude.....	32
2) Corrélation entre AUC et paramètres clinico-biologiques de réponse au traitement.....	34
3) Corrélation entre posologie et paramètres clinico-biologiques de réponse au traitement .....	36
4) Qui de l'AUC ou de la posologie est le meilleur prédicteur d'efficacité et de toxicité ?.....	37
5) Corrélation entre AUC et posologie .....	38
6) Analyse des patients ayant eu plusieurs cinétiques .....	39
6.1) Cinétiques à posologie fixe .....	39
6.1) Cinétiques à différentes posologies chez un même patient.....	40
DISCUSSION .....	42
CONCLUSION .....	50
ANNEXES .....	51
BIBLIOGRAPHIE .....	52
SERMENT D'HIPPOCRATE .....	55

# LISTE DES TABLEAUX ET FIGURES

## Tableaux

**Tableau I** - Caractéristiques générales des patients à l'inclusion

**Tableau II** - Etude de la corrélation entre l'AUC et les marqueurs de réponse clinico-biologique à l'hydroxycarbamide

**Tableau III** - Etude de la corrélation entre la posologie et les marqueurs de réponse clinico-biologique à l'hydroxycarbamide

**Tableau IV** - Etude du meilleur prédicteur d'efficacité et de toxicité de l'hydroxycarbamide entre l'AUC et la posologie

**Tableau V** - Caractéristiques des patients avant et après adaptation posologique

## Figures

**Figure 1** - Principe général de la GC-MS

**Figure 2** - Etape de dérivation chimique de l'hydroxycarbamide, Dr Richard

**Figure 3** - Courbe de calibration de l'hydroxycarbamide, Dr Richard

**Figure 4** - Chromatogramme de l'Hydroxy Urée  $^{13}\text{C}$   $^{15}\text{N}_2$ , Dr Richard

**Figure 5** : Spectre de masse de l'Hydroxy Urée  $^{13}\text{C}$   $^{15}\text{N}_2$ , Dr Richard

**Figure 6** : Pic chromatographique de l'Hydroxy Urée  $^{13}\text{C}$   $^{15}\text{N}_2$ , Dr Richard

**Figure 7** - Diagramme de flux des patients inclus dans l'étude

**Figure 8** - Corrélation entre AUC (mg/L/h) et VGM (fL)

**Figure 9** - Corrélation entre AUC et posologie

**Figure 10** - Cinétiques répétées à la même posologie chez deux patients

## **LISTE DES ABREVIATIONS**

**AUC** : aire sous la courbe

**CHU** : centre hospitalier universitaire

**CVO** : crise vaso-occlusive

**DFG** : débit de filtration glomérulaire

**DMT** : dose maximale tolérée

**GB** : globules blancs

**GC-MS** : chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

**HbA** : hémoglobine A

**HbF** : hémoglobine fœtale

**HbS** : hémoglobine S

**HPLC** : chromatographie liquide haute performance

**HU** : hydroxycarbamide

**LDH** : lactate déshydrogénase

**NO** : monoxyde d'azote

**PNN** : polynucléaires neutrophiles

**SS** : drépanocytose homozygote SS

**VGM** : volume globulaire moyen

## RESUME

**CONTEXTE :** La drépanocytose est une maladie héréditaire du globule rouge grevée d'une importante morbi-mortalité. Le seul traitement médicamenteux ayant fait la preuve de son efficacité dans cette pathologie est l'hydroxycarbamide. Bien que d'utilisation courante, ce traitement est difficile à manipuler en raison de sa grande variabilité inter-individuelle. L'apport de la pharmacologie semble particulièrement intéressant dans l'adaptation thérapeutique de l'hydroxycarbamide.

**OBJECTIF :** L'objectif principal de cette étude était d'étudier la relation entre l'exposition pharmacologique à l'hydroxycarbamide et les critères clinico-biologiques de réponse au traitement.

**METHODE :** Nous avons réalisé une étude observationnelle, monocentrique, incluant les patients drépanocytaires, âgés de 9 mois à 21 ans, traités par hydroxycarbamide au CHU de Clermont-Ferrand entre le 15/03/2021 et le 31/08/2022. Les analyses pharmacologiques ont été réalisées par une technique de chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.

**RESULTATS :** Sur les 19 patients inclus dans l'étude, 11 avaient atteint une AUC  $\geq 115$  mg/L/h. Nous avons observé une association significative entre l'AUC et le taux de globules blancs ( $p = 0.008$ ), de monocytes ( $p = 0.002$ ), de réticulocytes ( $p = 0.024$ ), de VGM ( $p = 0.007$ ) et de bilirubine ( $p = 0.009$ ). Il n'existait pas de corrélation significative avec les autres paramètres biologiques étudiés, ni avec les paramètres cliniques de réponse au traitement.

**CONCLUSION :** Bien que peu utilisés en pratique courante, les dosages pharmacologiques semblent pouvoir apporter une aide dans la prise en charge des enfants drépanocytaires. Des travaux de plus grande ampleur sont nécessaires pour définir précisément leur place dans l'algorithme thérapeutique.

## INTRODUCTION

La drépanocytose est la maladie génétique la plus fréquente dans le monde avec une incidence estimée à plus de 300 000 nouveaux cas par an (1). De distribution hétérogène, la prévalence de la maladie est particulièrement élevée dans les régions d'Afrique subsaharienne, du bassin méditerranéen, du Moyen-Orient et de l'Inde (2). Les mouvements de population expliquent que la drépanocytose s'est étendue bien au-delà de ses origines et concerne à présent tous les continents.

En France, la drépanocytose est la plus fréquente des maladies génétiques dépistées avec, en 2020, une incidence de 1/1332 naissances, soit 557 nouveau-nés diagnostiqués (3).

La drépanocytose est une maladie héréditaire du globule rouge. De transmission autosomique récessive, elle est due à une mutation ponctuelle du gène de la bêta-globine (substitution d'un glutamate par une valine en position 6), conduisant à la synthèse anormale d'hémoglobine S (HbS). Dans certaines circonstances (hypoxie, déshydratation, acidose, hyperthermie), l'hémoglobine S se polymérise rendant les hématies fragiles et déformées. Parallèlement, l'augmentation de l'adhésion des globules rouges à l'endothélium, l'hyperviscosité, l'activation leucocytaire et plaquettaire et les anomalies du métabolisme du monoxyde d'azote (NO) font de la drépanocytose une pathologie vasculaire diffuse et complexe (4).

Les syndromes drépanocytaires majeurs regroupent quatre formes génétiques principales : homozygotie S/S, hétérozygoties S/C, S/B<sup>+</sup> ou S/B<sup>0</sup>. Cliniquement, ils sont caractérisés par une anémie hémolytique chronique, des phénomènes vaso-occlusifs responsables d'infarctus viscéraux et de douleurs, et une susceptibilité accrue aux infections par asplénie fonctionnelle.



L'hydroxycarbamide est l'un des seuls traitements médicamenteux ayant fait la preuve de son efficacité dans cette pathologie. Il est associé à une diminution du nombre de crises vaso-occlusives et de syndromes thoraciques aigus, à un moindre recours aux transfusions sanguines et à une baisse du nombre d'hospitalisations (5). Ces données, initialement établies chez des patients drépanocytaires adultes, ont été largement confirmées en population pédiatrique (6–9). De plus, bien que les indications françaises de l'hydroxycarbamide soient encore limitées aux patients âgés de plus de 2 ans ayant déjà présentés des complications (10,11), il est maintenant établi que l'administration prophylactique, précoce et intensive de ce traitement améliore le pronostic vital et fonctionnel des enfants drépanocytaires dès l'âge de 9 mois (9,12).

Les mécanismes d'action de cette molécule ne sont pas encore complètement élucidés. Un des axes principaux repose sur l'augmentation des concentrations d'hémoglobine fœtale (HbF) par l'activation de la guanylyl cyclase soluble et la modification de la formation érythrocytaire. L'HbF interfère avec la polymérisation de l'HbS et empêche la falciformation du globule rouge. Les autres effets bénéfiques de l'hydroxycarbamide sont la réduction de production médullaire de polynucléaires neutrophiles et de réticulocytes, la diminution de l'adhésion endothéliale, la réduction de l'hémolyse et l'amélioration de la vasodilatation par libération de NO (13). L'ensemble de ces mécanismes concourent à une diminution de la vaso-occlusion.

Les effets thérapeutiques de l'hydroxycarbamide sont dose dépendants. Le schéma posologique traditionnellement utilisé consiste à débiter le traitement à une posologie empirique de 15 à 20 mg/kg/j et augmenter progressivement jusqu'à la dose maximale tolérée (DMT). Cette dose maximale est définie par une myélosuppression significative, principalement révélée par une baisse des polynucléaires neutrophiles, des plaquettes et des réticulocytes. La myélosuppression, effet souhaité de l'escalade thérapeutique, représente la

principale toxicité. La neutropénie est la cytopénie la plus fréquente. Son incidence dépend du seuil retenu pour la toxicité et pour les ajustements de dose (habituellement entre 1,5 et 2 G/L) (8,13). La suppression médullaire induite par l'hydroxycarbamide est dose dépendante et totalement réversible à l'arrêt du traitement.

Les autres effets secondaires sont rares en population pédiatrique. Il s'agit surtout de troubles gastro-intestinaux (douleurs abdominales, nausées) et dermatologiques (hyperpigmentation et mélanonychie), qui eux, ne sont pas dose-dépendants (13,14).

Parallèlement aux bénéfices et aux toxicités, il est observé une grande variabilité phénotypique quant à la réponse au traitement (15). Cette variabilité est notable à la fois pour les marqueurs d'efficacité (hausse de l'hémoglobine fœtale, du VGM, de l'hémoglobine, baisse des marqueurs d'hémolyse) et pour les marqueurs de toxicité (baisse du taux de GB, de PNN, de plaquettes). De même, la dose maximale tolérée est très variable d'un patient à l'autre (16,17). Ceci explique toute la difficulté pour les cliniciens de prédire avec précision la réponse individuelle à l'hydroxycarbamide.

Pour ces raisons, plusieurs travaux se sont intéressés au monitoring pharmacologique de l'hydroxycarbamide. L'étude HUSTLE, publiée en 2011 (15), est la première étude majeure s'intéressant à la pharmacologie de l'hydroxycarbamide chez les enfants drépanocytaires. Avec 174 patients inclus, ce travail a apporté des informations précieuses quant aux déterminants de la pharmacocinétique, pharmacodynamie et pharmacogénétique de ce traitement. Il a notamment permis d'établir l'AUC médiane des enfants ayant atteint leur dose maximale tolérée. Cette AUC, reflet de l'exposition systémique à l'hydroxycarbamide, était de 115 mg/L/h.

Les données de l'étude HUSTLE ont été utilisées par l'équipe du Pr Dong (18), pour le développement d'un modèle pharmacocinétique de population. Ce modèle, basé sur les données

pharmacocinétiques individuelles, permet de proposer une posologie optimale d'hydroxycarbamide pour chaque patient. Conformément aux résultats obtenus dans HUSTLE, l'AUC ciblée pour l'adaptation de dose était de 115 mg/L/h. Outre le développement de ce modèle, Dong et al. ont identifié les temps de prélèvements les plus informatifs pour une estimation robuste de l'AUC : 20 minutes, 1 heure et 3 heures après la prise du traitement.

Cette stratégie de dosage de l'hydroxyurée personnalisée et guidée par la pharmacocinétique a été validée en pratique clinique dans l'essai TREAT (19). Dans cette étude, le délai moyen pour atteindre la DMT était significativement plus court (4,8 mois) qu'avec le schéma posologique traditionnel. La réponse biologique au traitement était meilleure pour l'Hb et l'HbF que dans l'étude BABY HUG (9). Enfin, bien que la posologie atteinte à la DMT (26,7 mg/kg/j) soit plus élevée qu'avec le schéma posologique habituel (15,20), les auteurs ne rapportaient pas plus de toxicité hématologique.

En France, et spécifiquement en population pédiatrique, le recours à la pharmacologie pour l'usage de l'hydroxycarbamide est encore très limité. Peu de laboratoires proposent le dosage de cette molécule, ce qui complique son utilité en pratique courante.

Le suivi thérapeutique des enfants drépanocytaires pourrait pourtant apporter une aide précieuse pour guider l'adaptation posologique. A la lumière des travaux américains déjà réalisés (15,18,19), le dosage pharmacologique a ainsi été développé récemment au CHU de Clermont-Ferrand.

L'objectif principal de cette étude était d'étudier la relation entre l'exposition pharmacologique à l'hydroxycarbamide et les critères clinico-biologiques de réponse au traitement.

Les objectifs secondaires étaient d'étudier la relation entre la posologie d'hydroxycarbamide et ces mêmes critères clinico-biologiques de réponse au traitement ; d'analyser le lien entre l'AUC et la posologie d'hydroxyurée ; d'évaluer l'intérêt du dosage pharmacologique (AUC) comme prédicteur de l'efficacité et de la toxicité de l'hydroxycarbamide par rapport à la posologie.

## MATERIELS ET METHODES

### 1) Type d'étude

Il s'agissait d'une étude rétrospective, monocentrique, observationnelle et analytique.

Notre étude s'est déroulée du 15 mars 2021 au 31 août 2022.

### 2) Population d'étude

Tous les enfants atteints de syndrome drépanocytaire majeur (SS, SC, SB<sup>+</sup> ou SB<sup>0</sup>) pris en charge dans les services d'hématologie et de pédiatrie générale du CHU Estaing, en cours de traitement par hydroxycarbamide ou ayant une indication d'initier ce traitement, étaient éligibles pour participer à cette étude.

Les critères d'exclusion retenus pour cette étude étaient les suivants :

- Age de moins de 9 mois ou de plus de 21 ans au moment des dosages pharmacologiques
- Absence de consentement du ou des responsables légaux pour la réalisation des cinétiques

### 3) Réalisation des dosages pharmacologiques

#### 3.1) Cinétiques d'hydroxycarbamide

Les analyses pharmacologiques étaient réalisées soit en hôpital de jour lors de bilans annuels ou de séances d'érythrophérèse, soit en hospitalisation complète dans le cadre de complications aiguës. Dans les deux cas, les dosages pharmacologiques étaient faits dans le respect du planning de suivi habituel des enfants.

Les cinétiques étaient initiées le matin, avant la prise du médicament. Les patients ayant pour habitude de prendre leur traitement le soir avaient pour consigne de ne pas prendre la dose du soir précédant la cinétique, l'hydroxycarbamide étant administré le lendemain matin au moment de la cinétique.

Il n'a pas été prévu de période de wash-out plus longue car les premières cinétiques réalisées avant cette étude retrouvaient de façon systématique un  $t_0$  égal à 0 mg/L/min. La demi-vie du traitement est courte, d'environ six à sept heures.

L'hydroxycarbamide était administré par l'infirmière en charge des prélèvements.

La réalisation de cinétiques d'hydroxycarbamide nécessite 4 prélèvements, correspondant à différents temps par rapport à la prise du traitement (**Annexe I**).

- $t_0$  correspondant au dosage avant la prise du traitement
- $t_1$ , correspondant au dosage à 20 minutes de la prise du traitement
- $t_2$ , correspondant au dosage à 1 heure de la prise du traitement
- $t_3$ , correspondant au dosage à 3 heures de la prise du traitement

Les prélèvements étaient réalisés par ponction veineuse périphérique (voie dédiée aux prélèvements, ne pouvant être utilisée pour l'administration de thérapeutiques ou de perfusion). La pose de voie veineuse était réalisée pour une autre indication que celle de la réalisation de la cinétique. Un mL de sang était nécessaire pour chacun des temps de prélèvement.

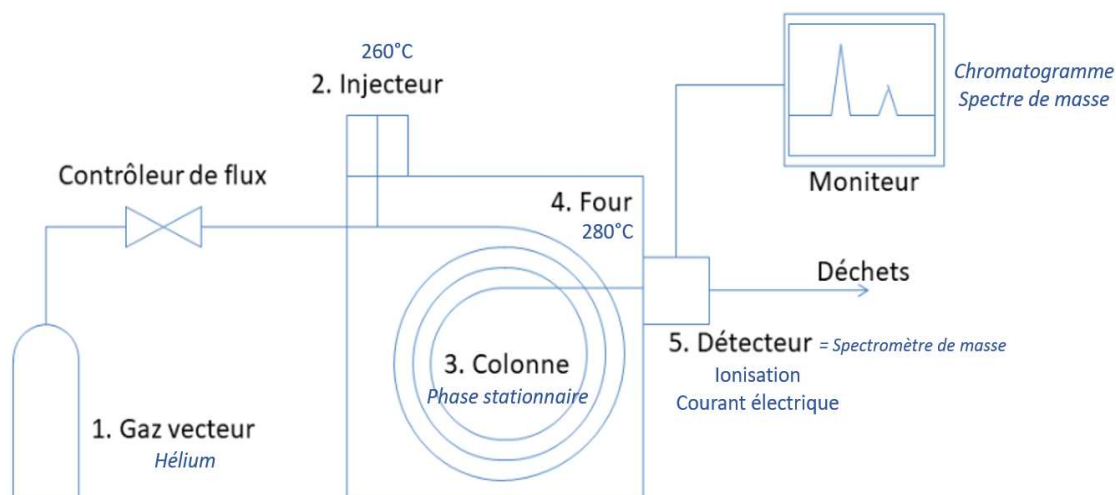
### 3.2) Adaptations posologiques

Certains patients, n'ayant pas encore atteint leur dose maximale tolérée, ont vu adapter leur posologie journalière d'hydroxycarbamide au cours de la période d'étude. Cette adaptation de dose était laissée à l'appréciation du médecin référent de l'enfant conformément aux recommandations et aux pratiques courantes. Pour les enfants ayant déjà bénéficié de dosages pharmacologiques, l'AUC apportait une aide quant à l'adaptation de posologie, en plus des critères clinico-biologiques habituels.

## 4) Analyses pharmacologiques

### 4.1) Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS)

Cette technique d'analyse permet de combiner les performances de la chromatographie pour la séparation des molécules, et de la spectrométrie de masse pour la détection, l'identification et la quantification des molécules en fonction de leur masse et de leur charge électrique (**Figure 1**). Ce procédé, classiquement utilisé pour le dosage pharmacologique, a été adapté pour l'analyse de l'hydroxycarbamide par le laboratoire de pharmacologie du CHU de Clermont-Ferrand.



**Figure 1 - Principe général de la GC-MS**

#### 4.2) Préparation des échantillons

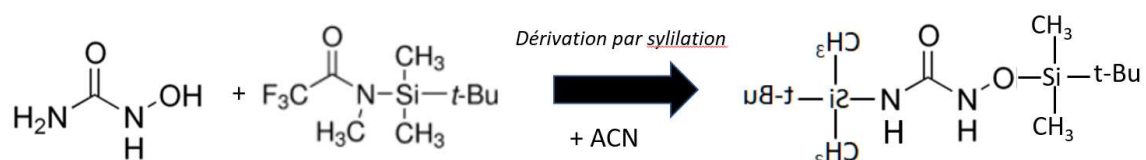
L'hydroxyurée est une molécule polaire de petite taille (76g/mol).

Son analyse directe par GC-MS n'est pas réalisable directement à partir d'un échantillon biologique. Plusieurs étapes de pré-traitement de l'échantillon doivent être réalisées au préalable.

La première étape consiste à extraire et purifier l'hydroxycarbamide de la matrice sanguine. Pour cela, à partir d'un volume fixe d'échantillon de plasma (200µL), et après avoir ajusté le pH, 1mL d'un solvant organique non miscible à l'eau (donc au plasma) est ajouté : l'acétate d'éthyle. Cette technique d'extraction liquide/liquide permet de transférer les molécules d'intérêt de la phase aqueuse vers la phase organique. Cette phase est ensuite récupérée, puis évaporée à sec sous un bain d'azote et à température ambiante. Par cette étape, l'hydroxycarbamide est extraite de la matrice biologique et concentrée dans un tube de recueil.



La deuxième étape correspond à la dérivation chimique de l'hydroxycarbamide afin de modifier de façon répétable et reproductible sa structure chimique pour permettre son analyse. Pour ce faire, un protocole de silylation à l'aide de MTBSFA/ACN (25%/75%) a été développé (Figure 2).

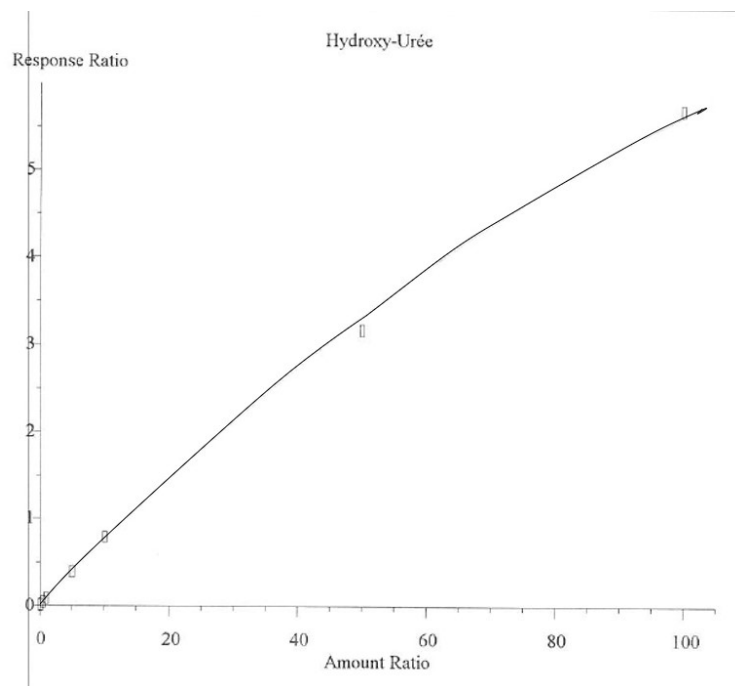


**Figure 2 - Etape de dérivation chimique de l'hydroxycarbamide, Dr Richard**

La dérivation a pour objectif de stabiliser la molécule d'hydroxycarbamide à haute température, de la rendre plus volatile et d'augmenter son poids moléculaire. L'ensemble de ses critères va permettre l'analyse de l'hydroxycarbamide par GC-MS. L'Hydroxy Urée <sup>13</sup>C <sup>15</sup>N<sub>2</sub>, molécule existante sous forme préfabriquée, servira d'étalon interne pour l'analyse quantitative des échantillons. Elle subira la même étape de dérivation chimique que l'hydroxycarbamide un fois extraite.

#### 4.3) Préparation de la gamme et des contrôles

Afin de pouvoir quantifier l'hydroxycarbamide dans les différents échantillons sanguins, il est nécessaire de réaliser un étalonnage. L'étalonnage nécessite la préparation de solutions contenant de l'Hydroxy Urée à des concentrations croissantes ainsi qu'un étalon interne ajouté à la même concentration dans tous les points de gamme, l'Hydroxy Urée <sup>13</sup>C <sup>15</sup>N<sub>2</sub>. Les solutions sont analysées par l'appareil de mesure, permettant l'obtention d'une courbe de calibration. Celle-ci servira de référence lors de la phase de quantification de l'Hydroxy Urée dans chacun des échantillons sanguins du patient.

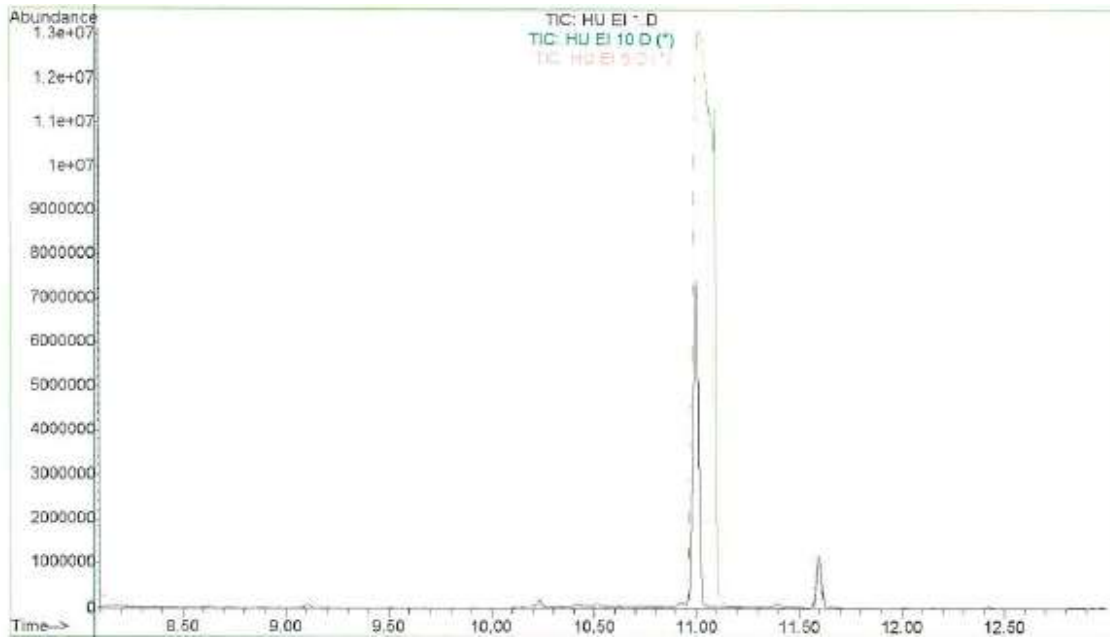


**Figure 3 - Courbe de calibration de l'hydroxycarbamide, Dr Richard**

#### 4.4) Chromatographie en phase gazeuse : séparation des molécules

Les échantillons ainsi prétraités, sont pris en charge par le passeur d'échantillon pour être introduits sous forme liquide, au niveau de l'injecteur, où ils sont instantanément vaporisés et mélangés au gaz vecteur, l'hélium. Ce mélange gazeux est ensuite transmis au niveau de la colonne analytique. Au sein de la colonne, les différents constituants des échantillons sont séparés en fonction de leur différence d'affinité entre la phase mobile gazeuse et la phase stationnaire présente sur la surface interne de la colonne de séparation. Chaque molécule possède une vitesse d'élution qui lui est propre, en fonction de ses particularités physico-chimiques et de son affinité avec la phase stationnaire de la colonne d'analyse. Après séparation dans la colonne avec les produits interférents, les différentes molécules sont transmises au détecteur par spectrométrie de masse.

Les molécules sont ainsi séparées en fonction du temps. C'est ce que l'on appelle le temps de rétention. Le temps de rétention est reproductible pour une molécule donnée. Dans le cas de l'hydroxyurée, le temps de rétention est de 11 minutes.

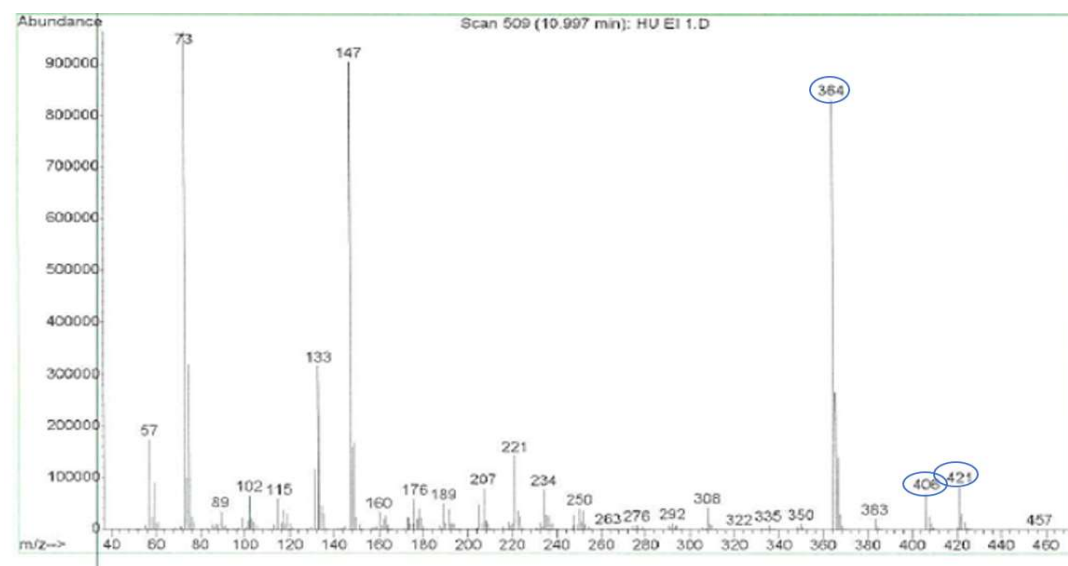


**Figure 4 - Chromatogramme de l'Hydroxy Urée 13C 15N2, Dr Richard**

#### 4.5) Spectrométrie de masse : qualification et quantification

Les molécules subissent ici une étape d'ionisation électronique. Elles sont fragmentées et ionisées par un faisceau d'électrons de haute énergie (70 eV). La fragmentation est répétable et reproductible pour une même molécule. Chaque fragment de molécule est séparé par un analyseur (quadripôle) en fonction de sa masse et de sa charge (rapport  $m/z$ ), et conduit au niveau du détecteur. Le détecteur permet la transformation des ions en courant électrique, l'intensité du courant étant directement proportionnelle au nombre d'ions reçus. L'ensemble de

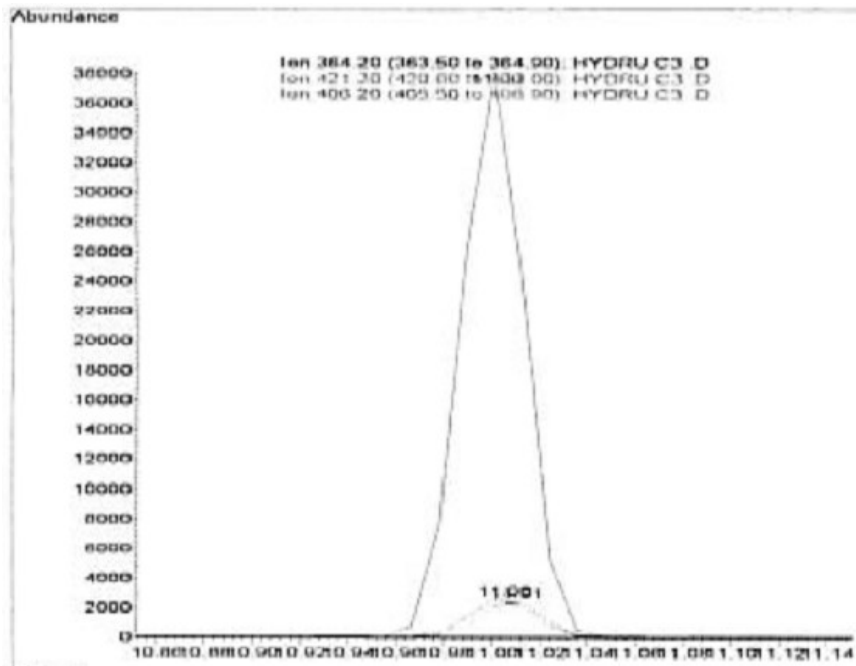
ces données est combiné par le logiciel ChemStation (HP Agilent), permettant d'obtenir un résultat sous forme de spectre de masse.



**Figure 5 : Spectre de masse de l'Hydroxy Urée 13C 15N2, Dr Richard**

La dernière étape est celle de la quantification de l'Hydroxy Urée dans chacun des échantillons. A partir du spectre de masse de l'Hydroxy Urée 13C 15N2, 3 ions sont sélectionnés, 1 ion de quantification et 2 ions de confirmation. Ces 3 fragments sont spécifiques de la molécule et correspondent aux ions ayant le rapport m/z le plus intense.

A l'aide d'une courbe de calibration, nous obtenons ainsi, pour chaque temps de prélèvement, la concentration en Hydroxy Urée par la mesure de l'aire sous la courbe du pic chromatographique. La mesure simultanée de l'étalon interne, l'Hydroxy Urée 13C 15N2, permet d'apporter une plus grande robustesse (répétabilité et fidélité intermédiaire) dans l'analyse.



**Figure 6 : Pic chromatographique de l'Hydroxy Urée 13C 15N2, Dr Richard**

#### 4.6) Validité des résultats

La limite du résultat inférieur est égale à la limite de quantification validée dans le laboratoire, soit 0,05 mg/L. La limite du résultat supérieur est égale à 100 mg/L, correspondant au dernier point de contrôle sur la droite d'étalonnage.

## 5) Recueil de données

Pour chaque patient, nous avons relevé les données suivantes :

- Cliniques

- Age
- Sexe
- Type d'hémoglobinopathie
- Poids et taille
- Indice de masse corporelle

- Biologiques

- Taux de globules blancs
- Taux de polynucléaires neutrophiles
- Taux de lymphocytes
- Taux de monocytes
- Taux d'hémoglobine
- Volume globulaire moyen
- Taux de réticulocytes
- Taux de plaquettes
- Taux d'hémoglobine fœtale
- Marqueurs d'hémolyse : LDH, bilirubine totale, haptoglobine
- Créatininémie
- Cystatine C
- Bilan hépatique : ASAT, ALAT, GGT, PAL

Les données biologiques correspondaient au bilan sanguin réalisé le jour des analyses pharmacologiques, lors du prélèvement t0 avant la prise du traitement.

Les données érythrocytaires (Hb, VGM, réticulocytes) des patients en programme d'échange transfusionnel ont été exclues de l'analyse. L'HbF de ces patients a été estimée par la formule  $HbF/(HbF+HbS)$  pour éliminer mathématiquement l'HbA exogène transfusée.

- Pharmacologiques

- Date d'introduction de l'hydroxycarbamide
- Posologie d'introduction de l'hydroxycarbamide
- Posologie actuelle de l'hydroxycarbamide
- Cinétique de l'hydroxycarbamide avec détermination d'une AUC
- Lieu de réalisation de la cinétique

## 6) Critères de jugement

Les critères clinico-biologiques de réponse à l'hydroxycarbamide étaient les suivants :

- Marqueurs d'efficacité : hausse du taux d'hémoglobine et d'hémoglobine fœtale, hausse du volume globulaire moyen, baisse du taux de réticulocytes et du rapport réticulocytes/hémoglobine, baisse du taux de LDH et de bilirubine, diminution du nombre de CVO et du nombre de jours d'hospitalisation dans l'année précédant la cinétique
- Marqueurs de myélosuppression : baisse du taux de globules blancs totaux, de polynucléaires neutrophiles, de lymphocytes, de monocytes et de plaquettes

## 7) Considérations statistiques

Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel R 4.0.3 (R Foundation for Statistical Computing, Vienne, Autriche). Les descriptions sont données en nombre (N) et pourcentage (%) pour les variables qualitatives, en moyenne et écart type (SD) ou médiane et intervalle interquartile pour les variables quantitatives selon leurs distributions (gaussienne ou non). Les comparaisons selon les critères binaires (par exemple, AUC inférieure ou supérieure à 115 mg/L/h) ont été réalisées à l'aide du test du Chi<sup>2</sup> ou du test exact de Fisher (selon l'effectif) pour les variables qualitatives et à l'aide des tests de Student ou de Wilcoxon (selon distribution) pour les variables quantitatives.

L'explication des paramètres cliniques et biologiques par la posologie ou l'AUC a été analysée par un modèle linéaire mixte du fait que les données soient répétées (plusieurs données pour un même patient). Les modèles linéaires mixtes permettent de prendre en compte la corrélation des mesures au sein d'un même patient. Le patient était donc considéré comme un effet aléatoire dans le modèle. Sur le critère de l'AIC il a été déterminé si la posologie ou l'AUC expliquait le mieux le paramètre étudié.

Tous les tests statistiques étaient bilatéraux pour un risque d'erreur de première espèce de 5%. Aucune analyse intermédiaire n'a été réalisée.

## 8) Ethique

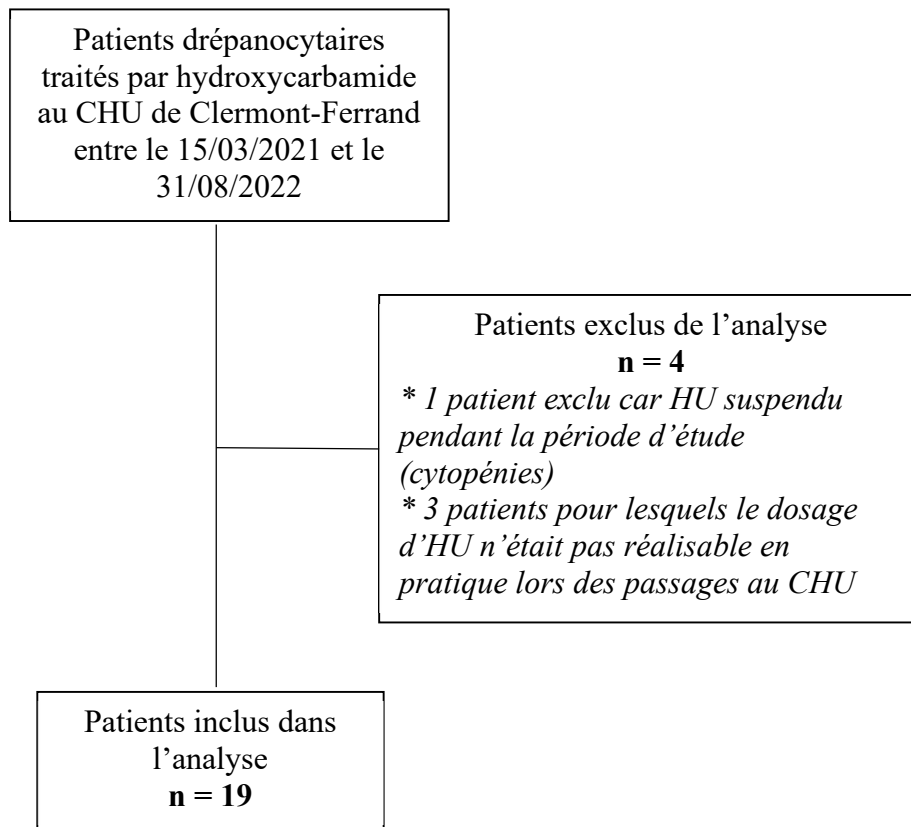
Tous les parents des enfants inclus dans cette étude ont donné leur consentement oral pour la réalisation des cinétiques d'hydroxycarbamide.



## RESULTATS

### 1) Population d'étude

Pendant notre période d'étude, 23 patients drépanocytaires recevaient un traitement par hydroxycarbamide. Parmi eux, 19 patients (83%), ont bénéficié de dosages pharmacologiques (**Figure 7**). Tous étaient drépanocytaires SS. Pour certains patients, plusieurs cinétiques d'HU ont été réalisées, soit un total de 29 cinétiques et 124 échantillons techniques au laboratoire de pharmacologie pendant les 18 mois de l'étude. Sur les 29 cinétiques réalisées, 9 ont été faites en hospitalisation complète lors de complications aiguës, 15 en hôpital de jour lors de bilans annuels et 5 à l'occasion de séances d'érythraphèse.



**Figure 7 - Diagramme de flux des patients inclus dans l'étude**

**Tableau I - Caractéristiques générales des patients à l'inclusion**

<b>Caractéristiques</b>	<b>Total (19)</b>	<b>AUC &lt; 115 mg/L/h (8)</b>	<b>AUC &gt; 115 mg/L/h (11)</b>	<b>p-value</b>
Sexe masculin	10 (52,6%)	3 (37,5%)	7 (63,6%)	0.370
Age	9,7 (9,12 ; 2,0-21,6)	9,6 (9,9 ; 2,0-21,6)	9,7 (8,3 ; 3,8-19,3)	1.000
Globules blancs (G/L)	9,0 (9,87 ; 2,8-15,2)	10,6 (10,2 ; 8,2-15,0)	7,9 (6,3 ; 2,8-15,2)	0.238
Polynucléaires neutrophiles (G/L)	4,0 (3,8 ; 0,6-8,2)	4,7 (5,0 ; 3,2-5,8)	3,5 (2,9 ; 0,6-8,2)	0.076
Hémoglobine (g/dL)*	8,7 (8,5 ; 6,7-11,5)	8,9 (8,5 ; 7,9-11,5)	8,5 (8,5 ; 6,7-10,3)	0.649
VGM (fL)*	83,1 (85,4 ; 50,5-105,3)	84,6 (85,7 ; 75,1-95,4)	82,0 (85,4 ; 50,5-105,3)	0.967
Réticulocytes (G/L)*	211 (182 ; 39-468)	293 (276 ; 151-468)	152 (144 ; 39-428)	<b>0.016</b>
Réticulocytes/Hb (G/L/Hb)	20,9 (15,9 ; 3,2-57,8)	29,1 (27,4 ; 3,9-57,8)	15,0 (8,9 ; 3,2-51,6)	0.109
Plaquettes (G/L)	289 (271 ; 91-508)	326 (320 ; 187-508)	263 (240 ; 91-479)	0.206
Hémoglobine fœtale (%)**	13,1 (8,7 ; 1,4-41,2)	14,2 (14,8 ; 2,7-23,5)	12,3 (6,5 ; 1,4-41,2)	0.492
LDH (UI/L)	389 (371 ; 244-571)	416 (425,5 ; 256-531)	354 (325 ; 244-571)	0.312
Haptoglobine (g/L)	0,2 (0,1 ; 0,1-1)	0,2 (0,1 ; 0,1-0,6)	0,2 (0,1 ; 0,1-1)	0.951
Bilirubine totale (µmol/L)	24,8 (22 ; 9-55)	27,9 (25,5 ; 10-55)	22,1 (22 ; 9-46)	0.630
DFG (mL/min)***	189 (170 ; 48-415)	207 (215 ; 134-278)	175 (153 ; 48-415)	0.206
Nombre de CVO dans l'année précédant l'inclusion	1,6 (0 ; 0-8)	2,8 (1 ; 0-8)	0,8 (0 ; 0-6)	0.129
Nombre de jours d'hospitalisations dans l'année	14,6 (5 ; 0-72)	17,9 (21 ; 2-36)	12,3 (0 ; 0-72)	0.100
Age d'introduction d'hydroxycarbamide (années)	6,5 (6,0 ; 1-16,3)	6,2 (6,5 ; 1-12,5)	6,8 (6,0 ; 1,3-16,3)	0.762
Posologie d'introduction d'hydroxycarbamide (mg/kg/j)	15,5 (15 ; 9,8-20,7)	13,5 (13,7 ; 9,8-16,7)	16,9 (18,2 ; 10,1-20,7)	<b>0.022</b>
Posologie d'hydroxycarbamide à l'inclusion (mg/kg/j)	16,2 (15,9 ; 6,4-32,9)	13,3 (11,4 ; 6,4-29,4)	18,3 (18,8 ; 9,4-32,9)	<b>0.029</b>
Durée de traitement depuis l'initiation (mois)	28,7 (25,5 ; 11,7-111,1)	28,7 (37,1 ; 11,7-94,9)	25,8 (41,8 ; 11,7-111,1)	0.894

VGM = volume globulaire moyen ; LDH = lactate déshydrogénase ; DFG = débit de filtration glomérulaire ; CVO = crise vaso-occlusive

\*Les données érythrocytaires des 3 patients en programme d'échange transfusionnel ont été exclues de l'analyse  
 \*\*L'HbF des 3 patients en programme d'échange transfusionnel a été estimée par la formule HbF/(HbF+HbS) pour éliminer mathématiquement l'HbA exogène transfusée.

\*\*\*Le DFG a été calculé par la formule de Schwartz.

Les données sont présentées sous forme d'effectifs (pourcentages) ou de médiane (moyenne ; valeurs extrêmes).

Le **Tableau I** regroupe les caractéristiques des patients collectées lors de l'inclusion. Les patients ont été séparés en fonction du résultat d'AUC obtenue à l'issue de la première cinétique d'hydroxycarbamide (groupes AUC < 115 mg/L/h et AUC > 115 mg/L/h). Une association statistique est observée entre les patients présentant une AUC > 115 mg/L/h et le taux de réticulocytes, significativement plus bas dans ce groupe ( $p = 0.016$ ). La posologie d'introduction de l'hydroxycarbamide et la posologie au moment de la cinétique étaient significativement plus élevées dans le groupe AUC > 115 mg/L/h ( $p = 0.022$  et  $p = 0.029$ ). Par ailleurs, les données cliniques étaient en faveur d'une moindre incidence de CVO dans l'année précédant la cinétique et d'un nombre de jours d'hospitalisations réduit dans le groupe AUC > 115 mg/L/h mais la différence n'était pas significative.

## 2) Corrélation entre AUC et paramètres clinico-biologiques de réponse au traitement

Le **Tableau II** présente la relation statistique entre l'AUC et les différents paramètres de réponse à l'hydroxycarbamide. Ces données ont été établies à partir des 29 cinétiques réalisées chez les 19 patients de l'étude. Chacun des paramètres cliniques et biologiques était recueilli le jour de la réalisation des dosages pharmacologiques. Pour mémoire, les données érythrocytaires correspondant aux 5 cinétiques réalisées chez les patients en programme d'échange transfusionnel ont été exclues de l'analyse.

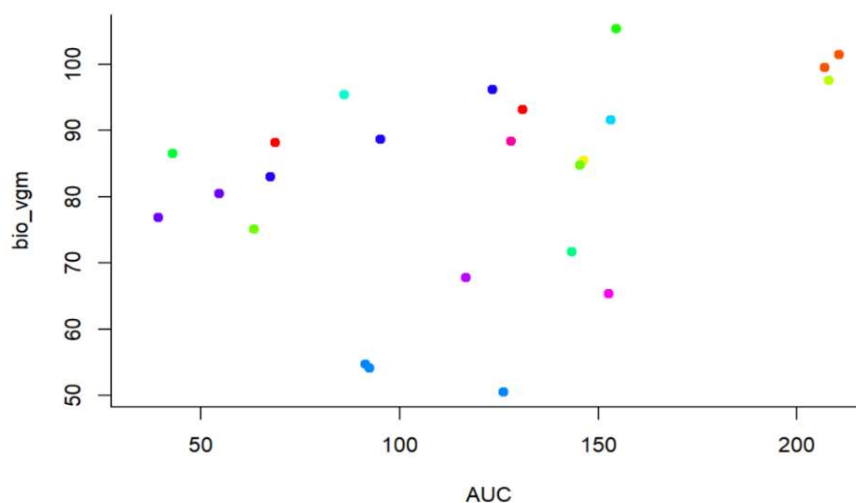
Nous avons observé une association statistique entre l'AUC et plusieurs paramètres clinico-biologiques. Ainsi, plus l'AUC était élevée, plus le VGM était haut ( $p = 0.007$ ). Parallèlement, une AUC haute était associée à une baisse des réticulocytes ( $p = 0.024$ ), du rapport réticulocytes/Hb ( $p = 0.007$ ), de la bilirubine ( $p = 0.009$ ), des globules blancs ( $p = 0.008$ ) et des monocytes ( $0.002$ ). Il n'y avait pas de corrélation significative entre l'AUC et les autres paramètres clinico-biologiques étudiés.

**Tableau II – Etude de la corrélation entre l’AUC et les marqueurs de réponse clinico-biologique à l’hydroxycarbamide**

Caractéristiques clinico-biologiques	p-value
<b>Marqueurs d’efficacité</b>	
HbF	0.110
VGM	<b>0.007</b>
Hb	0.771
Réticulocytes	<b>0.024</b>
Rapport réticulocytes/Hb	<b>0.007</b>
LDH	0.083
Bilirubine	<b>0.009</b>
Nombre de CVO dans l’année précédente	0.181
Nombre de jours d’hospitalisation dans l’année précédente	0.820
<b>Marqueurs de myélosuppression</b>	
GB	<b>0.008</b>
PNN	0.095
Lymphocytes	0.065
Monocytes	<b>0.002</b>
Plaquettes	0.938

HbF = hémoglobine fœtale ; VGM = volume globulaire moyen ; Hb = hémoglobine ; GB = globules blancs ; LDH = lactate déshydrogénase ; CVO = crise vaso-occlusive ; PNN = polynucléaires neutrophiles

La **Figure 8** illustre la relation entre l’AUC et le VGM pour 24 cinétiques réalisées au cours de l’étude (exclusion des cinétiques faites lors de séances d’érythraphèse). Nous observons une relation linéaire entre ces deux paramètres, avec toutefois quelques valeurs aberrantes.



**Figure 8 – Corrélation entre AUC (mg/L/h) et VGM (fL)**

### 3) Corrélation entre posologie et paramètres clinico-biologiques de réponse au traitement

Le **Tableau III** présente la relation entre la posologie journalière d'hydroxycarbamide, exprimée en mg/kg/j, et les marqueurs de réponse au traitement. De la même façon que pour l'AUC, ces données ont été établies à partir des 29 cinétiques réalisées.

Nous notons une association statistiquement significative entre la posologie et un taux plus élevé de VGM ( $p = 0.012$ ). Les taux de LDH ( $p = 0.021$ ), de globules blancs ( $p = 0.009$ ), de lymphocytes ( $p = 0.004$ ), de monocytes ( $p = 0.001$ ) étaient d'autant plus bas que l'AUC était élevée.

**Tableau III – Etude de la corrélation entre la posologie et les marqueurs de réponse clinico-biologique à l'hydroxycarbamide**

Caractéristiques clinico-biologiques	p-value
<b>Marqueurs d'efficacité</b>	
HbF	0.053
VGM	<b>0.008</b>
Hb	0.790
Réticulocytes	0.590
Rapport réticulocytes/Hb	0.514
LDH	<b>0.021</b>
Bilirubine	0.080
Nombre de CVO dans l'année précédente	0.935
Nombre de jours d'hospitalisation dans l'année précédente	0.802
<b>Marqueurs de myélosuppression</b>	
GB	<b>0.009</b>
PNN	0.215
Lymphocytes	<b>0.004</b>
Monocytes	<b>0.001</b>
Plaquettes	0.333

HbF = hémoglobine fœtale ; VGM = volume globulaire moyen ; Hb = hémoglobine ; GB = globules blancs ; LDH = lactate déshydrogénase ; CVO = crise vaso-occlusive ; PNN = polynucléaires neutrophiles

4) Qui de l'AUC ou de la posologie est le meilleur prédicteur d'efficacité et de toxicité ?

Les analyses statistiques nous ont permis d'analyser quel marqueur, entre l'AUC et la posologie, était le plus étroitement lié à chacune des variables étudiées. Ces informations sont illustrées dans le **Tableau IV**. Nous observons que la posologie semblait mieux corrélée aux marqueurs de toxicité du traitement que l'AUC. La répartition était plus équilibrée concernant les marqueurs d'efficacité de l'hydroxycarbamide.

**Tableau IV – Etude du meilleur prédicteur d'efficacité et de toxicité de l'hydroxycarbamide entre l'AUC et la posologie**

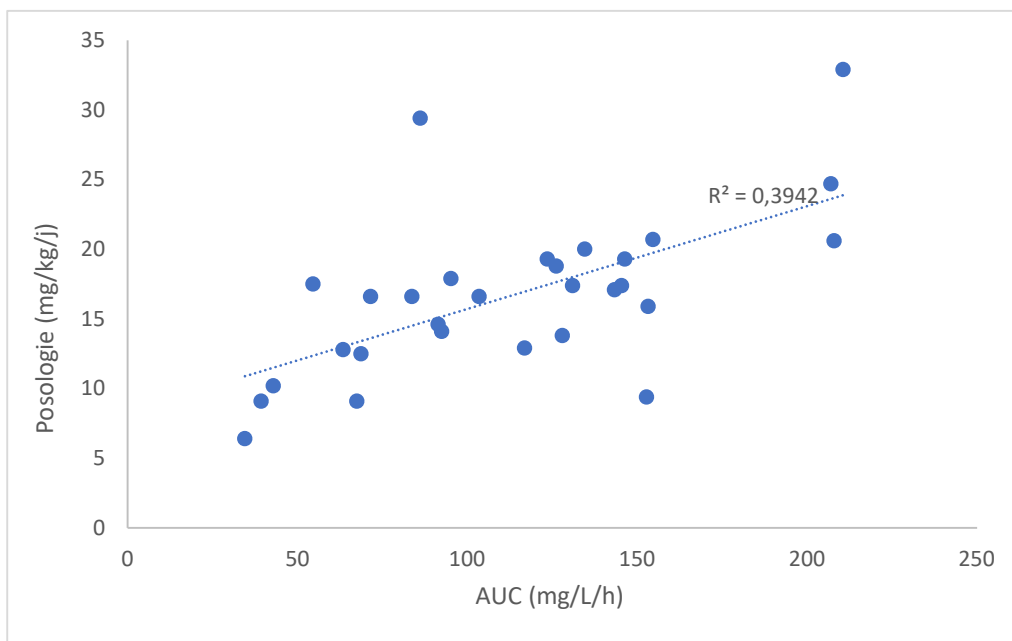
Caractéristiques clinico-biologiques	Meilleur prédicteur
<b>Marqueurs d'efficacité</b>	
HbF	Posologie
VGM	Posologie
Hb	AUC
Réticulocytes	AUC
Rapport réticulocytes/Hb	AUC
LDH	Posologie
Bilirubine	Posologie
Nombre de CVO dans l'année précédente	AUC
Nombre de jours d'hospitalisation dans l'année précédente	Posologie
<b>Marqueurs de myélosuppression</b>	
GB	Posologie
PNN	Posologie
Lymphocytes	Posologie
Monocytes	Posologie
Plaquettes	Posologie

HbF = hémoglobine fœtale ; VGM = volume globulaire moyen ; Hb = hémoglobine ; GB = globules blancs ; LDH = lactate déshydrogénase ; CVO = crise vaso-occlusive ; PNN = polynucléaires neutrophiles

## 5) Corrélation entre AUC et posologie

La **Figure 9** présente la relation entre l'AUC et la posologie. Il existe une association significative entre ces deux variables ( $p < 0.001$ ).

Malgré cela, nous constatons que de nombreux points sont très écartés de la droite de régression linéaire. Le coefficient de détermination était à 0.394.



**Figure 9 – Corrélation entre AUC et posologie**

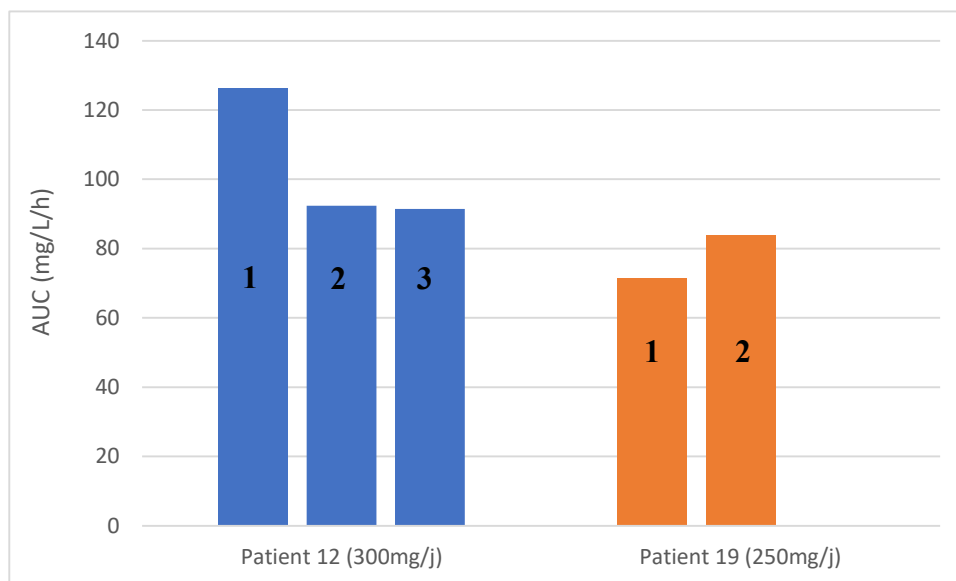
## 6) Analyse des patients ayant eu plusieurs cinétiques

### 6.1) Cinétiques à posologie fixe

Au cours de notre étude, deux patients ont bénéficié de dosages pharmacologiques répétés à posologie fixe (**Figure 10**).

Le patient 12 avait une posologie journalière de 300 mg/j. Rapportée au poids, la posologie était de 18,8 mg/kg/j pour la cinétique n°1, 14,1 mg/kg/j pour la cinétique n°2 et 14,5 mg/kg/j pour la cinétique n°3.

Le patient 19 avait une posologie journalière de 250 mg/j, soit 16,6 mg/kg/j pour les cinétiques n°1 et n°2.



**Figure 10 – Cinétiques répétées à la même posologie chez deux patients**



## 6.1) Cinétiques à différentes posologies chez un même patient

Pendant la période d'étude, 6 patients ont bénéficié d'adaptations posologiques guidées par la pharmacologie. Parmi eux, 5 patients ont eu une augmentation de dose (deux augmentations pour le Patient 14 sur la période d'étude), et 1 patient (Patient 2) a vu sa posologie diminuer. Le délai moyen entre les cinétiques était de 5,3 mois ; le délai moyen entre le changement de posologie et la nouvelle cinétique était de 1,6 mois. Le **Tableau V** décrit les posologies, les AUC et les données biologiques des patients avant et après adaptation de dose.

Nous avons observé que l'augmentation de posologie était systématiquement associée à une hausse de l'AUC (et inversement dans le cas du Patient 2), bien que la relation ne soit pas parfaitement linéaire entre ces deux paramètres. Concernant les marqueurs d'efficacité du traitement, le taux d'HbF a été sensible à l'augmentation d'AUC (+ 41% en moyenne) tandis que l'Hb et le VGM ont été faiblement modifiés (+ 3% en moyenne pour l'Hb ; 6,5% en moyenne pour le VGM). L'interprétation du taux de LDH est variable d'un patient à l'autre, il a été abaissé chez 2 patients, et peu modifié chez les autres patients.

**Tableau V – Caractéristiques des patients avant et après adaptation posologique**

	Patient 1			Patient 2			Patient 3			Patient 6			Patient 14			Patient 15		
	Pré	Post	%	Pré	Post	%	Pré	Post	%	Pré	Post	%	Pré	Post	%	Pré	Post	%
<b>Posologie</b> (mg/kg/j)	12,5	17,4	+39	32,9	24,7	-25	6,4	16,6	+159	12,8	17,4	+36	9,1 17,9	17,9 19,3	+97 +8	9,1	17,5	+92
<b>AUC</b> (mg/L/h)	68,7	131	+91	210,6	207	-2	34,5	103,5	+200	63,4	145,4	+129	67,5 95,2	95,2 123,5	+141 +30	39,3	54,6	+139
<b>HbF</b> (%)	17,6	21,2	+20	41,2	39,2	-5	8,7	9,7	+11	2,7	6,7	+148	21,4 22	22 NE	+3 NE	22,3	27,4	+23
<b>VGM</b> (fL)	88,2	93,1	+6	101,4	99,5	-2	86,5	86,3	+0	75,1	84,8	+13	83 88,6	88,7 96,2	+7 +8	76,9	80,5	+5
<b>Hb</b> (g/dL)	8,1	8,7	+7	7,7	7,6	-1	8,1	8,2	+1	8,9	8,1	-9	9,5 11,1	11,1 11,9	+17 +7	11,5	11,2	-3
<b>LDH</b> (UI/L)	529	365	-31	325	315	-3	531	491	-8	416	441	+6	351	NE	NE	371	305	-18

AUC = aire sous la courbe ; HbF = hémoglobine fœtale ; VGM = volume globulaire moyen ; Hb = hémoglobine ; LDH = lactate déshydrogénase ; NE = non évaluable

Pour chaque patient, les données sont reportées en trois colonnes qui représentent les caractéristiques avant, puis après modification posologique, avec la différence relative exprimée en pourcentages.

## DISCUSSION

Cette étude avait pour objectif d'évaluer la place de la pharmacocinétique de l'hydroxycarbamide dans la prise en charge des enfants drépanocytaires. Il existe encore peu de données de la littérature sur le sujet. Pourtant, avec l'avènement du concept de « médecine personnalisée », le suivi thérapeutique pharmacologique semble particulièrement intéressant, surtout au sein de la population pédiatrique caractérisée par sa grande hétérogénéité.

La technique de dosage de l'hydroxycarbamide est encore peu développée en France. L'équipe du Dr Hulin du CHU de Créteil (APHP) a été pionnière dans le domaine avec des travaux publiés depuis 2006. Dans ces études, les concentrations d'hydroxycarbamide dans le plasma et l'urine étaient initialement déterminées par chromatographie liquide haute performance (HPLC) (20). Depuis, la technique de dosage a été affinée avec le développement d'une méthode d'analyse par HPLC couplée à une détection ultra-violet (21). Plus récemment, le dosage de l'hydroxycarbamide a vu le jour au CHU de Clermont-Ferrand avec la mise au point d'une technique de GC-MS développée au sein du service de Pharmacologie. Des échantillons biologiques ont été échangés entre ces deux centres pour permettre une validation croisée des résultats. Ces échanges sont d'autant plus importants qu'il existe à ce jour peu de données pédiatriques sur la pharmacocinétique de l'hydroxycarbamide.

L'effectif de notre étude était limité, avec 19 patients inclus, mais ceux-ci représentaient près de l'intégralité des enfants traités par hydroxycarbamide au CHU de Clermont-Ferrand. Les dosages étaient réalisés dans le respect du planning de suivi habituel des patients, permettant de limiter au maximum le nombre de prélèvements sanguins pour la réalisation des cinétiques. Les prélèvements étaient faits à l'occasion d'hospitalisations complètes dans le

cadre de complications aiguës, d'hôpitaux de jour ou de séances d'érythrophérèse. Ces différences dans les conditions d'analyse peuvent induire un biais dans l'interprétation des résultats pharmacologiques. Effectivement, l'hydroxycarbamide est une molécule hydrosoluble avec un volume de distribution comparable au volume du compartiment hydrique total (22). Sa concentration plasmatique est ainsi influencée par les modifications du compartiment aqueux. Nous pouvons imaginer que les cinétiques faites lors de complications aiguës, en dehors des conditions d'homéostasie habituelles, ne reflétaient pas parfaitement l'exposition au traitement. Dans l'avenir, nous envisageons de standardiser les conditions d'analyses pharmacologiques, en privilégiant les cinétiques faites en hôpital de jour, notamment lors de bilans annuels, à distance de toute complication.

Dans notre travail, l'AUC cible était fixée à 115 mg/L/h. Cette cible correspondait à l'AUC médiane obtenue chez 63 patients dans l'étude de Dong et al. (18). Cette donnée avait déjà été retrouvée dans l'essai de de Montalembert et al. en 2006, où l'AUC médiane des 11 enfants inclus dans l'étude était de 115 mg/L/h à la dose maximale tolérée (20). Enfin, l'équipe de Estep et al. (23) trouvait des résultats concordants avec une AUC médiane de 107 mg/L/h chez 52 enfants traités par hydroxyurée depuis plus de 3 mois, sans que les critères de dose maximale tolérée n'aient été clairement énoncés. Dans ce travail, nous avons comparé les patients selon leur AUC : supérieure ou inférieure à 115 mg/L/h. Les différences dans les critères de réponse au traitement n'étaient significatives que pour le taux de réticulocytes, plus bas dans le groupe AUC > 115 mg/L/h. Ces données peuvent en partie s'expliquer par notre faible effectif, nécessitant une taille d'effet d'autant plus importante pour mettre en évidence une différence significative. Néanmoins, il convient de rester prudent car il n'existe pas, à ce jour, de recommandations établies sur l'AUC cible chez les enfants drépanocytaires. De même, les travaux précédemment énoncés (18,20,23) n'incluaient pas d'enfants âgés de moins de 2

ans, rendant hasardeux le choix d'une cible à 115 mg/L/h dans cette population, caractérisée par des fonctions rénale et hépatique encore immatures (24). L'accumulation de données pharmacologiques chez des patients ayant atteint leur dose maximale tolérée est nécessaire pour valider une cible d'AUC adaptée à notre population, et à chaque catégorie d'âge.

Notre travail a étudié la corrélation entre l'AUC et les différents marqueurs de réponse biologique au traitement. Nous n'avons pas mis en évidence de corrélation entre l'AUC et l'HbF ( $p = 0.110$ ). Bien que l'hémoglobine foetale soit un des principaux marqueurs d'efficacité de l'hydroxycarbamide, sa grande variabilité interindividuelle est bien connue (13,15,17). Cette variabilité est en partie expliquée par l'existence de polymorphismes génétiques dans la régulation du métabolisme de l'hydroxycarbamide, l'expression de l'HbF et la prolifération des progéniteurs érythroïdes (25). Dans notre groupe AUC > 115 mg/L/h, les valeurs extrêmes d'HbF étaient de 1,4% à 41,2% et la médiane d'HbF était inférieure à celle retrouvée dans le groupe AUC < 115 mg/L/h. Des données similaires ont été rapportées dans l'étude de Ribeiro et al. (26), où les enfants sans traitement d'intensification avaient un taux d'HbF plus haut que les enfants traités. Outre la variabilité interindividuelle, les travaux de Paule et al. (27) ont permis, grâce à un suivi prospectif de patients sur 30 mois, de mettre en évidence que l'état d'équilibre de l'HbF était seulement atteint après 26 mois de traitement. Dans notre cohorte, près de la moitié des patients étaient traités depuis moins de 26 mois. Le suivi pharmacologique de ces patients dans les mois et années à venir permettra peut-être de réajuster les données concernant l'HbF.

Nous avons observé une corrélation significative entre AUC et VGM ( $p = 0.007$ ). Contrairement à ce qu'il a été démontré pour l'HbF, l'état d'équilibre du VGM sous hydroxyurée est atteint rapidement, en 3 mois environ (27). Ce temps correspond au délai nécessaire au renouvellement du pool érythrocytaire. Parallèlement à ces résultats, le taux

médian de VGM n'était pas plus élevé dans le groupe AUC > 115 mg/L/h que dans le groupe AUC < 115 mg/L/h. Nous expliquons ces résultats par l'importante prévalence du trait bêta-thalassémique dans le groupe > 115 mg/L/h (27%), responsable d'un VGM abaissé chez les 3 patients concernés.

Nous avons pu démontrer l'existence d'une forte corrélation entre AUC et marqueurs d'hémolyse. Il existait une relation significative entre l'AUC et la bilirubine ( $p = 0.009$ ), les réticulocytes ( $p = 0.024$ ) et le rapport réticulocytes/Hb ( $p = 0.007$ ), tandis la corrélation n'était pas significative pour le LDH et l'Hb. Le rapport réticulocytes/hémoglobine nous a paru intéressant à étudier car il est un indicateur de l'équilibre entre la diminution de l'hémolyse et la freination de la moelle osseuse. A taux d'hémoglobine stable, il reflète la part d'érythropoïèse inefficace, permettant seulement de compenser l'hémolyse. Un rapport réticulocytes/Hb bas signale une érythropoïèse équilibrée et efficace. Concernant l'Hb, bien que son augmentation soit considérée comme un marqueur majeur de réponse biologique à l'hydroxyurée (13,15), c'est une variable influencée par de nombreux paramètres. Les causes d'anémie sont nombreuses en population drépanocytaire (hémolyse, carence martiale, séquestrations spléniques aiguës et chroniques, crises aplasiques ...), ce qui rend difficile l'analyse du taux d'Hb. Cette analyse est d'autant plus complexe que plus d'un tiers de nos cinétiques ont été réalisées à l'occasion de complications aiguës, souvent associées à une baisse transitoire du taux d'Hb (12).

Concernant les marqueurs de myélosuppression, l'AUC était significativement corrélée à la baisse du taux de globules blancs ( $p = 0.008$ ) et de monocytes ( $p = 0.002$ ). Les lymphocytes et les monocytes sont très peu étudiés dans les études concernant l'hydroxycarbamide. Néanmoins, l'étude de ces variables nous a semblé intéressante car les travaux récents de Moreira et al. (28) ont démontré que les patients avec une forte adhérence à l'hydroxycarbamide avaient un taux significativement plus bas de lymphocytes et de monocytes que les patients

non-observants. Ces deux paramètres biologiques, bien que peu étudiés, pourraient donc être associés aux critères de réponse à l'hydroxyurée, au même titre que les polynucléaires neutrophiles, les plaquettes et les réticulocytes.

L'un des objectifs de l'étude était de déterminer si les critères de réponse à l'hydroxycarbamide étaient mieux corrélés à l'AUC ou à la posologie. L'AUC apparaissait comme un bon marqueur d'efficacité du traitement. En revanche, elle était moins bien corrélée aux marqueurs de myélosuppression que ne l'était la posologie.

Ces données sont intéressantes car elles peuvent être mises en parallèle avec les deux grands phénotypes drépanocytaires classiquement distingués : le phénotype « hémolytique », associé aux atteintes vasculaires, et le phénotype « vaso-occlusif » (29). L'hémolyse chronique est responsable d'une dysfonction endothéliale causée par la baisse de biodisponibilité du NO, consommé par l'hémoglobine libérée dans les vaisseaux. La baisse de NO entraîne une vasoconstriction et induit un état vasculaire pro-inflammatoire (30). Ce phénomène est responsable de lésions d'organes multiples, et notamment de lésions vasculaires cérébrales. En opposition, le phénotype vaso-occlusif, responsable d'ischémies tissulaires et de douleurs, est lié à l'hyperviscosité sanguine et à l'adhésion endothéliale des éléments figurés du sang. Le phénotype hémolytique est considéré comme plus sévère car associé à une mortalité augmentée. La forte corrélation entre l'AUC et la baisse de l'hémolyse suggère que l'utilisation de l'AUC comme cible thérapeutique pourrait être particulièrement intéressante pour les patients avec des complications vasculaires. Au contraire, chez les patients avec un phénotype vaso-occlusif, l'objectif d'atteindre la dose maximale tolérée, avec un seuil de myélosuppression maximal, semble être cohérent. De futures études incluant les patients selon leur phénotype, hémolytique ou vaso-occlusif, pourraient être intéressantes pour confirmer si l'AUC est une cible plus adaptée que la posologie chez les patients avec complications vasculaires.

Ce travail a permis d'étudier le lien entre l'AUC et la posologie. Nous avons mis en évidence une corrélation significative entre ces deux marqueurs ( $p < 0.001$ ). Toutefois, nous avons aussi relevé d'importantes variabilités interindividuelles. Certains patients présentaient une grande dissociation entre leur posologie quotidienne d'hydroxyurée et l'exposition systémique au traitement. Cette observation était attendue puisqu'elle est à la base des difficultés rencontrées dans l'adaptation posologique des enfants drépanocytaires. A même posologie, l'exposition systémique varie énormément d'un patient à l'autre. Ceci a été démontrée dans l'essai HUSTLE (15) avec notamment la mise en évidence de phénotypes d'absorption lents et rapides de l'hydroxyurée. Les patients avec profil d'absorption rapide ont une concentration maximale plus haute et une durée de vie dans l'organisme plus courte. Les auteurs n'ont pas identifié de facteurs prédictifs permettant de connaître à priori le profil d'absorption des patients. Il pourrait être intéressant de mener une étude s'intéressant spécifiquement aux patients ayant de grandes dissociations entre AUC et posologie pour étudier leurs paramètres clinico-biologique de réponse et de toxicité au traitement.

Seuls deux patients ont bénéficié de plusieurs cinétiques à dose fixe d'hydroxycarbamide. Ce très petit effectif ne permet pas de se prononcer quant à la reproductibilité des dosages pharmacologiques, bien que les cinétiques soient très voisines chez ces deux patients. C'est un paramètre qu'il pourrait être intéressant d'étudier sur un plus grand nombre de patient.

Pendant les 18 mois de l'étude, 6 patients ont eu des adaptations thérapeutiques suivies de dosages pharmacologiques. Nous avons pu observer que l'augmentation ou la baisse de posologie faisaient varier l'AUC dans le même sens. De même, les marqueurs d'efficacité étaient meilleurs après l'adaptation. A l'heure actuelle, nous ne disposons pas de modèle pharmacocinétique de population comme celui proposé par Dong et al. (18). Un tel modèle nous



permettrait de proposer une posologie individualisée visant d'emblée l'AUC cible. L'accumulation de données pharmacocinétiques en population pédiatrique et la mise en évidence de l'apport du suivi thérapeutique personnalisé pourrait permettre de développer ce modèle au CHU de Clermont-Ferrand. En attendant, il serait intéressant de standardiser les conditions d'adaptation posologique guidée par la pharmacologie. Après exclusion des critères de mauvaise tolérance clinico-biologique, un protocole d'adaptation basé sur l'AUC initiale pourrait être proposé. Nous suggérons l'adaptation posologique suivante : AUC < 50mg/L/h : + 10mg/kg/j ; AUC entre 50 et 100mg/L/h : + 7,5mg/kg/h ; AUC entre 100 et 115mg/L/h : + 5 mg/kg/j ; AUC > 115mg/L/h : pas d'augmentation posologique systématique. De même, il semble nécessaire de définir un délai entre l'adaptation posologique et l'évaluation des critères de réponse au traitement post-adaptation. Les travaux de Paule et al. (27) ont en effet démontré que l'état d'équilibre pharmacocinétique de l'hydroxyurée était atteint en 35 jours environ. Dans notre travail, le délai moyen entre l'adaptation de dose et la seconde cinétique était seulement de 1,6 mois, ce qui est insuffisant, au regard de la durée de vie des hématies, pour apprécier le plein effet de l'ajustement posologique sur les paramètres érythrocytaires.

Si l'efficacité et la sécurité à court et moyen terme de l'hydroxycarbamide sont établies depuis de nombreuses années, des questions demeurent quant à sa toxicité à long terme, en particulier lorsque le traitement est débuté dès le plus jeune âge, ce qui est de plus en plus recommandé (9,12). Les principales craintes portent sur la fertilité et la cancérogénicité. L'étude ESCORT-HU publiée en 2021 fournit des données rassurantes concernant ces deux paramètres bien que les auteurs concluent à la nécessité d'études prospectives à long terme et à grande échelle pour statuer définitivement sur la tolérance à long terme de l'hydroxyurée (31). A l'heure actuelle, la recommandation dans l'utilisation de l'hydroxycarbamide est d'atteindre la dose maximale tolérée (13,12,22). Néanmoins, ces travaux sur la pharmacocinétique de

l'hydroxycarbamide permettent d'envisager une nouvelle manière d'aborder l'adaptation posologique des patients. Si la cible retenue d'AUC est de 115 mg/L/h, nous pouvons imaginer que pour les patients ayant atteint une exposition systémique  $> 115$  mg/L/h, la posologie ne devrait pas être augmentée de façon systématique. Les dosages pharmacologiques pourraient aider à déterminer la dose minimale efficace pour chaque patient.

Cette étude observationnelle nous a apporté des éléments de réponse quant au recours à la pharmacocinétique de l'hydroxycarbamide. Confrontée à l'ensemble des éléments clinico-biologiques relatifs aux patients, elle semble pouvoir apporter une aide dans l'adaptation posologique des enfants drépanocytaires. Au CHU de Clermont-Ferrand, les dosages pharmacocinétiques participent désormais à la prise en charge globale des patients. A la fin de notre période d'étude, 6 patients avaient une AUC  $< 115$  mg/L/h. Des dosages pharmacologiques sont déjà prévus pour ces patients lors des prochains bilans annuels, en hôpital de jour.

## CONCLUSION

Ce travail a évalué l'apport de la pharmacocinétique dans la prise en charge des enfants drépanocytaires. Peu de laboratoires français disposent de la technique de dosage de l'hydroxycarbamide, ce qui complique son utilité en pratique courante.

Notre étude retrouvait une association significative entre l'AUC et de nombreux paramètres biologiques tels que les globules blancs, les monocytes, les réticulocytes, le VGM et la bilirubine. L'AUC était plus finement corrélée à l'Hb et aux réticulocytes que ne l'était la posologie. Néanmoins, la posologie semblait être un meilleur prédicteur des autres paramètres clinico-biologiques étudiés.

La place des dosages pharmacologiques reste encore à préciser. Une étude prospective de plus grande ampleur, visant à comparer les caractéristiques clinico-biologiques de patients traités jusqu'à la dose maximale tolérée à celles de patients traités jusqu'à une AUC cible pourrait être proposée.

Le Doyen de l'UFR de Médecine,  
Pr Pierre CLAVELOU

La Présidente du Jury,  
Pr Justyna KANOLD



A handwritten signature in blue ink, appearing to read "J. Kanold", is written in a cursive style.

## ANNEXES

### Annexe I : Feuille de prescription pour la cinétique d'hydroxycarbamide

**FEUILLE DE PRESCRIPTION POUR LA  
CINETIQUE D'HYDROXYCARBAMIDE (SIKLOS)**

Etiquette du patient

Poids du jour : .....

Taille du jour : .....

**Pré-requis indispensable** : les patients doivent se présenter avant la prise quotidienne du traitement

#### 1) Données médicales

Date d'introduction de l'hydroxycarbamide : .....

Posologie actuelle de l'hydroxycarbamide (mg) : .....

Observance thérapeutique déclarée par le patient : Parfaite    Bonne    Moyenne    Passable    Nulle

#### 2) Prélèvements

Aspects pratiques :

- **Tubes verts de microméthode sans gel**
- Volume sanguin nécessaire pour chaque analyse = **1mL**
- Bon de pharmacologie/toxicologie (**préciser le temps de prélèvement**)
- Prélèvements sur VVP possibles, à condition qu'aucun traitement ni perfusion ne passe sur la VVP

4 temps de prélèvements :

<b>T0</b> = Avant la prise du traitement	<b>T1</b> = A M20 de la prise	<b>T2</b> = A H1 de la prise	<b>T3</b> = A H3 de la prise
- Cinétique Siklos - NFS-plaquettes, formule sanguine, réticulocytes - Electrophorèse de l'Hb - LDH, bilirubine, haptoglobine - Ionogramme sanguin, urée, créatinine, DFG, cystatine C - ASAT, ALAT, GGT, PAL	- Cinétique Siklos	- Cinétique Siklos	- Cinétique Siklos

## BIBLIOGRAPHIE

1. Piel FB, Patil AP, Howes RE, Nyangiri OA, Gething PW, Dewi M, et al. Global epidemiology of sickle haemoglobin in neonates : a contemporary geostatistical model-based map and population estimates. *The Lancet*. janv 2013;381(9861):142-51.
2. Piel FB, Steinberg MH, Rees DC. Sickle Cell Disease. Longo DL, éditeur. *N Engl J Med*. 20 avr 2017;376(16):1561-73.
3. Rapports D'activités du Dépistage Néonatal. Centre National de Coordination de Dépistage Néonatal. Année 2020.
4. Rees DC, Williams TN, Gladwin MT. Sickle-cell disease. *The Lancet*. déc 2010;376(9757):2018-31.
5. Charache S, Terrin ML, Moore RD, Dover GJ, Barton FB, Eckert SV, et al. Effect of Hydroxyurea on the Frequency of Painful Crises in Sickle Cell Anemia. *N Engl J Med*. 18 mai 1995;332(20):1317-22.
6. Lobo CL de C, Pinto JFC, Nascimento EM, Moura PG, Cardoso GP, Hankins JS. The effect of hydroxycarbamide therapy on survival of children with sickle cell disease. *Br J Haematol*. juin 2013;161(6):852-60.
7. Zimmerman SA, Schultz WH, Davis JS, Pickens CV, Mortier NA, Howard TA, et al. Sustained long-term hematologic efficacy of hydroxyurea at maximum tolerated dose in children with sickle cell disease. *Blood*. 15 mars 2004;103(6):2039-45.
8. Kinney TR, Helms RW, O'Branski EE, Ohene-Frempong K, Wang W, Daeschner C, et al. Safety of hydroxyurea in children with sickle cell anemia: results of the HUG-KIDS study, a phase I/II trial. Pediatric Hydroxyurea Group. *Blood*. 1 sept 1999;94(5):1550-4.
9. Wang WC, Ware RE, Miller ST, Iyer RV, Casella JF, Minniti CP, et al. Hydroxycarbamide in very young children with sickle-cell anaemia: a multicentre, randomised, controlled trial (BABY HUG). *The Lancet*. mai 2011;377(9778):1663-72.
10. Comité de transparence du SIKLOS (hydroxycarbamide). Haute Autorité de Santé. 2011.
11. Protocole National de Diagnostic et de Soins. Prise en charge de la drépanocytose chez l'enfant et l'adolescent. Haute Autorité de Santé. 2014.
12. Yawn BP, Buchanan GR, Afenyi-Annan AN, Ballas SK, Hassell KL, James AH, et al. Management of sickle cell disease : summary of the 2014 evidence-based report by expert panel members. *JAMA*. 10 sept 2014;312(10):1033-48.
13. Ware RE. How I use hydroxyurea to treat young patients with sickle cell anemia. *Blood*. 1 juill 2010;115(26):5300-11.
14. O'Branski EE, Ware RE, Prose NS, Kinney TR. Skin and nail changes in children with sickle cell anemia receiving hydroxyurea therapy. *J Am Acad Dermatol*. mai 2001;44(5):859-61.

15. Ware RE, Despotovic JM, Mortier NA, Flanagan JM, He J, Smeltzer MP, et al. Pharmacokinetics, pharmacodynamics, and pharmacogenetics of hydroxyurea treatment for children with sickle cell anemia. *Blood*. 3 nov 2011;118(18):4985-91.
16. Heeney MM, Ware RE. Hydroxyurea for Children with Sickle Cell Disease. *Pediatr Clin North Am*. 1 avr 2008;55(2):483-501.
17. Charache S, Dover GJ, Moore RD, Eckert S, Ballas SK, Koshy M, et al. Hydroxyurea: Effects on Hemoglobin F Production in Patients With Sickle Cell Anemia. *Blood*. 15 mai 1992;79(10):2555-65.
18. Dong M, McGann PT, Mizuno T, Ware RE, Vinks AA. Development of a pharmacokinetic-guided dose individualization strategy for hydroxyurea treatment in children with sickle cell anaemia. *Br J Clin Pharmacol*. avr 2016;81(4):742-52.
19. McGann PT, Niss O, Dong M, Marahatta A, Howard T, Mizuno T, et al. Robust Clinical and Laboratory Response to Hydroxyurea Using Pharmacokinetically Guided Dosing for Young Children with Sickle Cell Anemia. *Am J Hematol*. août 2019;94(8):871-9.
20. de Montalembert M, Bachir D, Hulin A, Gimeno L, Mogenet A, Bresson JL, et al. Pharmacokinetics of hydroxyurea 1,000 mg coated breakable tablets and 500 mg capsules in pediatric and adult patients with sickle cell disease. :4.
21. Legrand T, Rakotoson MG, Galactéros F, Bartolucci P, Hulin A. Determination of hydroxyurea in human plasma by HPLC-UV using derivatization with xanthidol. *J Chromatogr B*. oct 2017;1064:85-91.
22. Résumé des Caractéristiques du Produit - Siklos - Mai 2022.
23. Estep JH, Wiczling P, Moen J, Kang G, Mack JM, Liem R, et al. Hydroxycarbamide in children with sickle cell anaemia after first-dose vs. chronic therapy: pharmacokinetics and predictive models for drug exposure. *Br J Clin Pharmacol*. juill 2018;84(7):1478-85.
24. Anderson BJ, Holford NHG. Tips and traps analyzing pediatric PK data: Tips and traps. *Pediatr Anesth*. mars 2011;21(3):222-37.
25. Ma Q, Wyszynski DF, Farrell JJ, Kutlar A, Farrer LA, Baldwin CT, et al. Fetal hemoglobin in sickle cell anemia: genetic determinants of response to hydroxyurea. *Pharmacogenomics J*. déc 2007;7(6):386-94.
26. Ribeiro PR, Teixeira R dos S, Souza AR, Pereira TCS, Boffo EF, Carosio MGA, et al. Blood plasma metabolomics of children and adolescents with sickle cell anaemia treated with hydroxycarbamide: a new tool for uncovering biochemical alterations. *Br J Haematol*. 2021;192(5):922-31.
27. Paule I, Sassi H, Habibi A, Pham KP, Bachir D, Galactéros F, et al. Population pharmacokinetics and pharmacodynamics of hydroxyurea in sickle cell anemia patients, a basis for optimizing the dosing regimen. *Orphanet J Rare Dis*. 28 mai 2011;6:30.
28. Moreira ID, Lessa CLM, Rocha GLG, Schmitz LD, Jahnke VS, Fogliatto LM, et al. Advanced clinical parameters: A complementary hydroxyurea adherence evaluation in

sickle cell anemia treatment. Eur J Haematol [Internet]. [cité 18 sept 2022];n/a(n/a).  
Disponible sur: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/ejh.13860>

29. van der Land V, Peters M, Biemond BJ, Heijboer H, Harteveld CL, Fijnvandraat K. Markers of endothelial dysfunction differ between subphenotypes in children with sickle cell disease. *Thromb Res.* 2013;132(6):712-7.
30. Kato GJ, Hebbel RP, Steinberg MH, Gladwin MT. Vasculopathy in Sickle Cell Disease: Biology, Pathophysiology, Genetics, Translational Medicine and New Research Directions. *Am J Hematol.* sept 2009;84(9):618-25.
31. Montalembert M, Voskaridou E, Oevermann L, Cannas G, Habibi A, Loko G, et al. Real-Life experience with hydroxyurea in patients with sickle cell disease: Results from the prospective ESCORT-HU cohort study. *Am J Hematol.* oct 2021;96(10):1223-31.

## SERMENT D'HIPPOCRATE

Au moment d'être admis(e) à exercer la médecine, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité.

Mon premier souci sera de rétablir, de préserver ou de promouvoir la santé dans tous ses éléments, physiques et mentaux, individuels et sociaux.

Je respecterai toutes les personnes, leur autonomie et leur volonté, sans aucune discrimination selon leur état ou leurs convictions. J'interviendrai pour les protéger si elles sont affaiblies, vulnérables ou menacées dans leur intégrité ou leur dignité. Même sous la contrainte, je ne ferai pas usage de mes connaissances contre les lois de l'humanité.

J'informerai les patients des décisions envisagées, de leurs raisons et de leurs conséquences. Je ne tromperai jamais leur confiance et n'exploiterai pas le pouvoir hérité des circonstances pour forcer les consciences.

Je donnerai mes soins à l'indigent et à quiconque me les demandera. Je ne me laisserai pas influencer par la soif du gain ou la recherche de la gloire.

Admis(e) dans l'intimité des personnes, je tairai les secrets qui me seront confiés. Reçu(e) à l'intérieur des maisons, je respecterai les secrets des foyers et ma conduite ne servira pas à corrompre les mœurs.

Je ferai tout pour soulager les souffrances. Je ne prolongerai pas abusivement les agonies. Je ne provoquerai jamais la mort délibérément.

Je préserverai l'indépendance nécessaire à l'accomplissement de ma mission. Je n'entreprendrai rien qui dépasse mes compétences. Je les entretiendrai et les perfectionnerai pour assurer au mieux les services qui me seront demandés.

J'apporterai mon aide à mes confrères ainsi qu'à leurs familles dans l'adversité.

Que les hommes et mes confrères m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses ; que je sois déshonoré(e) et méprisé(e) si j'y manque.

Nom, Prénom

Signature



## SERMENT D'HIPPOCRATE

En présence des Maîtres de cette FACULTÉ et de mes chers CONDISCIPLES, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'Honneur et de la Probité dans l'exercice de la Médecine.

Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent et je n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail. Admis dans l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe, ma langue taira les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime.

Respectueux et reconnaissant envers mes MAÎTRES, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.

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

Nom, Prénom

Signature