

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



UNIVERSITE ABOU BEKR BELKAÏD
FACULTE DE MEDECINE
DR. B. BENZERDJEB - TLEMCEN

وزارة التعليم العالي
والبحوث العلمي

جامعة أبو بكر بلقايد
كلية الطب
د. ب. بن زرجب - تلمسان

DEPARTEMENT DE PHARMACIE

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES POUR
L'OBTENTION DU DIPLOME DE DOCTEUR EN PHARMACIE

THÈME :

SUIVI THERAPEUTIQUE PHARMACOLOGIQUE DE LA CICLOSPORINE CHEZ LES
GREFFES RENAUX

Présenté par :

Ghermi Amira

Hammoudi Fatima Zohra

Soutenu le 01/07/2013

Le Jury

Président : Pr. BABA AHMED

Professeur en biophysique

Membres :

Dr. ABOUREDJAL

Maitre assistante en toxicologie

Dr. BENABADJI

Maitre assistant en pharmacologie

Dr. KARA

Maitre assistante en néphrologie

Dr. ADDA

Maitre assistante en hémobiologie

Encadreur :

Dr. GHARBI

Maitre assistante en pharmacologie

Remerciements

En tout premier lieu, nous remercions le bon Dieu, tout puissant, de nous avoir accordé la foi et la force pour pouvoir réaliser ce travail et l'achever à terme.

Nos remerciements s'adressent tout d'abord à Dr. M. GHARBI, maitre assistante en pharmacologie et notre directrice de mémoire, de nous avoir soutenu et encouragé dans les moments les plus difficiles de ce travail et grâce à son excellent encadrement et ses conseils enrichissants, pour le temps que vous nous avez consacré durant cette période jour, nuit et même les durant les week-ends.

Votre compétence, votre dynamique, votre rigueur et vos qualités humaines et professionnelles ont suscité en nous une grande admiration et un profond respect.

Nous voudrions être dignes de la confiance que vous nous avez accordée et vous prions, notre encadreur, de trouver ici le témoignage de notre sincère reconnaissance et profonde gratitude.

Nous tenons à remercier tout particulièrement à Pr. BERBER, doyen de la faculté de médecine de Tlemcen et chef du service de médecine nucléaire au CHU Tlemcen ou a été réalisé notre travail, ainsi que toutes l'équipe du service.

Nous adressons nos sincères remerciements à Pr. BABA AHMED, professeur en biophysique, d'avoir bien voulu nous faire l'honneur de présider le jury de ce mémoire ainsi tous les membres de jury.

Que Dr. N.ABOUREDJAL, maître assistante en toxicologie, et trouve ici l'expression de nos vifs remerciements pour avoir bien voulu juger ce travail.

Que Dr. B.BENABADJI, maitre assistant en pharmacologie trouve ici l'expression de nos vifs remerciements pour avoir bien voulu juger ce travail.

Nous remercions du fond de nos cœurs Dr. KARA, maitre assistante en néphrologie, nous avoir accueillies au cours notre étude et d'avoir bien voulu juger ce travail.

Un vif remerciement à Dr. ADDA, maître assistante en hématologie, d'avoir accepté d'être membre du jury de ce mémoire.

Nous remercions très sincèrement Dr. SEBAA, résidente en néphrologie, pour son aide et sa gentillesse.

A fin de n'oublier personne, nos vifs remerciements s'adressent à tous ceux qui m'ont aidée à la réalisation de ce modeste travail.

Dédicaces

A nos parents pour leur soutien sans faille et permanent, leurs encouragements dans les moments difficiles, leur totale confiance en nous et pour les valeurs qu'ils nous ont inculquées. Que Dieu les accorde longue et heureuse vie au près de nous.

*A nos frères et sœurs pour leurs encouragements et leur soutien tout au long de nos études et également pour les bons moments passés et à venir.
La fraternité est à l'abri de toutes les intempéries. Ce travail est le fruit de notre union.*

*A nos collègues pour les bons moments partagés.
Puisse ce travail être un souvenir pour nous. Que Dieu les protège et réalise leurs vœux.*

*A Mr. **BENNACER Abdelwahed** pour ces encouragements incessants et son soutien moral, que dieu le protège et le donne une vie pleine de réussite et de bonheur.*

*A la pharmacienne **OUADDANE Amina** et M^{elle} **BENHACILA Soumia** pour leurs encouragements incessants et leur soutien moral, que dieu les protège et les donne une vie pleine de réussite et de bonheur.*

*A M^{elle} **BEELAKHDAR Faiza** pour ces encouragements incessants et son soutien moral, que dieu la protège et la donne une vie pleine de réussite et de bonheur.*

LISTE DES TABLEAUX

| | |
|---|----|
| Tableau I : Les différents stades de l'insuffisance rénale chronique..... | 3 |
| Tableau II : Posologie et intérêt de l'adaptation posologique de la CsA en fonction de l'indication..... | 28 |
| Tableau III : Médicaments augmentant la ciclosporinémie..... | 38 |
| Tableau IV : Médicaments diminuant la ciclosporinémie..... | 41 |
| Tableau V : Médicaments causants un effet néphrotoxique..... | 44 |
| Tableau VI : Médicaments causant une immunosuppression additive..... | 45 |
| Tableau VII : Zone thérapeutique de la concentration résiduelle de ciclosporine (C ₀) après une transplantation rénale..... | 52 |
| Tableau VIII : Zone thérapeutique de la concentration résiduelle de ciclosporine (C ₀) en fonction du type de greffe..... | 52 |
| Tableau IX : Zone thérapeutique de la concentration 2 heures après la prise de ciclosporine (C ₂) en fonction de l'indication et du délai post-greffe..... | 54 |
| Tableau X : Matériel utilisé..... | 58 |
| Tableau XI : Calibrateurs standards (A à F) AxSYM Cyclosporine..... | 60 |
| Tableau XII : Contrôles AxSYM Cyclosporine..... | 61 |
| Tableau XIII : Les différentes caractéristiques des patients étudiés..... | 72 |
| Tableau XIV : Répartition des patients selon le sexe..... | 74 |
| Tableau XV : Répartition des patients selon la tranche d'âge..... | 74 |
| Tableau XVI : Répartition des patients selon le délai post-greffe..... | 76 |
| Tableau XVII : Répartition des C ₀ par rapport à la fourchette thérapeutique..... | 77 |
| Tableau XVIII : Les différentes relations en fonction de l'indice de corrélation (R ²)..... | 79 |
| Tableau XIX : Les variations de la C ₀ en fonction des modifications posologiques et date de prélèvement..... | 88 |
| Tableau XX : Les variations de la C ₀ en fonction des modifications posologiques et date de prélèvement..... | 90 |

LISTE DES FIGURES

| | |
|--|----|
| Figure 1 : Signaux d'activation d'un lymphocyte T suite à une greffe..... | 7 |
| Figure 2 : Activation des LT et cibles des immunosuppresseurs..... | 9 |
| Figure 3 : Structure chimique des inhibiteurs de la mTOR..... | 13 |
| Figure 4 : Formule chimique des deux formes du MPA..... | 14 |
| Figure 5 : Tolypocladium inflatum Gams..... | 17 |
| Figure 6 : Formule développée de la ciclosporine A..... | 19 |
| Figure 7 : Principaux sites de métabolisation de la ciclosporine..... | 23 |
| Figure 8 : Mécanismes d'action de la ciclosporine A..... | 26 |
| Figure 9 : Les paramètres reflétant l'exposition à la ciclosporine..... | 53 |
| Figure 10 : Axsym (automate)..... | 59 |
| Figure 11 : Centrifugeuse..... | 59 |
| Figure12 : Coffret-réactifs AxSYM Cyclosporine..... | 60 |
| Figure13 : Calibrateurs standards (A à F) AxSYM Cyclosporine..... | 61 |
| Figure14 : Contrôles AxSYM Cyclosporine..... | 61 |
| Figure15 : Réactifs de prétraitement AxSYM Cyclosporine..... | 62 |
| Figure16 : Réactif de solubilisation..... | 62 |
| Figure17 : Réactif de précipitation..... | 62 |
| Figure18 : Fiche du suivi thérapeutique de la ciclosporine..... | 65 |
| Figure 19 : Principe de la méthode FPIA..... | 66 |
| Figure20 : Décantation des échantillons dans les tubes pour centrifugeuse..... | 68 |
| Figure21 : Etape de solubilisation..... | 68 |
| Figure22 :Etape de precipitation..... | 69 |
| Figure23 : Fermeture des tubes..... | 69 |
| Figure24 :Agitation des tubes au vortex..... | 69 |
| Figure25 : Centrifugation des tubes et l'obtention des surnageants..... | 70 |
| Figure26 : Décantation des surnageants dans les cupules..... | 70 |
| Figure27 : La mise des cupules dans les segments..... | 71 |
| Figure28 : Répartition des patients selon le sexe..... | 74 |
| Figure29 : Répartition des patients selon la tranche d'âge..... | 75 |
| Figure30 : Répartition des patients selon le sexe et la tranche d'âge..... | 75 |
| Figure31 : La répartition des patients selon le délai post-greffe | 76 |
| Figure32 : Répartition des C ₀ par rapport à la fourchette thérapeutique..... | 77 |
| Figure 33 : Répartition des C ₀ par rapport à la fourchette thérapeutique..... | 78 |

| | |
|---|----|
| Figure 34 : Répartition des C_0 par rapport à la fourchette thérapeutique et le sexe..... | 78 |
| Figure 35 : Répartition des patients selon la fourchette thérapeutique de C_0 et les tranches d'âge..... | 79 |
| Figure 36 : Courbe de régression étudiant la corrélation entre la C_0 et l'âge des patients..... | 80 |
| Figure 37 : Courbe de régression étudiant la corrélation entre la C_0 et la date de greffe..... | 80 |
| Figure 38 : Courbe de régression étudiant la corrélation entre la C_0 et la dose journalière.... | 81 |
| Figure 39 : Courbe de régression étudiant la corrélation entre la concentration résiduelle C_0 et la clairance rénale..... | 81 |
| Figure 40 : Les variations de la C_0 en fonction des modifications posologiques et date de prélèvement..... | 89 |
| Figure 41 : Les variations de la C_0 en fonction des modifications posologiques et date de prélèvement..... | 91 |

LISTE DES ABREVIATIONS

| | |
|------------------------|---|
| ACN : | Anti-calcineurines. |
| Ac : | Anticorps. |
| ACMIA: | Affinity-column-mediated immunoassay. |
| ADN: | Acide désoxyribonucléique. |
| Ag: | Antigène. |
| ALG: | Anticorps anti-lymphoglobulines |
| AP-1: | Activator-protein 1. |
| ASC : | Aire sous la courbe. |
| AUC: | Area under curve. |
| ARN: | Acide ribonucléique. |
| ATG: | Antithymocytes globulins. |
| C₀ : | Concentration résiduelle (avant une nouvelle prise). |
| CEDIA: | Cloned Enzyme donor immuno-assay. |
| CLHP/UV : | Chromatographie Liquide Haute Performance couplée à un détecteur UV . |
| CMH : | Complexe majeur d'histocompatibilité. |
| CPA : | Cellule présentatrice de l'Antigène. |
| CTLA-4: | Cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen-4. |
| CsA: | Ciclosporine A. |
| CypA : | Cyclophiline A. |
| CypB : | Cyclophiline B. |
| CYP 3A4: | Cytochrome P 3A4 |
| DAG: | Diacylglycérol |
| DEG : | Débit de filtration glomérulaire. |
| DHODH : | Dihydroorotate déshydrogénase |
| EER : | Epuration extra-rénale. |
| EMIT: | Enzyme multiplied immuno-assay technique. |
| FPIA : | Fluorescence polarization immuno-assay(immunopolarisation de fluorescence). |
| FK-BP12: | FK-binding- proteins. |

| | |
|----------------------------------|---|
| GM-CSF: | Granulocyte monocyte-colony stimulating factor. |
| HLA : | Antigènes Leucocytaires Humains. Human leucocyte Antigen |
| HTA : | Hypertension artérielle |
| IFN-γ: | Interféron- γ |
| IκB: | Inhibitor of NF- κ B. |
| IL-2: | Interleukine 2. |
| IP3: | Inositol-triphosphate. |
| IRC : | Insuffisance rénale chronique. |
| IRCT : | L'insuffisance rénale chronique terminale |
| IV : | Intra veineuse. |
| IMPDH : | Inosine monophosphate déshydrogénase. |
| LC-ES-MS/MS : | Chromatographie Liquide – Electrospray – Spectrométrie de Masse en tandem |
| LC-ES-MS : | Chromatographie Liquide – Electrospray – Spectrométrie de Masse. |
| LT: | Lymphocyte T. |
| 6-MP: | 6-Mercaptopurine. |
| MPA : | Acide mycophénolique. |
| MPS : | Mycophénolate sodique |
| MAP: | Mitogen-activated protein. |
| mTOR: | Mammalian target of rapamycin |
| MMF: | Mycophénolate mofétil. |
| NEO: | Néoral. |
| NFAT: | Nuclear activating factor of T cell. |
| NF-κB : | Facteur nucléaire kappa B. |
| NK: | Natural killer. |
| PKC: | Protéine kinase C. |
| OKT3: | Orthoclone OKT3. |
| PA : | Pression artérielle |
| P-gp : | Glycoprotéine P. |
| PIP2: | Phosphatidylinositol 4, 5-bisphosphate |

| | |
|------------------------------------|--------------------------------------|
| PI3K: | Phosphatidylinositol 3-kinase. |
| RIA: | Radio ImmunoAssay. |
| SAL: | Sérum antilymphocytaire. |
| SIM: | Sandimmun. |
| STP : | Suivi thérapeutique pharmacologique. |
| TDM: | Therapeutic drug monitoring. |
| TNFα: | Tumor necrosis factor alpha. |
| TGF β: | Transforming Growth Factor β . |
| t$\frac{1}{2}$: | Temps de demie vie |
| TCR: | T cell receptor. |
| μl : | Microlitre. |
| Vd : | Volume de distribution. |
| Nm : | Nano mol. |

INTRODUCTION

Plus d'un demi-siècle s'est écoulé depuis la première transplantation d'organe en 1952.

La transplantation rénale est devenue le traitement de choix pour des patients au stade terminal de l'insuffisance rénale. L'espérance de vie des patients après transplantation d'organes a nettement augmenté ces dernières décennies non seulement en raison des progrès réalisés dans les techniques chirurgicales et dans les soins post-opératoires des patients, mais également suite au développement des médicaments immunosuppresseurs permettant de prévenir le rejet.

La découverte de la ciclosporine et de ses propriétés immunosuppressives dans les années 1970 marque un tournant dans l'histoire de la transplantation. Les nombreuses recherches concernant son rôle et son mécanisme d'action ont permis de comprendre les mécanismes immunologiques impliqués dans les phénomènes de rejet et d'en améliorer ainsi la prise en charge.

Cependant, bien que d'énormes progrès aient été faits, le faible index thérapeutique ainsi que la forte variabilité inter-individuelle de la réponse au traitement peuvent être à l'origine d'une part d'échec thérapeutique lié à une mauvaise observance ou à une dose insuffisante, et d'autre part de la toxicité liée à une dose excessive.

C'est dans ce contexte que la notion de suivi thérapeutique pharmacologique (STP) voit le jour.

Le suivi thérapeutique pharmacologique a un impact positif tant sur la qualité de vie des greffés que sur les dépenses relatives à la prise en charge des malades sujets à des complications engendrées par le surdosage et le sous dosage de la Ciclosporine.

L'objectif de notre étude est la surveillance des concentrations sanguines de la ciclosporine dans le cadre d'un suivi thérapeutique pharmacologique, réalisé sur un échantillon aléatoire de 7 patients transplanté rénaux, traités au niveau du service de néphrologie, et suivis au sein du laboratoire de médecine nucléaire CHU – TLEMEN durant la période du 1 mars au 20 mai 2013, et ceci dans le but d'aider le médecin à adapter individuellement leur posologie de façon à maintenir les concentrations dans une zone statistiquement optimale, dite fourchette thérapeutique, et permettant ainsi une meilleure prise en charge des patients greffés rénaux sous traitement chronique à base de la ciclosporine.

PARTIE THEORIQUE

Chapitre I : Généralités

I. Insuffisance rénale chronique (IRC) :

I.1. Définition de l'IRC :

L'IRC est définie par une diminution progressive et irréversible du débit de filtration glomérulaire (DFG) en dessous de 80 ml/min/1.73m² sc. La filtration glomérulaire diminue à la suite d'une réduction néphronique due à des lésions glomérulaires, interstitielles ou vasculaires.

Une fois établie, l'insuffisance rénale reste rarement stable. Dans la plupart des cas, elle évolue peu à peu, inexorablement, vers l'insuffisance rénale chronique terminale (IRCT) marquée par un DFG inférieur à 15 ml/min, et/ou la nécessité d'une suppléance : épuration extra-rénale (EER) par hémodialyse, dialyse péritonéale ou par transplantation rénale.

Pour évaluer la filtration glomérulaire, on mesure ou estime la clairance de la créatinine.

L'estimation peut être réalisée selon plusieurs formules dont la plus utilisée est celle de *COCKCROFT* et *GAULT* :

$$\text{Clairance la créatinine (ml/min)} = ((140 - \text{âge}) \times \text{poids} \times K / \text{créatininémie } (\mu\text{mol/l})).$$

L'âge est exprimé en années et le poids en kg.

$K=1.23$ chez l'homme, 1.05 chez la femme. [^{1,24}]

I.2. Les stades de l'IRC :

L'IRC peut être classée en 4 stades en fonction de la valeur de la clairance de la créatinine :

Tableau I : Les différents stades de l'insuffisance rénale chronique.

| | Stade | Clairance de la créatinine |
|---|--------------------------|----------------------------|
| 1 | Maladie rénale chronique | 90 à 60 ml/min |
| 2 | IRC modérée | 59 à 30 ml/min |
| 3 | IRC sévère | 29 à 15ml/min |
| 4 | IRC terminale | <15ml/min |

Généralement, cette maladie s'installe lentement et silencieusement mais elle progresse au fil des ans. Le stade 4 de la maladie est connu sous le nom d'insuffisance rénale terminale (IRT) ou insuffisance rénale au stade final ou ultime. Il est important de savoir que l'expression stade terminal, final ou ultime signifie la fin de toute fonction des reins (vos reins travaillant à moins de 15 % de leur capacité normale) et non pas la fin de votre vie.^[4]

I.3. Modalités de traitement de l'IRT :

I.3.1. Dialyse :

Le principe de la dialyse repose sur l'échange entre le sang du malade et solution de dialyse (dialysat) de composition proche de celle du plasma normal, au travers d'une membrane semi-perméable. Cet échange permet l'extraction des produits de déchets azotés et des autres toxines urémiques, ainsi que l'ajustement de la concentration en électrolytes du plasma à celle du bain de dialyse.

Deux modalités de dialyse sont possibles, selon la nature de la membrane servant aux échanges. L'hémodialyse, ou dialyse extracorporelle, utilise une membrane artificielle, tandis que la dialyse péritonéale, ou dialyse intracorporelle, utilise comme membrane le propre péritoine du patient. Ces deux méthodes, bien que différant par leur technologie, ont une efficacité comparable : elles permettent la suppléance des fonctions d'excrétion et de régulation hydro-électrolytique des reins détruits, sans pouvoir compenser la perte de leurs fonctions endocrines, qui nécessite des traitements complémentaires.

I.3.2. Greffe rénale :

La transplantation rénale est l'une des avancées thérapeutiques les plus spectaculaires de la médecine moderne. La transplantation rénale est une intervention chirurgicale lors de laquelle un rein provenant d'un donneur sain est greffé à un receveur dont les reins ont cessé de fonctionner. En général, les reins qui ne fonctionnent plus sont laissés en place et le rein greffé est placé dans la fosse iliaque.

L'hôpital Necker est un site historique dans le domaine de la transplantation rénale puisque la première transplantation a eu lieu le 25 novembre 1952 et que l'une des 2 premières transplantations réussies entre jumeaux dizygotes a eu lieu en 1959.

On qualifie la transplantation, de greffe préemptive quand elle est réalisée sans recours antérieur à la dialyse.

Des progrès considérables ont été réalisés dans la compréhension des mécanismes du rejet et de la tolérance, dans le développement de nouveaux traitements immunosuppresseurs ainsi que dans la prévention de leurs effets secondaires. Le problème crucial, à l'heure actuelle demeure la pénurie relative d'organes au regard du nombre de patients en attente d'une transplantation rénale.

II. Transplantation rénale

II.1. Différents types de donneurs :

Les greffons peuvent provenir de 2 types de donneurs différents :

II.1.1. Les donneurs décédés (ou donneurs cadavériques) :

- a. **Soit de mort encéphalique** : correspond à un rein prélevé chez un patient dont la fonction ventilatoire dépend d'un respirateur. La typologie de ces donneurs a beaucoup évolué ces dernières années, avec une augmentation de la moyenne d'âge de 10 ans environ, et une modification progressive des causes de décès avec une diminution des accidents de la voie publique au profit des accidents vasculaires cérébraux.
- b. **Soit après arrêt cardiaque** : correspond à un rein prélevé chez un patient qui a fait un arrêt cardiaque. Ce patient doit être pris en charge très rapidement après l'arrêt par une ventilation, des médicaments, puis par une machine effectuant le massage cardiaque. En fonction de la réponse du patient, on prononce le décès par arrêt cardiaque puis on réalise le bilan des organes à prélever et on s'entretient avec la famille du défunt tout en respectant son deuil. On ne dispose que de 18 heures entre l'« effondrement » du patient et la fin de la greffe (contre 36 heures entre le clampage aortique et l'implantation du greffon lors d'une mort encéphalique). L'organisation des prélèvements sur donneurs décédés suite à un arrêt cardiaque est particulièrement lourde et le temps est compté.

II.1.2. Les donneurs vivants :

Le greffon issu d'un donneur vivant est prélevé chez un sujet en excellente santé dont les examens préopératoires ont montré qu'il ne courrait aucun risque à court et long terme des suites d'une néphrectomie. Au terme de l'évaluation médicale, seulement un volontaire sur trois peut donner un rein. Les donneurs vivants sont généralement des membres de la famille de la personne attendant la greffe (enfant, parent, frère ou sœur) mais les révisions régulières de la loi de bioéthique, ont permis d'élargir le cercle des donneurs, notamment aux conjoints, puis plus récemment aux amis. ^[6]

II.2. Réponse immunitaire suite à une greffe:

Le déclenchement de la réponse immunitaire face à un antigène étranger est dû à l'intégration de 3 signaux différents :

L'interaction d'un complexe « peptide étranger »/complexe d'histocompatibilité (CMH) à la surface d'une cellule présentatrice de l'Antigène (CPA) avec le récepteur d'un LT (TCR : T cell receptor) couplé au CD3 entraîne la transduction d'un signal (signal 1).

L'interaction entre CD28 exprimé par le lymphocyte T et CD80 ou CD86 à la surface de la CPA génère une co-stimulation (signal 2).

Ces deux signaux activent trois voies de signalisation: la voie des canaux calciques (voie calcium - calcineurine), la voie des MAP kinases (mitogen-activated protein) et celle de la protéine kinase C (PKC).

Ces voies de signalisation activent respectivement les facteurs de transcriptions comme l'activator-protein 1(AP-1), le nuclear activating factor of T cell (NFAT) et le facteur nucléaire kappa B (NF- κ B).

Il en résulte l'expression de nombreux marqueurs membranaires et de cytokines, notamment la production d'interleukine 2 (IL-2) et de la chaîne α (CD25) de son récepteur.

Suite à l'activation des LT, la sécrétion de l'IL-2 d'autres cytokines (par exemple l'interleukine 15) joue un rôle prépondérant dans l'expansion clonale des lymphocytes. En effet, la fixation de l'IL-2 sur son récepteur trimérique, composé de trois chaînes α (CD25), β et γ , déclenche un signal intracellulaire via l'activité kinase de la protéine mTOR (mammalian target of rapamycin).qui constitue le « signal 3 », à l'origine de la prolifération cellulaire (la prolifération des LT activés).

L'entrée du lymphocyte T dans le cycle cellulaire requiert la synthèse de novo des bases puriques et pyrimidiques constituant l'ADN ; synthèse qui dépend respectivement des enzymes inosine monophosphate déshydrogénase (IMPDH) et dihydro-orotate déshydrogénase (DHODH).^[23]

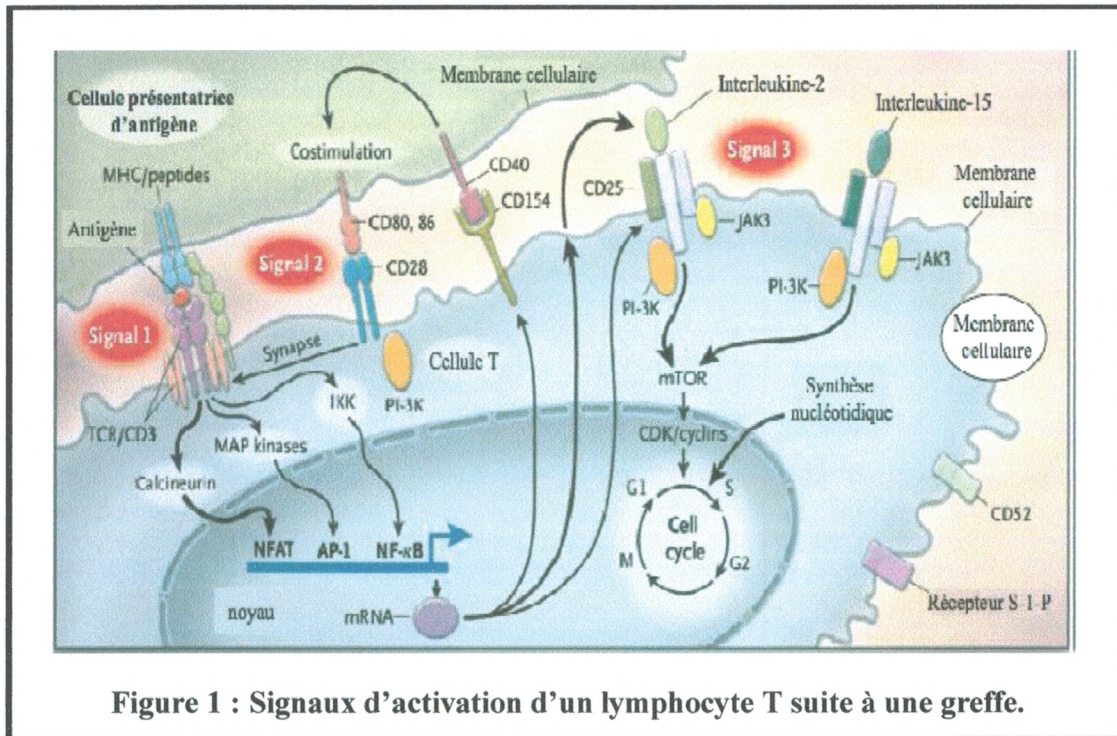


Figure 1 : Signaux d'activation d'un lymphocyte T suite à une greffe.

II.3. Types de rejets:

La principale complication de la transplantation d'organes est le risque de rejet. Ce rejet dépend essentiellement de la réaction immunitaire du receveur contre les cellules du greffon.

On distingue différents types de rejet en fonction de leur survenue plus ou moins précoce après la greffe et en fonction de la réaction immune mise en jeu. Il existe trois types de rejet : le rejet hyper-aigu, le rejet aigu et le rejet chronique.

II.3.1. Le rejet hyper-aigu :

Le rejet hyper-aigu survient au cours des premières minutes suivant la transplantation jusqu'à quelques heures après l'achèvement des anastomoses vasculaires, et entraîne une nécrose nécessitant le retrait du greffon. Ce rejet est dû à la présence d'anticorps anti-HLA (Antigènes Leucocytaires Humains) acquis le plus souvent au cours d'une transfusion, d'une grossesse ou d'une transplantation antérieure. La seule façon de prévenir ce rejet est de faire un test de compatibilité entre le donneur et le receveur. La toxicité des anticorps du receveur contre les cellules du donneur est déterminée, c'est le « cross-match », et un dépistage avant la greffe de la présence de ces anticorps anti-HLA chez le receveur est effectuée. ^[9]

II.3.2. Le rejet aigu :

Le rejet aigu est dû à la reconnaissance par les lymphocytes T du receveur des antigènes allogéniques du donneur. Les lymphocytes activés forment un clone spécifique de l'antigène et envahissent le greffon. Le rejet aigu nécessite une présentation antigénique par les cellules présentatrices d'antigène qui viennent à la rencontre des lymphocytes du receveur au sein des organes lymphoïdes secondaires, ce qui demande plusieurs jours (plus de 5 jours). Actuellement, grâce aux traitements immunosuppresseurs, les épisodes de rejet aigu surviennent dans moins de 20% des transplantations et sont généralement bien contrôlés par un traitement adapté. Le rejet aigu survient essentiellement dans les 3 premiers mois avec un pic de fréquence dans le premier mois. Néanmoins il peut s'observer à tout moment en cas d'arrêt du traitement immunosuppresseur (défaut d'observance). Il est diagnostiqué par la biopsie du rein greffé. Plus récemment, a également été identifié, notamment chez des patients immunisés, un type de rejet à médiation humorale (donc lié à l'apparition d'anticorps cytotoxiques spécifiques du donneur formés après la greffe), beaucoup plus agressif, et plus difficile à contrôler car ne répondant pas aux traitements immunosuppresseurs classiques. ^[6]

II.3.3. Le rejet chronique et néphropathie chronique du transplant :

Les lésions chroniques de rejets font partie de l'histoire naturelle du greffon, elles surviennent plus tardivement, plusieurs mois ou plusieurs années après la transplantation. Le rejet chronique s'accompagne d'une lente dégradation de la fonction du greffon et s'intègre dans une entité plus large nommée dysfonction chronique de greffon dans la mesure où la perte de fonction est liée à des agressions immunologiques et non immunologiques.

Le mécanisme physiopathologique immunologique est toujours mal connu. Le rejet chronique est souvent dû à la fréquence de rejet aigu. Les incompatibilités HLA sont également des facteurs de risque dans la perte tardive du greffon. La production d'anticorps anti-HLA après la transplantation est corrélée à une augmentation du risque de néphropathie chronique d'allogreffe. ^[9]

Des facteurs non-immunologiques peuvent également jouer un rôle dans la pathogenèse de la néphropathie chronique d'allogreffe. On peut citer : lésions héritées du donneur, néphrotoxicité des immunosuppresseurs, les lésions post ischémiques, les infections, l'hypertension, le diabète, récurrence de la maladie initiale sur le greffon, etc.).

La néphropathie chronique du transplant constitue la principale cause de perte des greffons rénaux et il est encore très difficile de la prévenir et de la traiter. ^[7]

a. Traitement préventif d'induction :

Bien que tous les épisodes de rejet ne soient pas de la même sévérité, le fait de développer un rejet aigu représente un facteur de risque majeur de perte du greffon rénal, soit par rejet incontrôlable, soit ultérieurement par rejet chronique. Ceci justifie les approches tentant de prévenir au mieux la survenue du rejet aigu dont le risque est élevé pendant les 3 mois post-greffe, il est maximal durant le premier mois, peut-être parce que l'inflammation consécutive à l'ischémie du greffon augmente son pouvoir immunogénique. L'immunosuppression doit donc être la plus intense à cette période.

Un traitement d'induction est un traitement court par des anticorps polyclonaux (globulines antilymphocytaires) ou anticorps monoclonaux (anti-CD3 et anti CD25) réalisé au cours des premiers jours ou semaines suivant la transplantation. [6]

a₁. Les anticorps polyclonaux : sérum antilymphocytaire (SAL):

Les Acs polyclonaux nommés sérum antilymphocytaire (SAL) sont représentés par les Anticorps anti-lymphoglobulines (ALG) (LYMPHOGLOBULINE[®]) et les antithymocytes globulins (ATG) (THYMOGLOBULINE[®]). [7]

Ce sont des solutions purifiées d'immunoglobulines à activité antilymphocytaire, obtenues par immunisation de chevaux ou de lapins avec des lymphocytes ou des thymocytes humains. [6]

L'administration de globuline est suivie d'une chute rapide et profonde du nombre de lymphocytes périphériques responsable de l'immunosuppression. [7]

La durée de traitement est en général de 10 jours et ne doit pas excéder 21 jours.

La toxicité est liée à l'injection de protéines hétérologues et se manifeste par des réactions allergiques (fièvre et frissons, éruption cutanées, prurit, maladie sérique) ; une prémédication par un antihistaminique et des corticoïdes est donc nécessaire.

Une thrombocytopénie, leucocytose, thrombopénie, urticaire et certaines infections peuvent également apparaître. [17]

a₂. Les anticorps antilymphocytaires monoclonaux :**❖ Muromonab, OKT3 (ORTHOCLONE[®]) :**

Il s'agit d'un anticorps murin. L'OKT3 a été le premier anticorps monoclonal utilisé en transplantation ; il est spécifique du marqueur CD3 situé à la surface des LT, responsable de la transmission du signal d'activation des LT. L'OKT3 bloque ainsi la transduction du signal d'activation des LT et provoque une chute du nombre de lymphocytes CD3+.

Actuellement, l'OKT3 est indiqué dans le traitement du rejet aigu corticorésistant.

Cependant, devant l'intensité de ses effets indésirables, l'utilisation d'OKT3 est rare.

La toxicité majeure consiste en la survenue à la 1^{ère} ou 2^{ème} injection, d'un " syndrome de la première dose" sévère (fièvre, frissons, dyspnée, vomissements, parfois œdème aigu du poumon) dû à un relargage d'interleukine IL-2, d'interféron et surtout de tumor necrosis factor alpha (TNF α).

De même, tout état d'hyperhydratation doit être corrigé (diurétiques, dialyse) afin d'éviter un œdème pulmonaire.

Le traitement dure environ 10 jours (au-delà de 10 jours, le patient s'immunise contre l'OKT3 en produisant des anticorps neutralisants qui rendent l'OKT3 inefficace. ^[17,23]

❖ Anticorps dirigés contre la chaîne α du récepteur de l'IL 2 (anti-CD25) :

Il s'agit d'anticorps monoclonaux recombinants dont les représentants sont :

- **Le basiliximab (SIMULECT[®])** : est un anticorps chimérique c'est-à-dire que la partie constante de l'Anticorps à une structure humaine (75% de l'anticorps) et les parties variables ont une structure murine (25% de l'anticorps).
- **Le daclizumab (ZENAPAX[®])** : est un Anticorps humanisé c'est-à-dire que seules les régions hypervariables (10% de l'anticorps) sont d'origine murine. ^[17,23]

Ils sont dirigés contre la chaîne α (CD25) du récepteur de l'interleukine-2 présent sur les lymphocytes T, conduisant ainsi à une inhibition de leur activation et prolifération (Ils empêchent la fixation de l'IL2 à son récepteur et bloquent ainsi l'action de l'IL2).

Contrairement à l'OKT3 et aux SAL, ils sont responsables que d'une diminution limitée des lymphocytes T circulants car ils agissent seulement sur les lymphocytes T activés. Ils se différencient également de ces deux agents déplétants par un profil de tolérance beaucoup plus acceptable mais peuvent parfois induire de rares réactions anaphylactiques. ^[17]

- **Le Bélatacept (NULOJIX[®])** : est une protéine de fusion humaine qui combine la portion extracellulaire de CTLA-4 (cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen-4) avec la région constante (fragment Fc) d'une IgG1 humain (CTLA4-Ig).

Il se lie à la surface des ligands de co-stimulation (CD80 et CD86) des cellules présentatrices d'antigène avec une meilleure affinité que le CD28. Il bloque ainsi la co-stimulation et inhibe l'activation des lymphocytes T.

Ses effets indésirables sont d'ordre digestif (nausées, vomissements) et parfois on a des Infections urinaires. ^[9]

b. Traitement préventif du rejet au long cours (traitement d'entretien) :

Après une phase de quelques jours de traitement d'induction, utilisant des anticorps mono ou polyclonaux visant à détruire ou à bloquer l'activation des lymphocytes, le traitement d'entretien va le plus souvent être constitué de l'association de plusieurs immunosuppresseurs appartenant à différentes classes (tri ou quadrithérapie) pour diminuer la toxicité spécifique de chaque molécule et pour augmenter l'efficacité antirejet, en agissant à différents niveaux de la réaction à l'allo-antigène. Les protocoles immunosuppresseurs sont adaptés en tenant compte, en parallèle, du type d'effets indésirables des molécules et du profil morbide du patient.

Voici quelques associations validées :

- ✚ Anticalcineurines (ciclosporine/tacrolimus) + antimétabolites (azathioprine /MMF) + corticostéroïdes avec arrêt des corticostéroïdes aux troisième mois.
- ✚ Anticalcineurines (ciclosporine) + inhibiteurs de la mTOR (sirolimus) + corticostéroïdes avec arrêt possible de la ciclosporine au troisième moi.

b₁. Les anticalcineurines :

Les inhibiteurs de la calcineurine constituent la base du traitement immunosuppresseur des patients transplantés. Les deux molécules représentant cette classe sont la ciclosporine A (CsA) et le tacrolimus (TRL),^[9]

❖ La ciclosporine SANDIMMUN[®] ou NEORAL[®] :

La ciclosporine représente une période-charnière dans l'histoire de la transplantation. C'est le premier traitement spécifique des lymphocytes T qui a amélioré considérablement la survie du greffon (sa pharmacologie est détaillée dans le chapitre suivant).

❖ Le tacrolimus PROGRAF[®] ou ADVAGRAF[®] :

Le tacrolimus ou FK506 ou Prograf est un macrolide issu de la bactérie *Streptomyces tsukubaensis*. Il a le même mode d'action que la ciclosporine avec un récepteur intracellulaire différent, le FK-BP12 (FK-binding- proteins). Ce complexe se lie à la calcineurine et bloque l'activité enzymatique. Cette inhibition conduit au blocage de la prolifération des cellules T et de la transcription du gène de l'interleukine 2, conduisant à une réduction marquée de l'activité des lymphocytes T effecteurs.

Les principaux effets indésirables rencontrés avec le tacrolimus sont : la néphrotoxicité, les tremblements, l'hypertension artérielle (moins fréquente et moins sévère que sous ciclosporine), le diabète. Les cancers sont retrouvés également avec le tacrolimus. L'alopécie et le syndrome hémolytique et urémique sont des effets indésirables moins fréquents.^[9]

b₂. Les inhibiteurs de la mTOR :

❖ Le sirolimus RAPAMUNE[®] :

Le sirolimus est une lactone macrocyclique issue de la fermentation de la bactérie *streptomyces hygroscopicus*. Il se lie à la même immunophiline que le tacrolimus, FKBP12, mais n'inhibe pas l'activité de la calcineurine. Le complexe est un inhibiteur hautement spécifique de la cible de la rapamycine chez les mammifères (mammalian target of rapamycin, mTOR). La mTOR est une sérine/thréonine kinase impliquée dans la voie de signalisation du phosphatidylinositol 3-kinase (PI-3K).

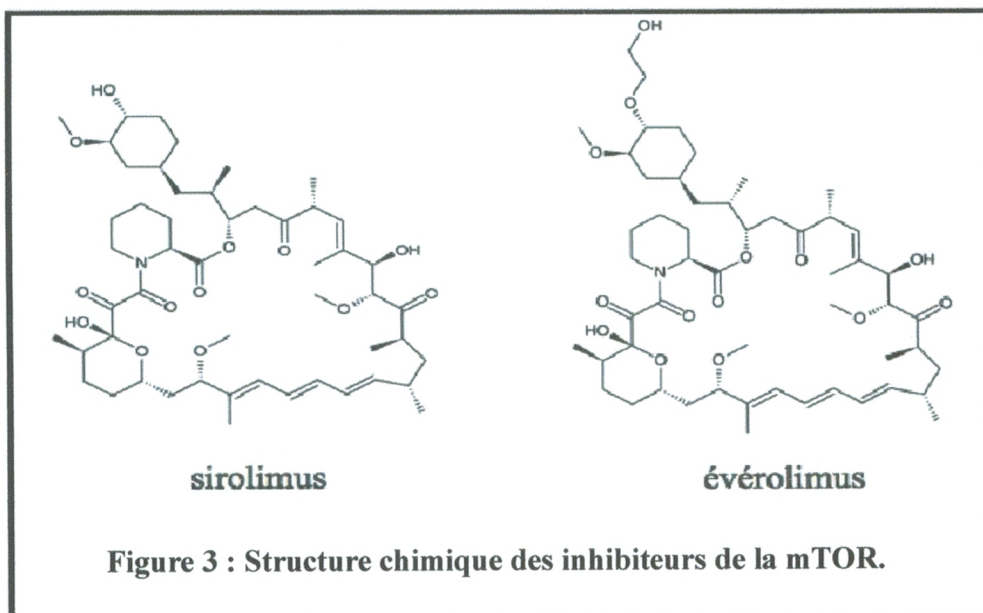
L'inhibition de mTOR a un effet sur la voie de signalisation nécessaire à la progression du cycle cellulaire et à la prolifération cellulaire (signal 3 d'activation,).

Ses principaux effets secondaires sont l'hyperlipidémie, la toxicité hématologique (anémie, leucopénie, thrombocytopénie), ainsi que des lésions sur les muqueuses (aphtes).^[9]

❖ L'évérolimus CERTICAN[®] :

L'évérolimus a la même cible que le sirolimus. C'est une modification chimique du sirolimus pour améliorer son absorption (Figure 3). La différence entre ces 2 molécules se situe au niveau de la pharmacocinétique.

La demi-vie de l'évérolimus est plus courte (28h) que celle du sirolimus (62h). La concentration d'évérolimus atteint l'état stable sanguin au bout de 4 jours au lieu de 6 jours pour le sirolimus.



b3. Les antiprolifératifs ou antimétabolites ou antipurines :

❖ L'azathioprine IMUREL® :

C'est le dérivé nitro-imidazole de la 6-mercaptopurine (6-MP).

L'azathioprine est un inhibiteur compétitif de l'hypoxanthine-guanine-phospho-ribosyltransférase. Ce médicament bloque donc la synthèse des bases puriques de l'ARN et de l'ADN inhibant ainsi la prolifération lymphocytaire et de l'interleukine 2.

L'Imurel® a longtemps été utilisé en association avec les corticoïdes avant les anticalcineurines.

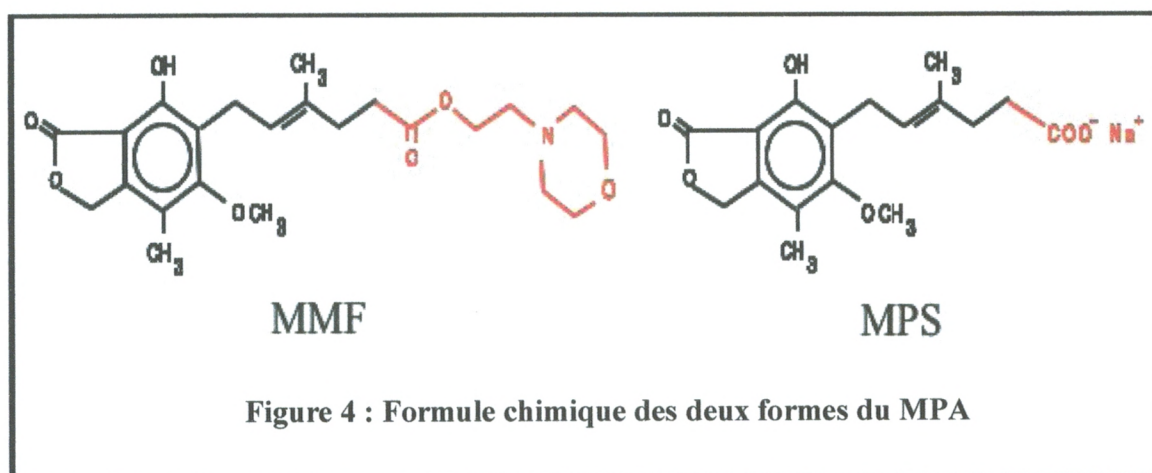
IL présente une toxicité médullaire (leucopénie principalement, anémie, thrombopénie) et une toxicité hépatique (cholestase, pélioïse).^[6]

❖ Acide mycophénolique MYFORTIC® et Le mycophénolate mofétil CELLCEPT® :

L'acide mycophénolique (MPA) est issu de la fermentation de *Penicillium brevicompactum* et d'autres champignons. Il est utilisé comme immunosuppresseur depuis les années 90.

Il existe deux formes (Figure 4) :

- La forme ester, le mycophénolate mofétil (MMF) ou Cellcept, est une prodrogue qui est absorbée dans l'estomac et convertie en MPA, la molécule active : c'est une libération rapide.
- La forme sodique, le mycophénolate sodique(MPS) ou Myfortic est gastroprotégée et permet une libération prolongée en retardant la libération du MPA dans l'intestin.



Le MPA est un inhibiteur réversible et non compétitif de l'inosine monophosphate déshydrogénase (IMPDH) qui est l'enzyme clef de la voie de synthèse *de novo* des nucléotides de la guanosine, eux-mêmes essentiels à la synthèse d'ADN. Il bloque ainsi la synthèse des purines *de novo*.

La plupart des cellules utilisent deux voies de synthèse des nucléotides de la guanosine, la voie *de novo* et la voie de sauvetage.

Les lymphocytes utilisent très peu la voie de sauvetage, c'est pourquoi le blocage de la voie *de novo* entraîne une inhibition relativement sélective de la prolifération des lymphocytes.

Les effets secondaires du MMF et du MPS sont similaires et sont principalement des problèmes gastro-intestinaux tels que diarrhées, nausées, vomissements. Ils augmentent l'incidence d'infections virales (cytomégalovirus, herpes simplex, BK virus...), et ont une toxicité hématologique (anémie, neutropénie, thrombopénie).

Le MMF et le MPS sont le plus souvent associés à une anti-calcineurine, avec ou sans corticoïdes.^[9]

b4. Les corticoïdes : SOLUMEDROL[®], CORTANCYL[®], MEDROL[®] :

Les corticostéroïdes ont été introduits en tant que traitement immunosuppresseur dans les années 60. Ils ont un effet anti-inflammatoire non spécifique. Ils inhibent la transcription des gènes de cytokines sécrétées par les lymphocytes T et les macrophages en bloquant l'activation des facteurs nucléaire- κ B (NF- κ B).

Ainsi, ils interrompent l'activation des cellules T et l'atteinte tissulaire médiée par les macrophages.^[9]

Ils ont de nombreux effets secondaires comme le diabète, la prise de poids, l'ostéoporose, les troubles oculaires, l'hypertension, la dyslipidémie et l'acné.^[6]

II.4.3. Traitement curatif du rejet de greffe :

Malgré la mise en place d'un traitement préventif, une crise de rejet peut survenir, le risque maximal se situant pendant la première année. Le traitement mis en œuvre est fonction de la gravité et de l'évolution du rejet.

Ce traitement comprend tout d'abord des corticostéroïdes à haute dose, parfois combinés à des anticorps antilymphocytaires, particulièrement le muromonab-CD3. En cas d'échec, le choix thérapeutique porte alors sur le tacrolimus, du moins en transplantation rénale.^[2]

II.4.4. Les nouvelles molécules en transplantation

Plusieurs molécules à visée thérapeutique actuellement en cours de développement sont susceptibles d'avoir un intérêt en transplantation, qu'elles soient développées directement dans ce champ ou proviennent d'autres domaines de l'immunologie clinique. Les espoirs des transplantateurs se portent sur ces nouveaux composés qui sont également utilisés dans le cadre d'études cliniques de Phase II ou III :^[7]

- ✚ **L'ISA247** : analogue de la ciclosporine A, à l'avantage d'induire moins de diabète post-greffe ;
- ✚ **Le CP-690550** : inhibiteur spécifique de la protéine kinase JAK3, a un effet comparable au tacrolimus sur le taux de rejet aigu et la fonction rénale ;
- ✚ **L'AEB071 (sotrastaurin)** : inhibiteur de la protéine Kinase C, il devrait trouver sa place en association avec l'évérolimus dans les stratégies de minimisation des doses d'anticalcineurines.
- ✚ **L'Alefacept** : est une protéine de fusion comprenant le premier domaine extracellulaire de LFA-3 fusionné à deux domaines constants d'une IgG1 humaine, a été conçu pour empêcher l'interaction entre LFA-3 et CD2, et donc d'interférer avec l'activation des cellules T.

Cette protéine de fusion se lie à la molécule CD2 exprimée sur les lymphocytes T et interagit normalement avec la molécule LFA-3 présente sur les cellules présentatrices d'antigène et participe à la formation et la stabilisation de la synapse immunologique. La signalisation LFA-3-CD2 a un rôle important dans l'activation des lymphocytes T mémoires/ effecteurs, elle augmente la réponse proliférative et cytotoxique des lymphocytes T effecteurs. ^[8]

D'autres molécules, comme les anti-lymphocytes B (Rituximab, Bortezomib, Belimumab et Atacicept) actuellement en développement dans d'autres indications, pourraient être testées en transplantation, en raison de l'implication de l'immunité à médiation humorale dans ce domaine. ^[7]

Chapitre II : Pharmacologie de la Ciclosporine.

I. Historique :

La Ciclosporine (plus rarement *cyclosporine*) est un agent immunosuppresseur dont l'utilisation thérapeutique, dès le début des années 1980, a permis un essor considérable du domaine de la transplantation d'organes en prévenant le rejet des allogreffes.

Son histoire commence en 1969 lorsqu'un chercheur du laboratoire Sandoz (devenu Novartis) à Bâle (Suisse), Hans Peter Frey, rapporte un échantillon de terre prélevé sur la Hardanger Vidda, un haut plateau du sud de la Norvège.

Cette poignée de terre ramassée va conduire à l'isolement d'une nouvelle souche de champignon, le *Tolypocladium inflatum* Gams dont la ciclosporine est parmi les polypeptides produits par ce champignon.

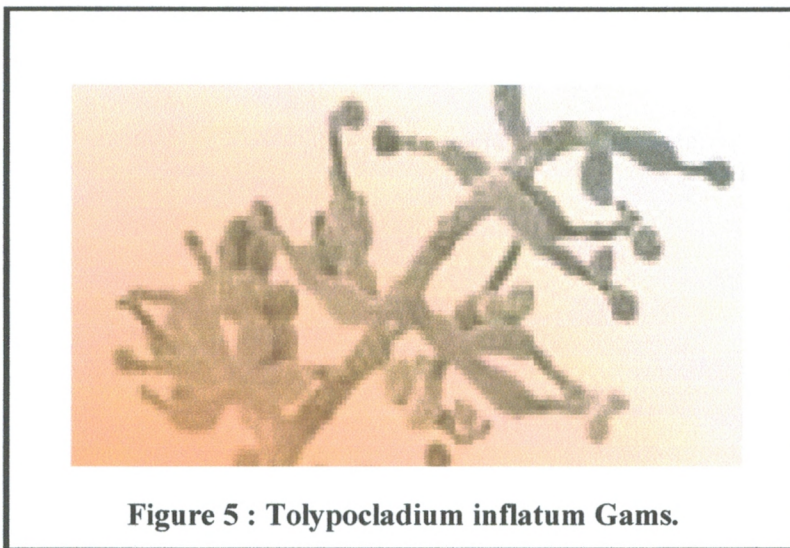


Figure 5 : Tolypocladium inflatum Gams.

Ses propriétés immunosuppressives furent démontrées le 31 janvier 1972 par le docteur Jean-François Borel et son équipe tant *in vitro* qu'*in vivo*, au cours d'une étude sur l'immunosuppression réalisée sur un modèle de souris. En 1975 Rüeegger, autre chercheur du groupe, démontra la structure moléculaire de la ciclosporine comme un polypeptide neutre cyclique de 11 acides aminés par dégradation chimique et rayons X, en collaboration avec Petcher, des mêmes laboratoires Sandoz.

Bien que les études toxicologiques aient montré chez le rat, le chien et le singe une néphrotoxicité certaine, tout semblait réuni, en 1977, pour une entrée en clinique : activité supérieure à

l'azathioprine lors de transplantation de peau, efficacité sur des modèles expérimentaux de maladies auto-immunes, absence de myélotoxicité.

A ce stade, la ciclosporine voit pour la seconde fois son développement fortement compromis. Les études préliminaires chez l'homme montrent que la ciclosporine sous forme de poudre dans des gélules n'est pas absorbée. Von Graffenrich, responsable des essais cliniques, J.F Borel décident d'expérimenter, sur eux, différentes formulations galéniques. La meilleure absorption consiste à diluer la ciclosporine dans un mélange contenant de l'éthanol à 95°, un détergent, le tween 80 (à 3 %). 2 h après l'ingestion de 500 mg de cyclosporine, le taux sanguin s'élève à 1 mg/ml, ce qui est tout à fait convenable. Pour l'administration orale, l'alcool sera remplacé ultérieurement par de l'huile d'olive.

L'efficacité de la ciclosporine A dans la prévention du rejet des allogreffes fut démontrée d'abord pour les transplantations hépatiques par le docteur Thomas Starzl, de l'Université de Pittsburgh. La première patiente à en avoir bénéficié était une femme de 28 ans, le 9 mars 1980. La Ciclosporine fut autorisée en 1983 d'abord en suisse sous le nom de Sandimmun® puis dans les mois suivants en Europe et aux Etats-Unis, suivie en 1995 par une nouvelle formulation galénique sous forme d'une microémulsion commercialisée sous le nom de Néoral® ou de Néoral-Sandimmun® selon les pays. Aujourd'hui encore largement employée en transplantation (peau, cœur, rein, poumons, pancréas, moelle osseuse, intestin grêle), quoique concurrencée par des molécules plus récentes, la ciclosporine a également des applications en dermatologie et dans le traitement de certaines maladies auto-immunes. ^[10]

II. Structure :

La ciclosporine est un polypeptide cyclique, neutre, très lipophile qui n'est soluble que dans les lipides et les solvants organiques, constitué de 11 acides aminés. Tous les azotes portent soit une liaison hydrogène, soit un méthyle. La ciclosporine contient un résidu D-aminoacide en position 8 et l'azote méthylé entre les aminoacides en position 9 et 10 est en configuration cis. ^[16] Sa dénomination scientifique est Cyclosporine A (CsA, CyA). Sa formule brute est C₆₂ H₁₁₁ N₁₁ O₁₂ soit une masse moléculaire de 1202,6 g/mol. Sa formule développée est reportée sur la figure 6.

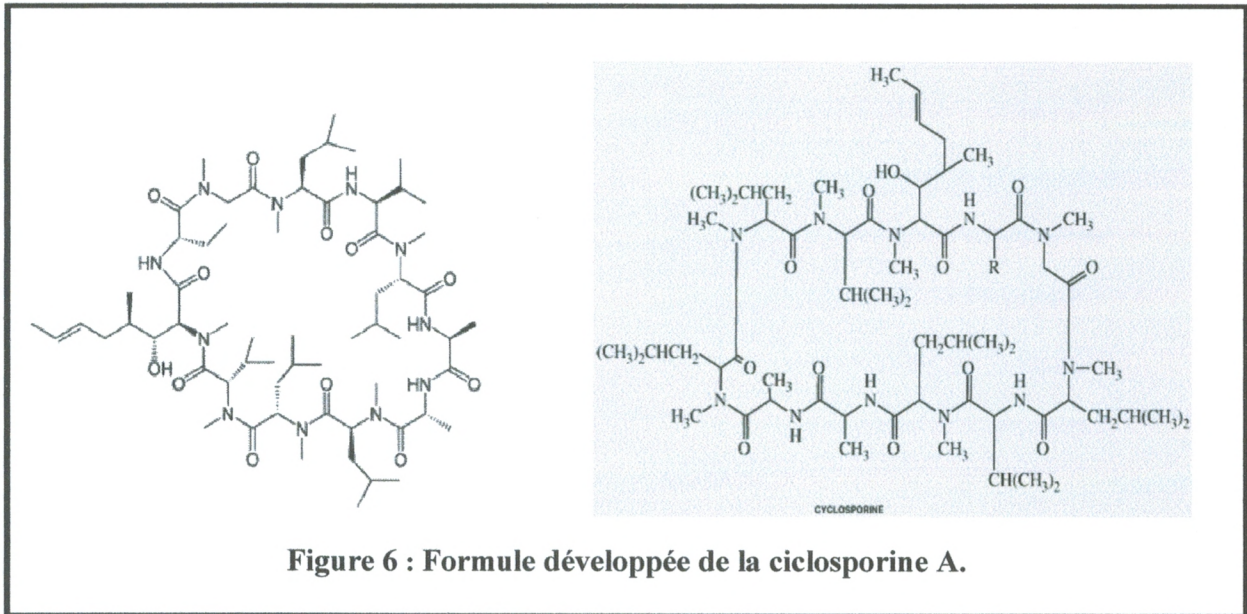


Figure 6 : Formule développée de la ciclosporine A.

III. Formes galéniques, voies et modes d'administration :

III.1. Formes galéniques :

Il existe deux formulations différentes :

III.1.1. Sandimmun® (SIM)

- ✚ Capsules molles à 25 mg (rose), 50 mg (jaune maïs) et 100 mg (vieux rose) : boîtes de 50, sous plaquettes thermoformée.
- ✚ Solution buvable à 100mg/ml : flacons 50 ml avec pipette.
- ✚ Solution injectable à 50 mg /ml pour perfusion intraveineuse (ampoules de 1 et 5 ml) ; boîte de 10.

a. Composition :

| | |
|--------------------------------|-----------|
| a₁. Capsule: | p capsule |
| Ciclosporine | 25 mg |
| ou | 50mg |
| ou | 100 mg |

Excipients : éthanol, huile de maïs interestérifiée, huile de maïs.

Enveloppe de la capsule : oxyde de fer rouge (capsule à 25 mg et 100 mg), oxyde de fer jaune (capsule à 50 mg), dioxyde de titane, glycérol à 85%, sirop de sorbitol partiellement anhydrisé, gélatine.

Teneur en éthanol : 25 mg/ cap à 25 mg ; 50 mg/ cap à 50 mg ; et 100 mg/ cap à 100 mg.

a₂. Solution buvable : p ml

Ciclosporine 100 mg

Excipients : éthanol, huile de maïs interesterifiée, huile de maïs.

Teneur en éthanol : 100 mg/ ml.

a₃. Solution injectable : p ampoule de 1 ml p ampoule de 5 ml

Ciclosporine 50 mg 250 mg

Excipients : alcool éthylique à 96% (v/v), huile de ricin polyoxyéthylénée (crémophor EL), azote.

Teneur en alcool pur : 33%.

III.1.2. Néoral[®] (NEO) (microémulsion) :

✚ Capsule molle à 10 mg, 25 mg, 50 mg ou 100 mg : Boîtes de 60, sous plaquettes thermoformées.

✚ Solution buvable à 100 mg /ml : flacons de 50 ml avec 2 seringues doseuses (La seringue doseuse de 1 ml est utilisée pour mesurer des volumes inférieurs à 1 ml ; chaque graduation correspond à 5 mg de ciclosporine. La seringue doseuse de 4 ml est utilisée pour mesurer des volumes de plus de 1 ml à 4 ml ; chaque graduation correspond à 10 mg de ciclosporine.

a. Composition :

a₁. Capsule: p capsule

Ciclosporine 10 mg

ou 25 mg

ou 50 mg

ou 100 mg

Excipients (communs) : alphotocophérol, éthanol, propylèneglycol, huile de maïs (mono di et triglycérides), huile de ricin hydrogénée polyoxyéthylénée (40).

Enveloppe de la capsule : dioxyde de titane E 171, glycérol à 85 %, propylèneglycol, gélatine, oxyde de fer noir E 172 (capsules à 25 mg et 100 mg).

a₂. Solution buvable : p ml

Ciclosporine 100 mg

Excipients : alphotocophérol, éthanol, propylèneglycol, huile de maïs (mono di et triglycérides), huile de ricin hydrogénée polyoxyéthylénée (40).

Teneur en éthanol : 94,7 mg/ml.

Ces spécialités sont inscrites sur la liste I des médicaments et sont soumises à une prescription initiale hospitalière d'une durée de 6 mois. [29]

III.2. Modes d'administration :

III.2.1. Voie orale :

Les capsules peuvent être soit avalées intactes, soit mâchées (avec un grand verre d'eau). La solution buvable de ciclosporine doit être diluée juste avant l'administration, dans un récipient en verre (éviter les récipients en plastique) avec une boisson froide. [16]

La solution diluée doit être absorbée intégralement après agitation soigneuse.

Après utilisation, essuyer soigneusement la pipette (ou la seringue) avec un mouchoir en papier propre et sec et la remettre dans son étui. Ne pas rincer la pipette.

Compte tenu d'interférences avec la pharmacocinétique de la ciclosporine, très variables d'un patient à l'autre, l'emploi de jus de pamplemousse est formellement déconseillé. [29,30]

III.2.2. Voie intraveineuse :

La solution pour perfusion doit être diluée, avant utilisation, dans la proportion de 1/20 à 1/100 dans une solution isotonique de chlorure de sodium à 0,9% ou de glucose à 5% et administrée en perfusion I.V lente de 2 à 6 h. Elle peut également être administrée en perfusion continue sur 24 h. [13] Utiliser si possible des récipients en verre. La solution diluée pour perfusion doit être placée dans un récipient en verre ou, à défaut, en matériel synthétique conforme aux normes de la Pharmacopée européenne pour les récipients destinés à contenir du sang, en raison d'une attaque partielle, éventuelle, de certains matériaux plastiques polychlorure de vinyle (PVC) par l'excipient. [30]

IV. Pharmacocinétique:

IV.1. Absorption et biodisponibilité :

L'absorption de la ciclosporine se fait essentiellement au niveau du duodénum et du jéjunum. Elle est incomplète et fait l'objet d'une grande variabilité intra-et interindividuelle. La première forme commercialisée de la ciclosporine, Sandimmun[®], était une préparation huileuse dont l'absorption intestinale est faible dépendant de la bile et sujette à d'importantes variations. Ces inconvénients ont pu être en partie améliorés par l'introduction en 1995 de la microémulsion préconcentrée (Sandimmun-Néoral[®]) rendant le profil d'absorption de la ciclosporine peu dépendant des sels biliaires, des enzymes pancréatiques et de l'absorption des aliments. [12] Cette faible absorption pourrait être due pour les deux formes galéniques au rôle de reflux de la

glycoprotéine P (P-gp), protéine transporteur assurant l'efflux des composés endogènes et des xénobiotiques, ainsi qu'à un effet de premier passage intestinal et hépatique par le cytochrome P450 3A4 (15 à 30 % de la dose de ciclosporine seraient ainsi métabolisés avant d'atteindre la circulation systémique).^[27] Solution buvable et capsules de Sandimmun[®] sont bioéquivalentes. Leur biodisponibilité absolue est de 20 à 50% et la concentration maximale sanguine obtenue au bout d'un temps de 3,5 h en moyenne (1 à 6 h).

Solution buvable et capsules de Néoral[®] sont également bioéquivalentes.

Leur biodisponibilité absolue est supérieure de 29 % à celle observée sous Sandimmun[®] (augmentation de L'AUC) ; C_{max} est rapidement atteinte et elle est obtenue en 1h de moins et supérieure de 59 % à celle observée sous Sandimmun[®] tandis que les concentrations résiduelles sous Néoral[®] et Sandimmun[®] sont comparables.^[20]

IV.2. Distribution :

Sa distribution dans le sang est particulière puisque sa répartition sanguine est d'environ 33 à 47% dans le plasma, 10 à 20% dans les leucocytes et 41 à 56% dans les hématies. C'est pourquoi, les concentrations sanguines de ciclosporine sont trois fois supérieures à celle du plasma. Ceci a pour conséquence, compte d'un équilibre instable entre les différents compartiments sanguins, qu'il est nécessaire de doser la ciclosporine sur un échantillon de sang total.^[21] Dans le plasma, la ciclosporine est liée aux protéines plasmatiques, principalement aux lipoprotéines, pour environ 90%.

Mis à part une séquestration importante dans les hématies, la ciclosporine est largement distribuée, principalement dans l'espace extravasculaire et notamment dans les territoires lipophiles.^[20]

Le volume de distribution (Vd) est de 13 l/Kg.^[20,16] La clairance est faible, en moyenne 6-10 ml/min/kg.^[9]

IV.3. Métabolisme :

La ciclosporine est métabolisée par le système enzymatique du cytochrome P450 3A4 en 30 métabolites au moins. Le métabolisme se fait essentiellement au niveau du foie mais aussi au niveau de la paroi intestinale et du rein. Les métabolites sont désignés par A pour ciclosporine A, puis M pour métabolite et finalement par un numéro indiquant l'acide aminé sur lequel se produit la modification. L'utilisation de 2 numéros indique une transformation similaire à deux emplacements. Lorsque ni un n (qui désigne une N-déméthylation) ou un c (qui désigne une cyclisation) n'est indiqué, il s'agit d'une hydroxylation.^[2] Les principales voies de biotransformation relèvent

d'hydroxylation (AM1, AM9, AM19), de N-déméthylation (AM4N : métabolite 4N-déméthylé) et cyclisation (AM1C). (Figure 7)

Certains métabolites sont actifs, le principal est l'AM1, suivi de l'AM9, qui ont une activité immunosuppressive correspondant à 10-20% de celle de la molécule mère.

Il a été montré que l'augmentation des concentrations de l'AM1 et AM9 était liée à la néphrotoxicité. Les concentrations des principaux métabolites AM1 et AM9 sont détectables pendant les 12 h de l'intervalle de prise. Les concentrations de l'AM1 sont comparables à celles de la molécule mère alors que les concentrations d'AM9 sont inférieures de moitié.

Les profils pharmacocinétiques des métabolites présentent une allure semblable à celui de la ciclosporine. NEO et SIM ont des profils métaboliques comparables. [20]

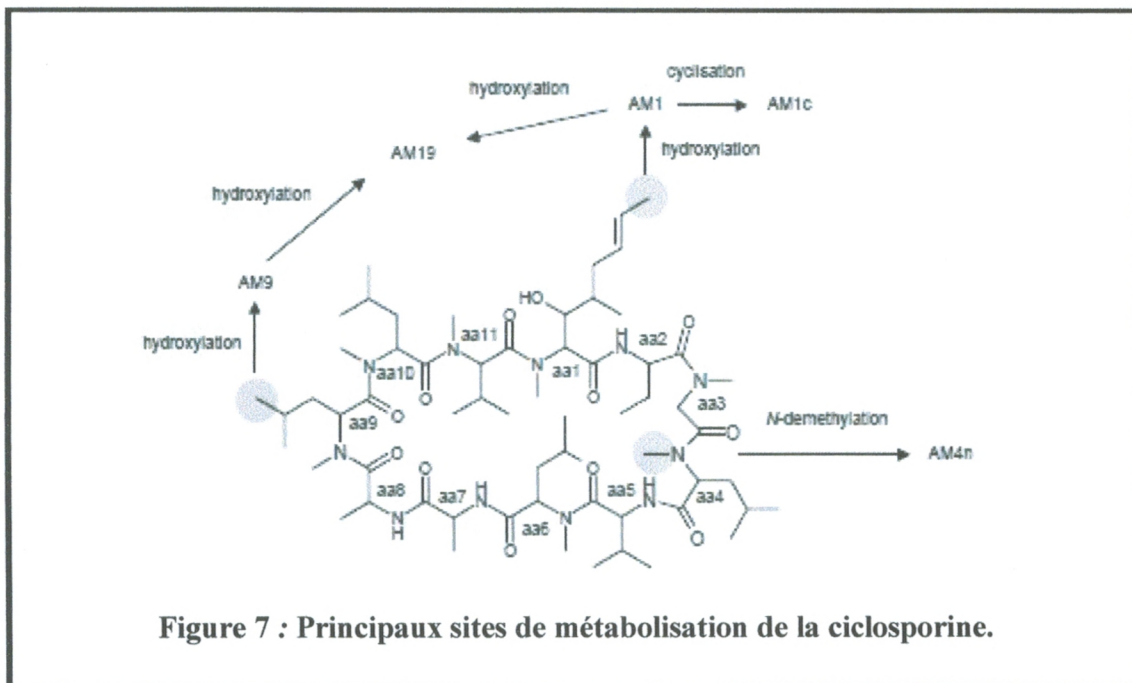


Figure 7 : Principaux sites de métabolisation de la ciclosporine.

IV.4. Elimination :

L'excrétion est essentiellement biliaire : seulement 6 % de la dose sont retrouvés dans les urines après administration orale, dont 0,1 % sous forme inchangée.

Après administration orale, l'élimination sanguine est biphasique avec une première phase alpha rapide (temps de demi-vie $t_{1/2\alpha}$: 1 à 2 heure), suivie d'une deuxième phase bêta plus longue avec $t_{1/2\beta}$ d'environ 8h (5-18 h) pour le NEO, et 19 h (10-27 h) pour le SIM. L'état stable est atteint en 1 à 4 j pour le NEO, en 2 à 6 j pour le SIM. La ciclosporine est excrétée dans le lait maternel. [20]

IV.5. Facteurs de variation de la pharmacocinétique :

IV.5.1. Age : il n'a pas été montré de modifications notables des paramètres pharmacocinétiques de la ciclosporine avec l'âge.

IV.5.2. Insuffisance rénale : elle a peu d'influence, la ciclosporine étant essentiellement éliminée par voie digestive. Bien que plusieurs études cliniques suggèrent que le dysfonctionnement rénal dans la période post-greffe précoce aurait une influence sur la pharmacocinétique de la ciclosporine, ceci n'a jamais été clairement démontré.

IV.5.3. Insuffisance hépatique : compte tenu du métabolisme de la ciclosporine, un ajustement de posologie peut être nécessaire en cas de dysfonctionnement hépatique sévère. L'insuffisance hépatobiliaire peut diminuer considérablement la biodisponibilité de la forme SIM.

IV.5.4. Nourriture : l'ingestion d'un repas gras retarde significativement l'absorption de la formulation ancienne mais pas celle de la forme microémulsion. Cette différence a des implications importantes en termes d'ajustement individuel de la posologie de SIM pour les patients suivis en externe.

IV.5.5. Poids, taille : ces paramètres ne modifient pas de manière significative les paramètres pharmacocinétiques de la ciclosporine (expression des doses en mg/j). Toutefois, à l'instauration du traitement, le poids peut être pris en compte pour déterminer la dose initiale, notamment par voie parentérale (en perfusion continue).

IV.5.6. Rythme d'administration : possibilité de fractionner la prise pour diminuer la fluctuation des concentrations sanguines.

IV.5.7. Polymorphisme génétique. ^[20]

V. Mécanisme d'action pharmacologique :

L'activité immunosuppressive de la CsA résulte de son action inhibitrice de la calcineurine, après formation d'un complexe intracellulaire par liaison à la cyclophiline qui appartient à la famille des immunophilines.

La cyclophiline A (CypA) et la cyclophiline B (CypB), qui sont les isoformes de cyclophilines les plus abondantes au niveau cellulaire, présentent une activité enzymatique peptidyl-prolyl isomérase (ou rotamase) et sont impliquées dans le repliement des protéines cellulaires en catalysant la formation de ponts disulfures.

Au niveau cellulaire la CypA est une protéine cytoplasmique, alors que CypB est localisée au niveau du réticulum endoplasmique.

La calcineurine, enzyme clé dans la cascade de signalisation intracellulaire activée lors de stimulation antigénique, est une sérine/thréonine phosphatase calcium- et calmoduline dépendante intervenant dans la réponse immunitaire des lymphocytes.

La stimulation de lymphocytes T par un antigène provoque l'activation de la phospholipase C qui hydrolyse le phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate (PIP₂) en inositol-triphosphate (IP₃) et en diacylglycérol (DAG). L'IP₃ entraîne une libération de calcium intracellulaire et une activation de la calmoduline, laquelle s'unit à la calcineurine. Le complexe calmoduline-calcineurine déphosphoryle le NF-AT qui est présent dans les cellules lymphoïdes quiescentes à l'état phosphorylé NF-AT-p.

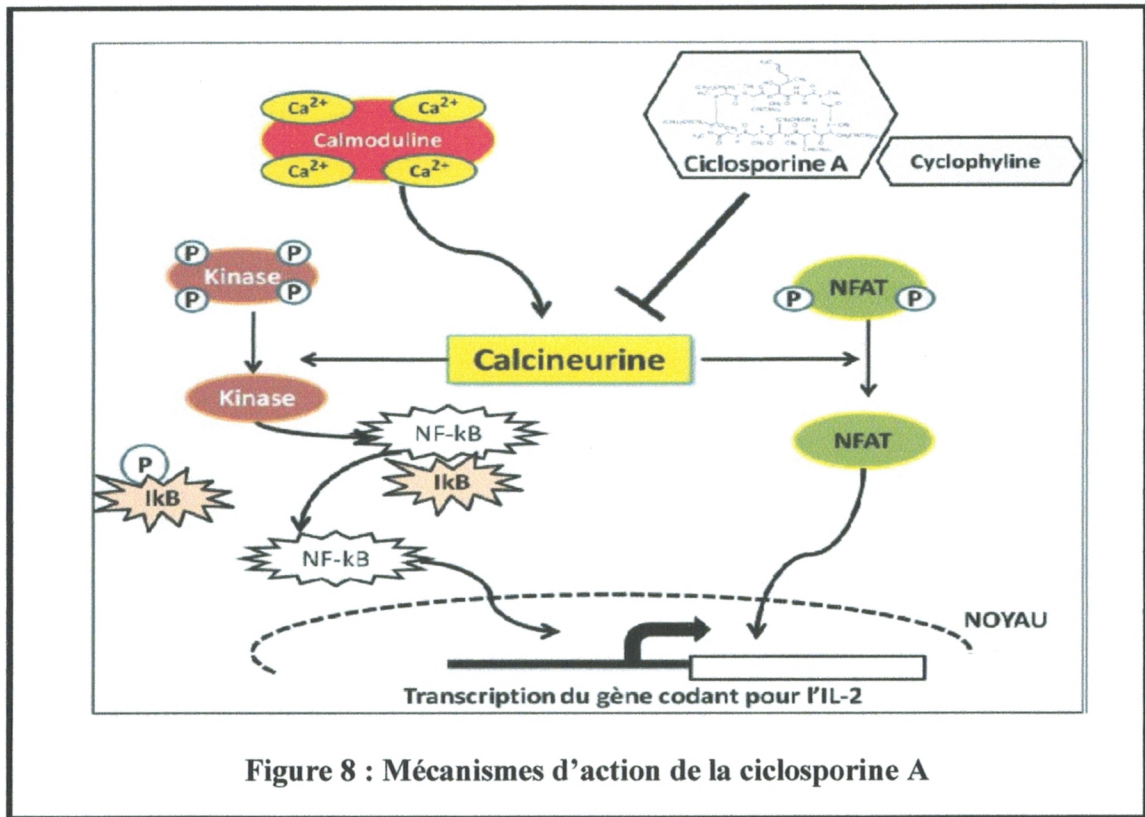
Le NF-AT déphosphorylé pénètre dans le noyau et active la transcription du gène de (IL- 2). L'IL-2 ainsi produit par les lymphocytes T activés exerce des effets de type autocrine et paracrine en activant des récepteurs situés sur la membrane de diverses cellules, lymphocytes T et lymphocytes NK, lymphocytes B activés.

De son côté, le DAG active la PKC qui phosphoryle la protéine IκB (inhibitor of NF-κB). IκB est associée dans le cytoplasme au facteur de transcription NF-κB sous forme d'un complexe inactif. La phosphorylation d'IκB libère NFκB qui est transloqué vers le noyau. Ces facteurs permettent la transcription des gènes des cytokines principalement l'IL-2 et également la chaîne α de son récepteur. [7]

L'IL-2 est un facteur de croissance pour les lymphocytes T. Elle active leur transformation en lymphocytes T cytotoxiques de type CD8⁺ qui sécrètent l'interféron γ, lequel stimule la libération par les macrophages de TNFα et de TGF β (Transforming Growth Factor β). L'IL-2 stimule la croissance et l'activité cytolytique des cellules NK (natural killer). Elle stimule la maturation des lymphocytes B et la synthèse d'anticorps. Par ces actions l'IL-2 participe à la défense de l'organisme contre les protéines qui lui sont étrangères, en particulier celles du greffon.

La fixation des complexes CsA-cyclophiline A à la calcineurine permet d'inhiber son activité phosphatase. Cette inhibition conduit ainsi à un blocage de transcription de l'IL-2 en empêchant la translocation nucléaire des facteurs de transcription notamment le NFAT et le NF-κB dans les lymphocytes T activés et par conséquent l'inhibition de la synthèse d'IL-2, mais aussi d'autres cytokines intervenants dans le rejet de greffe tels que l' IL-3 , IL-4, GM-CSF, TNFα et IFN γ. [18] L'action moléculaire de la ciclosporine est spécifique et réversible. Contrairement aux agents cytostatiques, la ciclosporine ne déprime pas l'hématopoïèse (elle respecte en particulier les polynucléaires) et ne modifie pas la fonction de phagocytose, ni les mécanismes de défense anti-infectieuse. [20,21]

Contrairement aux autres immunosuppresseurs, la cyclosporine n'interfère pas avec le métabolisme de l'ADN, ce qui explique qu'elle soit dépourvue d'effet myélotoxique et mutagène et qu'elle n'induit pas de lymphopénie. [10]



VI. Indications, posologie et périodicité d'administration

VI.1. Indications :

VI.1.1. Formes orales et injectable :

+ Greffes d'organes et de tissus:

- Prévention du rejet du greffon;
- Traitement du rejet, chez des patients initialement traités par d'autres protocoles immunosuppresseurs (pour éviter les risques associés à une immunodépression trop forte).

+ Greffes de moelle :

- Prévention du rejet après greffe;
- Traitement préventif ou curatif de la maladie du greffon contre l'hôte. [29]

VI.1.2. Formes orales :

- Traitement de deuxième intention des syndromes néphrotiques cortico-dépendants et cortico-résistants avec lésions glomérulaires minimales, ou hyalinoses segmentaires et focales primitives de l'adulte et de l'enfant.
- Traitement de 2^o intention des formes étendues et sévères de psoriasis, en cas d'inefficacité, d'intolérance ou de contre-indications des traitements classiques (puvathérapie, rétinoïdes...).
- Traitement de 2^o intention des formes sévères de dermatite atopique de l'adulte, en cas d'échec, d'intolérance ou de contre-indications des traitements classiques (photothérapie et/ou photochimiothérapie).
- Traitement de 2^o intention des formes actives et sévères de polyarthrite rhumatoïde en cas d'inefficacité, d'intolérance ou de contre-indications des traitements classiques, y compris le méthotrexate.
- Traitement des aplasies médullaires acquises sévères ne pouvant bénéficier d'une greffe de moelle osseuse allogénique.
- Indications en cours d'évaluation : myasthénies qui ne réagissent pas favorablement au traitement par l'azathioprine associée aux corticoïdes, diabète insulino-dépendant, uvéites intermédiaires ou postérieures non infectieuses sévères, menaçant la vision, en cas d'échec de la corticothérapie, cirrhoses biliaires primitives. ^[13]

VI.2. Posologie :

La ciclosporine est généralement administrée en deux prises par jour.

Un contrôle régulier de la créatininémie doit être systématiquement effectué, ainsi qu'un contrôle régulier de la pression artérielle.

Lorsque l'adaptation posologique se fait en fonction des concentrations sanguines, il est recommandé de doser la ciclosporine dans le sang total. Si le plasma est utilisé, des conditions strictes de séparation plasma-hématies et de température (2 h ; 22 °C) sont à respecter.

Chez l'enfant, la posologie n'est pas différente de celle de l'adulte.

Les données disponibles sont insuffisantes chez les patients âgés de 65 ans et plus. Par conséquent, rien n'indique que la posologie des patients âgés soit différente de celles des patients jeunes. D'une façon générale, il est prudent d'ajuster les doses chez les sujets âgés, en débutant habituellement par la plus faible dose de la fourchette thérapeutique, pour tenir compte de la fréquence de survenue plus élevée d'atteinte des fonctions hépatique, rénale ou cardiaque ainsi que des maladies concomitantes ou autres traitements associés.

La dose initiale de SIM I.V est de 3 à 5 mg/kg/j. l'administration quotidienne de cette dose se poursuit durant une période d'au plus 2 semaines après l'intervention, jusqu'à ce que le patient puisse tolérer les capsules ou la solution orale. Les patients devraient passer aux capsules ou à la solution buvable dès que possible après l'intervention. ^[25,26]

Tableau II : posologie et intérêt de l'adaptation posologique de la CsA en fonction de l'indication. ^[20,22]

| INDICATIONS | POSOLOGIE | TRAITEMENT ASSOCIE POSSIBLE | ADAPTATION POSOLOGIQUE (TRAITEMENT D'ENTRETIEN) |
|---|---|---|--|
| Greffes d'organes et de tissus, (rein, cœur, foie, pancréas, poumon, intestin grêle), greffes de moelle osseuse | <i>Doses initiales</i> : de 6 à 15 mg/kg/jour, avec décroissance progressive vers les doses d'entretien. <i>Doses d'entretien</i> : comprises entre 2 et 6 mg/kg/jour | Ciclosporine seule, ou associée à des doses réduites de corticostéroïdes, éventuellement à de faibles doses d'azathioprine. | Fonction du dosage régulier de ciclosporine dans le sang total et du rapport efficacité/tolérance. |
| Syndromes néphrotiques cortico-dépendants et cortico-résistants | <i>Dose initiale</i> : 5 mg/kg/jour 2,5 mg/kg/jour en cas d'insuffisance rénale pré-existante <i>Dose maximale chez l'adulte</i> : 5 mg/kg/jour <i>Dose maximale chez l'enfant</i> : 6 mg/kg/jour | Lorsque l'efficacité de la ciclosporine en monothérapie est insuffisante, l'association ciclosporine-faible dose de corticostéroïdes est possible, et recommandée chez les patients cortico-résistants. | Ces doses seront ajustées individuellement en fonction de l'efficacité (protéinurie) et de la tolérance rénale (créatininémie), à la recherche de la dose minimale efficace. Arrêt en cas d'inefficacité après 3 mois. |
| Psoriasis étendu et sévère | <i>Dose initiale</i> : 2,5 mg/kg/jour. Une dose initiale de 5 mg/kg/jour est justifiée lorsque la gravité du psoriasis rend nécessaire un effet rapide <i>Dose maximale</i> : 5 mg/kg/jour | Traitements locaux. | Fonction du rapport efficacité/tolérance, à la recherche de la dose minimale efficace. Arrêt en cas d'inefficacité après 6 semaines à 5 mg/kg/jour. |

| | | | |
|---|--|--|--|
| <p>Dermatite atopique sévère de l'adulte</p> | <p><i>Dose initiale:</i> 2,5 mg/kg/jour ; 5 mg/kg/jour pour les formes particulièrement sévères <i>Dose d'entretien:</i> 2,5 à 5 mg/kg/jour <i>Dose maximale:</i> 5 mg/kg/jour</p> | <p>Traitements locaux.</p> | <p>Fonction du rapport efficacité/tolérance. Interruption en cas de non-réponse après 2 mois à 5 mg/kg/jour</p> |
| <p>Polyarthrite rhumatoïde active et sévère</p> | <p><i>Dose initiale:</i> 2,5 mg/kg/jour <i>Dose maximale:</i> 5 mg/kg/jour. Une durée de traitement de 12 semaines peut être nécessaire pour atteindre une pleine efficacité</p> | <p>Association aux corticostéroïdes à faibles doses et /ou aux anti-inflammatoires non stéroïdiens.</p> | <p>Fonction du rapport efficacité/tolérance, à la recherche de la dose minimale efficace.</p> |
| <p>Uvéites non infectieuses sévères</p> | <p><i>Dose initiale:</i> 5 mg/kg/jour</p> | <p>Association aux corticostéroïdes à faibles doses.</p> | <p>Dose initiale poursuivie, en tenant compte de la tolérance, jusqu'à la rémission des phénomènes inflammatoires et l'amélioration de l'acuité visuelle.</p> |
| <p>Aplasies médullaires acquises sévères</p> | <p><i>Dose initiale:</i> 6 mg/kg/jour</p> | <ul style="list-style-type: none"> • Association possible aux stéroïdes dans les aplasies sévères (polynucléaires neutrophiles compris entre 200 et 500/mm³). • Association aux stéroïdes et/ou parfois au sérum antilymphocytaire dans les aplasies très sévères (<200/mm³). | <p>La posologie initiale sera ensuite adaptée pour maintenir des taux résiduels correspondant à 150 ng/ml de ciclosporine dans le sang total. Arrêter le traitement par la ciclosporine en l'absence de réponse hématologique, au moins partielle, après 3 mois.</p> |

VI.3. Conversion des formes orales de Sandimmun[®] à Néoral[®] :

La conversion ne doit pas être systématique.

Elle doit être réservée aux patients chez lesquels une mauvaise absorption de SIM ne permet pas d'atteindre les concentrations sériques recherchées malgré l'augmentation des doses de SIM.

Elle doit être réalisée avec précaution.

Pour toutes les indications, les données disponibles indiquent qu'après conversion des formes orales de SIM à NEO, les concentrations minimales de ciclosporine dans le sang total sont comparables dans la majorité des cas. Chez un petit pourcentage de patients présentant une mauvaise absorption de la ciclosporine (transplantés hépatiques avec troubles de la sécrétion biliaire, mucoviscidose, les enfants ou certains transplantés rénaux), on peut observer, dès la conversion aux mêmes doses de SIM à NEO, une exposition fortement augmentée au médicament : les doses de NEO doivent être réajustées individuellement, en fonction des concentrations sanguines résiduelles et des paramètres de surveillance (pression artérielle, dosage de la créatininémie), et en prenant en compte également la concentration sanguine à T=2 h (appelée C2).^[22]

Les recommandations quant aux schémas de conversion sont les suivantes :

- ✚ Dans les indications « transplantations », le traitement par Néoral doit être instauré aux mêmes doses. La concentration résiduelle de ciclosporine dans le sang total doit être déterminée dans les 4 à 7 jours après la conversion, de même que les autres paramètres de surveillance (PA, créatininémie...). La ciclosporinémie résiduelle, la créatininémie et la pression artérielle seront contrôlées de manière plus rapprochée pendant les 3 mois qui suivent la conversion à Néoral.
- ✚ Dans les indications « maladies auto-immunes », deux schémas de conversion sont possibles:
 - Dans les cas où une perte d'efficacité n'est pas acceptable pour le patient (diminution sévère de l'acuité visuelle dans les uvéites, rechute d'une aplasie médullaire ou d'un syndrome néphrotique), une conversion aux mêmes doses est recommandée, suivie d'une adaptation posologique si nécessaire.
 - Dans les cas où le risque d'une baisse passagère de l'exposition à la ciclosporine est acceptable (psoriasis et polyarthrite rhumatoïde, par exemple), une conversion à la dose la plus faible (2,5 à 3 mg/kg/jour) est conseillée. Un ajustement posologique individuel peut ensuite être nécessaire pour atteindre la dose minimale efficace.^[20,29]

VII. Contre-indications

- Hypersensibilité connue à la ciclosporine ou à l'un des excipients.
- Millepertuis, stiripentol, bosentan, rosuvastatine.
- Occlusion intestinale, en raison de la présence d'un dérivé d'huile de ricin.
- Infections mal contrôlées.

- Antécédents d'affections malignes ou affections malignes évolutives.
- Insuffisance rénale.
- Hypertension artérielle non contrôlée.
- Insuffisance hépatique.
- Patient antérieurement traité par l'arsenic (liqueur de Fowler) (spécifique en cas d'indication au psoriasis).
- Patients ayant présenté des kératoses pré-épithéliomateuses ou des carcinomes cutanés sous puvathérapie (spécifique en cas d'indication au psoriasis). ^[26,29]

VIII. Mises en garde/ Précautions d'emploi :

VIII.1. Mises en garde :

VIII.1.1. Formes orales et injectable :

- Le traitement par la ciclosporine doit être prescrit avec prudence en cas d'hyperuricémie ou d'hyperkaliémie.
- Eviter les apports supplémentaires en potassium (y compris alimentaire) et les diurétiques d'épargne potassique.
- En raison de la présence d'un dérivé de l'huile de ricin, risque de sensibilisation, notamment chez l'enfant de moins de 3 ans.
- L'attention du prescripteur est attirée sur la différence de biodisponibilité entre les différentes formulations de ciclosporine et sur la confusion possible lorsque la prescription est faite sous le nom du principe actif.
- En cas de conversion du traitement par la ciclosporine vers une autre formulation, il convient d'établir un suivi approprié de la ciclosporinémie, de la créatininémie et de la tension artérielle.
- Du fait du risque accru de survenue de cancer cutané, il est fortement déconseillé aux patients de s'exposer de façon prolongée au soleil sans protection, ou de traiter de façon concomitante un patient par ciclosporine et puvathérapie ou irradiation UVB. ^[22,29]

VIII.1.2. Forme injectable :

- Compte-tenu du risque de réactions anaphylactiques avec la voie intraveineuse, cette dernière doit être réservée aux cas où l'administration orale est impossible, et son remplacement par la solution buvable ou les capsules doit être effectuée dès que possible.

- Lorsqu'il existe des troubles gastro-intestinaux susceptibles d'entraver l'absorption du produit, il est préférable de commencer le traitement par la solution pour perfusion intraveineuse qui sera remplacée par la voie orale dès que possible.

- Les ampoules injectables de SIM renferment, comme excipient, un dérivé d'huile de ricin susceptible d'entraîner des réactions anaphylactoïdes (œdème pulmonaire non cardiogénique, bouffées de chaleur, rechute tensionnelle, détresse respiratoire aiguë avec dyspnée...).

La perfusion IV doit être effectuée sous surveillance médicale stricte : continue pendant au moins les 30 premières minutes, puis à intervalles fréquents. L'administration préalable d'un antihistaminique a été recommandée par certains auteurs. La survenue d'une réaction anaphylactoïde impose l'interruption de la perfusion et l'administration de corticoïdes intraveineux de plus, une source d'oxygène doit être disponible à proximité du lit du patient. [22,29]

VIII.2. Précautions d'emploi :

- La créatininémie doit être dosée préalablement au traitement. Une élévation, généralement dose-dépendante et réversible, de la créatininémie et de l'urée sanguine est fréquemment observée lors du traitement : elle en représente la ciclosporine potentielle la plus sérieuse.

- Surveiller attentivement la tension artérielle, la bilirubinémie et des concentrations sanguines des enzymes hépatiques pendant toute la durée du traitement.

- Tenir compte de la teneur en alcool chez les personnes souffrant de maladie de foie, d'alcoolisme, d'épilepsie, de même que chez les femmes enceintes ou qui allaitent et les enfants.

- Liées à l'indication greffe d'organes et de tissus, greffe de moelle osseuse :

- ✓ En cas d'association à d'autres immunosuppresseurs, utiliser les doses réduites d'autres immunosuppresseurs car il y a majoration de l'immunosuppression avec risque d'infection et éventuellement de syndromes lymphoprolifératifs.

- Liées aux autres indications (syndromes néphrotiques, polyarthrite rhumatoïde, psoriasis, uvéite aplasies médullaires acquises, dermatite atopique) :

- ✓ Le contrôle de la fonction rénale doit être effectué par le dosage de la créatinine plasmatique toutes les 2 semaines pendant les 3 mois, puis toutes les 4 semaines. En cas d'augmentation de plus de 30% par rapport à la créatininémie basale, réduire la dose de 25% à 50%. Si cette augmentation persiste malgré la réduction de la dose, interrompre le traitement.

- ✓ Surveillance orientée : en cas d'apparition d'un syndrome lymphoprolifératif, arrêter le traitement.

- ✓ Surveillance tensionnelle : en cas d'hypertension résistant au traitement antihypertenseur interrompre le traitement. [29]

IX. Grossesse/ Allaitement :

IX.1. Grossesse :

Les études effectuées chez l'animal n'ont pas mis en évidence d'effet tératogène, mais des effets embryo et fœtotoxiques. En l'absence d'effet tératogène chez l'animal, un effet malformatif dans l'espèce humaine n'est pas attendu.

En clinique, l'utilisation de la ciclosporine sur des effectifs limités n'a apparemment révélé aucun effet malformatif à ce jour. Toutefois, des études complémentaires sont nécessaires pour évaluer les conséquences d'une exposition au cours de la grossesse.

Ont été retrouvés, chez les enfants nés de patientes traitées par ciclosporine au long cours, une prématurité et un retard de croissance intra-utérin ; toutefois, la part respective du traitement et de la maladie n'est pas évaluée.

En conséquence, l'utilisation de la ciclosporine ne doit être envisagée au cours de la grossesse que si nécessaire. [29]

IX.2. Allaitement :

En raison du passage dans le lait maternel, l'allaitement maternel est déconseillé en cas de traitement par la ciclosporine. [29]

X. Surdosage :

Les connaissances pratiques sont, à cet égard, limitées. Un traitement symptomatique et une surveillance attentive sont recommandés. Un lavage gastrique peut être institué dans les premières heures. Des signes de toxicité (notamment rénale) ont été éventuellement observés, avec régression possible après arrêt de la ciclosporine.

La ciclosporine ne peut être éliminée efficacement ni par la dialyse ni par l'hémo-perfusion sur charbon activé. [29]

XI. Effets indésirables :

Les réactions indésirables ci-après ont été observées lors de l'administration de Sandimmun® et sont également susceptible de survenir au cours du traitement par Néoral®.

De nombreux effets indésirables associés au traitement par la ciclosporine sont liés à la dose et répondent à une réduction de celle-ci. Le tableau global des effets indésirables est pratiquement le

même dans toutes les indications. Cela dit, on constate des différences au chapitre de la fréquence de ces effets et de leur gravité. Puisque la transplantation exige l'administration de doses initiales plus élevées et un traitement d'entretien plus long, les effets indésirables sont plus fréquents et généralement plus graves chez les greffés que chez les patients traités pour d'autres indications. [25]

Un choc anaphylactique peut être observé, dû à la présence de crémophor EL dans la préparation pour administration intraveineuse. [13,25]

XI.1. Troubles rénaux :

La néphrotoxicité c'est l'effet indésirable majeur qui se manifeste par une augmentation de la créatininémie et de l'urémie, dont la gravité a été réduite par l'utilisation de doses plus faibles par rapport aux protocoles initiaux. Elle peut s'exprimer de façon aiguë, par l'effet vasoconstricteur de la molécule. Cet effet est dose dépendant et réversible avec la réduction de posologie. Elle peut également se manifester de façon chronique avec fibrose interstitielle, du fait de sa toxicité sur les cellules tubulaires, non réversibles, d'où le développement de schéma thérapeutique intégrant des les premiers mois de greffe une épargne voire un arrêt complet des anticalcineurines. [13, 25,29]

XI.2. Troubles cardiovasculaires :

L'apparition d'une hypertension artérielle (HTA) est très fréquente; elle est causée par la vasoconstriction de l'artériole afférente du glomérule conduisant à une augmentation des résistances vasculaires périphériques et à une rétention hydrosodée. [13,25]

XI.3. Infections et infestations :

A l'instar des immunosuppresseurs, la cyclosporine prédispose les patients au développement d'une variété d'infections virales, bactériennes, fongiques et parasitaires souvent par des germes opportunistes. Ces infections peuvent être locales ou générales. [13,25]

XI.4. Néoplasmes bénins, malins et non précisés (incluant kystes et polypes) :

Les patients qui reçoivent des traitements immunosuppresseurs, y compris de la cyclosporine, courent un risque accru de développer des lymphomes ou des affections lymphoprolifératives et d'autres tumeurs malignes, essentiellement cutanées. Les lymphomes non hodgkiniens représentent la majorité des désordres lymphoprolifératifs secondaires à l'immunosuppression.

La prévalence de tumeurs malignes augmente avec l'intensité et la durée du traitement. Certaines tumeurs malignes peuvent être fatales. [13,25]

XI.5. Troubles du système nerveux :

Très fréquent : tremblements, céphalées (y compris la migraine)

Fréquent : paresthésie survenant en début de traitement et se manifestant par des sensations de brûlure des pieds et des mains.

Rares : encéphalopathie avec syndrome confusionnel, crises convulsives, coma, ataxie troubles visuels rares, rarement œdème papillaire pouvant être accompagné d'une atteinte visuelle secondaire à une hypertension intracrânienne bénigne, exceptionnellement cécité corticale, neuropathies périphériques, parésies. [13,25]

XI.6. Troubles digestifs :

Fréquents : nausées, vomissement, douleurs abdominales, diarrhée, anorexie, hyperplasie gingivale (favorisée par une mauvaise hygiène bucco-dentaire et l'utilisation de certaines dihydroxydines).

XI.7. Troubles hépatobiliaires/pancréatique :

Fréquent : la cyclosporine peut provoquer une élévation transitoire de la bilirubinémie et, parfois, des enzymes hépatique (des phosphatases alcalines et des δ GT); ces modifications sont liées à la dose et réversibles.

Rares : hépatotoxicité avec ictère et cytolysse, hépatites cholestatiques réversibles à l'arrêt du traitement, pancréatite. [13, 25,29]

XI.8. Troubles métaboliques et nutritionnels :

Très fréquents : hyperlipidémie caractérisée par une augmentation notable des LDL et des triglycérides.

Fréquents : hyperuricémie avec possibilité des crises de goutte, hypomagnésémie.

Rares : hyperkaliémie (liée à la diminution de l'excrétion urinaire de potassium), hyperglycémie. [13, 25,29]

XI.9. Troubles de l'appareil reproducteur et des glandes mammaires :

Rares : troubles menstruels, gynécomastie. [25]

XI.10. Troubles de l'appareil locomoteur et du tissu conjonctif :

Fréquents : crampes musculaires, myalgie.

Rares : algies polyarticulaires, manifestations bilatérales et symétriques évocatrices d'algodystrophie. [25]

XI.11. Troubles hématologiques:

Peu fréquents : anémie, thrombocytopénie.

Rares : syndrome hémolytique et urémique, d'origine microangiopathique. [25,29]

XI.12. Troubles cutanés :

Fréquents : hypertrichose (hirsutisme).

Peu fréquent : éruption cutanée, acné et alopecie. [25,29]

XII. Interactions médicamenteuses et adaptation posologique :**XII.1. Influence des médicaments associés sur la ciclosporine :**

Les interactions médicamenteuses observées avec la ciclosporine sont :

- ✚ Soit d'ordre pharmacocinétique entraînant une augmentation ou diminution de la ciclosporinémie ;
- ✚ Soit d'ordre pharmacodynamique conduisant à une néphrotoxicité ou à une immunosuppression additive.

En cas d'instauration d'un traitement susceptible d'interférer avec la ciclosporine, un contrôle des concentrations sanguines de ciclosporine et de la fonction rénale doit être envisagé, de même qu'une adaptation éventuelle de la posologie en fonction des résultats observés. [20]

XII.1.1. Interactions médicamenteuses d'ordre pharmacocinétique :

La ciclosporine est métabolisée au niveau hépatique et intestinal par le CYP 3A4. Les inhibiteurs de cet enzyme peuvent augmenter les concentrations sanguines de la ciclosporine, alors que les inducteurs peuvent les diminuer. Ce phénomène est à l'origine de nombreuses interactions médicamenteuses (pharmacocinétiques) entraînant d'éventuels sous-dosages (risque de rejet) ou surdosages (néphrotoxicité).

La ciclosporine est aussi un substrat de la P-gp. Les substances interagissant avec ce système vont avoir une influence sur la pharmacocinétique de ces immunosuppresseurs, principalement par modification de leur biodisponibilité.

a. Inhibition enzymatique :

L'inhibition enzymatique est un processus rapide qui débute dès que l'inhibiteur a atteint une concentration critique; un nouvel équilibre s'établira en fonction de la nouvelle demi-vie du médicament-cible. Dans le cas de la ciclosporine, les conséquences de l'interaction apparaissent dans les 3 à 5 jours suivant l'introduction de l'inhibiteur.

La disparition de l'inhibition survient dès l'élimination de l'inhibiteur (dans le cas d'une inhibition compétitive) et dépend de la demi-vie de ce dernier; les concentrations de la ciclosporine retrouveront l'ancien équilibre 3 à 4 jours après. La conséquence principale d'une augmentation des taux sanguins de ciclosporine est une augmentation de la toxicité. ^[12,27]

b. Induction enzymatique :

L'induction enzymatique est un processus graduel. Il faut en effet attendre quelques jours à quelques semaines pour que les concentrations plasmatiques de l'inducteur se situent dans une zone d'efficacité inductive, que la synthèse des enzymes hépatiques soit maximale et que les concentrations sanguines du médicament-cible soient effectivement diminuées.

Selon l'inducteur, le premier effet détectable débute entre 3 jours et 1 semaine après la première prise et l'effet maximal est atteint en 1 à 3 semaines

La durée de la disparition de l'effet inducteur est située entre 2 et 4 semaines suivant l'inducteur. La conséquence principale d'une diminution des taux sanguins de la ciclosporine est le rejet de greffe. ^[12,27]

Tableau III : Médicaments augmentant la ciclosporinémie. [28,29]

| Classe thérapeutique | Médicament | Mécanisme | Niveau |
|----------------------|--|--|---|
| <i>Antibiotiques</i> | Acide fusidique | | Précaution d'emploi : dosage des concentrations sanguines de ciclosporine, contrôle de la fonction rénale et adaptation de la posologie pendant le traitement et après son arrêt. |
| | Macrolides et apparentés : -Azithromycine, -Clarithromycine, -Erythromycine -Josamycine -Midécamycine -Roxithromycine -Pristinamycine | Risque d'augmentation des concentrations sanguines de ciclosporine et de la créatininémie. (inhibition du métabolisme hépatique de la ciclosporine). | Association déconseillée : - Erythromycine. Précaution d'emploi : - Azithromycine, clarithromycine Josamycine, midécamycine, roxithromycine et Pristinamycine: dosage des concentrations sanguines de la ciclosporine, contrôle de la fonction rénale et adaptation de la posologie pendant l'association et après l'arrêt du macrolide. |
| <i>Antifongiques</i> | -Fluconazole, -Kétoconazole -Itraconazole -Voriconazole | Augmentation des concentrations sanguines de l'immunosuppresseur (par inhibition de son métabolisme hépatique) et de la créatininémie. | Précaution d'emploi : contrôle strict de la fonction rénale, dosage des concentrations sanguines de l'immunosuppresseur, et adaptation éventuelle de la posologie. |

| | | | |
|------------------------------|---|--|--|
| Anti arythmiques | Amiodarone | Augmentation des concentrations sanguines de ciclosporine, par diminution de son métabolisme hépatique, avec risque d'effets néphrotoxiques. | Association déconseillée : dosage des concentrations sanguines de ciclosporine, contrôle de la fonction rénale et adaptation de la posologie de la ciclosporine pendant le traitement par l'amiodarone. |
| Antihistaminiques H2 | Cimétidine | Avec la cimétidine utilisée à des doses supérieures ou égales à 800 mg/j : augmentation des concentrations sanguines de Ciclosporine (inhibition de son métabolisme hépatique) avec risque d'effets néphrotoxiques | A prendre en compte |
| Anti-gonadotropes | Danazol | Augmentation modérée des concentrations sanguines de l'immunosuppresseur. | Précaution d'emploi : dosage des concentrations sanguines de ciclosporine, contrôle de la fonction rénale et adaptation de la posologie pendant l'association et après son arrêt. |
| Inhibiteurs calciques | -Lercanidipine -Diltiazem -Verapamil -Nicardipine | mécanisme évoqué : inhibition du métabolisme hépatique de la ciclosporine. | |
| Anti-protéases | Amprénavir -Indinavir -Lopinavir -Nelfinavir, -Ritonavir -Saquinavir | Augmentation des concentrations sanguines de ciclosporine (par inhibition de son métabolisme hépatique). | Précaution d'emploi : dosage des concentrations sanguines de ciclosporine, contrôle de la fonction rénale et adaptation de sa posologie pendant l'association et après son arrêt. |

| <i>Antiépileptiques</i> | Stiripentol | Augmentation des concentrations sanguines de ciclosporine (par inhibition de son métabolisme hépatique). | Association contre-indiquée |
|-------------------------|--------------------|---|-----------------------------|
| <i>Corticoïdes</i> | Méthylprednisolone | Avec la méthylprednisolone administrée par voie IV : augmentation possible des concentrations sanguines de ciclosporine et de la créatinémie. Mécanisme invoqué : diminution de l'élimination hépatique de la ciclosporine. | A prendre en compte |

En plus la naringénine contenue dans le jus de pamplemousse inhiberait le CYP3A4 causant une augmentation de la biodisponibilité de la CsA.
(Association déconseillée)^[20]

Tableau IV : Médicaments diminuant la ciclosporinémie. [20,29]

| | | | |
|--------------------------|---------------------------------|--|---|
| <i>Antibiotiques</i> | Clindamycine | Diminution des concentrations sanguines de l'immunosuppresseur avec risque de perte de l'activité immunosuppressive. | Précaution d'emploi : Contrôle renforcé des dosages sanguins de ciclosporine et augmentation éventuelle de sa posologie. |
| | Trimethoprime (seul ou associé) | Par voie IV : la diminution des concentrations sanguines de ciclosporine peut être très importante avec disparition possible du pouvoir immunosuppresseur. | A prendre en compte |
| <i>Antifongiques</i> | Terbinafine | Diminution des concentrations sanguines de ciclosporine. | Précaution d'emploi : contrôle des concentrations sanguines de ciclosporine et adaptation éventuelle de sa posologie pendant le traitement par terbinafine et après son arrêt. |
| <i>Antihypertenseurs</i> | Bosentan | Diminution importante des concentrations sanguines de la ciclosporine et augmentation des concentrations plasmatiques de bosentan. | Association contre-indiquée |

| | | | |
|--------------------------------------|-----------------------------|---|---|
| Agents anti - obésité | Orlistat | Diminution des concentrations sanguines de ciclosporine par diminution de son absorption intestinale, avec risque de perte de l'activité immunosuppressive. | Association déconseillée Prendre l'orlistat à distance de la ciclosporine (au moins 3 heures). Contrôle renforcé des dosages sanguins de ciclosporine, notamment en début d'association, et lors d'augmentation éventuelle de la posologie de l'orlistat. |
| Analogues de la somatostatine | -Lanréotide - Octréotide | Pour la ciclosporine voie orale. Baisse des concentrations plasmatiques de ciclosporine (diminution de son absorption intestinale). | Précaution d'emploi : augmentation de la posologie de la ciclosporine sous contrôle des concentrations plasmatiques. Réduction de la posologie après l'arrêt de lanréotide ou de l'octréotide. |
| Inducteurs enzymatiques | Antituberculeux | -Rifampicine -Rifabutine | Par extrapolation à partir de la rifampicine. Diminution des concentrations plasmatiques et de l'efficacité de l'immunosuppresseur (augmentation de son métabolisme hépatique). |
| | Anticonvulsivants | -Phénobarbital -Phénytoïne -Primidone Carbamazépines. | |
| | Antifongique | -Griséofulvine | |
| | | | Précaution d'emploi : augmentation de la posologie de la ciclosporine sous contrôle des concentrations plasmatiques. Réduction de la posologie après l'arrêt de l'inducteur. |

| | Millepertuis | administré par voie orale : diminution des concentrations plasmatiques de ciclosporine en raison de son effet inducteur enzymatique, avec risque de baisse d'efficacité, voire d'annulation de l'effet, pouvant entraîner un risque de rejet. En cas d'association fortuite, ne pas interrompre brutalement la prise de millepertuis mais contrôler les concentrations sanguines de ciclosporine avant puis après l'arrêt du millepertuis. | Association contre- indiquée |
|--|--------------|--|------------------------------|
|--|--------------|--|------------------------------|

XII.1.2. Interactions médicamenteuses d'ordre pharmacodynamique :

a. Néphrotoxicité :

Tableau V : Médicaments causants un effet néphrotoxique. [28,29]

| Classe thérapeutique | Médicament | Mécanisme | Niveau |
|----------------------|-----------------|--|----------------------------|
| <i>Antifongiques</i> | Amphotéricine B | Avec l'amphotéricine B administrée par voie IV : augmentation de la créatininémie plus importante que sous ciclosporine seule (synergie des effets néphrotoxiques des deux substances). | A prendre en compte |
| | Aminosides | Augmentation de la créatininémie plus importante que sous immunosuppresseur seul (synergie des effets néphrotoxiques des deux substances) | A prendre en compte |
| <i>Antibiotiques</i> | Triméthoprime | Avec le triméthoprime (seul ou associé) par voie orale : augmentation de la créatininémie avec diminution possible des concentrations sanguines de ciclosporine. Avec le triméthoprime (seul ou associé) | A prendre en compte |

| | | | |
|--|----------------------------------|---|--|
| Anti-H2 | Cimétidine $\geq 800\text{mg/j}$ | Inhibition du métabolisme hépatique de la ciclosporine avec risque d'effets néphrotiques. | A prendre en compte |
| Anti-inflammatoires stéroïdiens | | Risque d'addition des effets néphrotoxique, notamment chez le sujet âgé. | Précaution d'emploi : Surveiller la fonction rénale en début de traitement par l'AINS. |

b. Immunosuppression additive :

Tableau VI : Médicaments causant une immunosuppression additive. [16,28]

| | | | |
|---|--|--|----------------------------|
| Anti-métabolite : Azathioprine | | | A prendre en compte |
| Immunglobulines anti- lymphocytaires | | Immunodépression excessive avec risque de lymphoprolifération. | |
| Cytotoxique | | | |

XII.2. Influence de la ciclosporine sur d'autres médicaments :

-la ciclosporine Inhibe le métabolisme de prednisolone (et par extrapolation autres corticoïdes), causant une augmentation de ses effets: aspect cushingoïde, réduction de la tolérance aux glucides (diminution de la clairance des corticoïdes).

- Les inhibiteurs de la mTOR (Évérolimus et Sirolimus) : augmentation des concentrations sanguines de l'immunosuppresseur par la ciclosporine.

La néphrotoxicité de la ciclosporine est également augmentée lors de l'association. Dosage des concentrations sanguines de l'inhibiteur de la mTOR, éventuellement adaptation de la posologie et contrôle de la fonction rénale, pendant l'association et après son arrêt. ^[30]

- Diminue les concentrations plasmatiques d'acide mycophénolique (MPA)

- Augmente les taux sanguins de digoxine.

-Augmente la toxicité du méthotrexate avec augmentation de la créatininémie (diminution réciproque de la clairance des deux médicaments).

- Les statines (Atorvastatine, Simvastatine) : risque majoré d'effets indésirables (concentration-dépendants) à type de rhabdomyolyse (diminution du métabolisme hépatique de l'hypocholestérolémiant). Surveillance clinique et adaptation de la posologie de l'hypocholestérolémiant ou utilisation d'une autre statine non concernée par ce type d'interaction. Utiliser des doses plus faibles d'hypocholestérolémiant. Si l'objectif thérapeutique n'est pas atteint, utiliser une autre statine non concernée par ce type d'interaction.

- Colchicine : il a été rapporté que la ciclosporine pouvait augmenter les effets toxiques de la colchicine, conduisant à des cas de myopathies ou de neuropathies, en particulier chez des patients avec une insuffisance rénale. En cas d'utilisation concomitante de colchicine avec la ciclosporine, une surveillance clinique rapprochée est indispensable afin de mettre en évidence le plus rapidement possible des manifestations de toxicité à la colchicine, devant mener à la réduction des doses ou à l'arrêt du traitement.

- Nifédipine : risque d'addition d'effets indésirables à type de gingivopathies. Utiliser une autre dihydropyridine. ^[20, 27]

Chapitre III : Suivi thérapeutique pharmacologique (STP) de la ciclosporine

I. Généralités sur le STP :

Le médecin est régulièrement appelé à requérir un dosage sanguin de médicament pour l'un ou l'autre de ses patients. Que peut-il conclure du résultat de la mesure (exemple : 3,5 mg/l) qu'il reçoit, accompagné éventuellement d'un intervalle de référence (exemple : 0,8-2,0 mg/l) ?

Cette démarche s'inscrit dans le cadre global communément appelé «suivi thérapeutique des médicaments» (*Therapeutic drug monitoring* – TDM).¹ Il s'agit non seulement de mesurer des concentrations sanguines d'un médicament, mais aussi de les interpréter, en fonction du terrain, en vue d'individualiser la posologie.^[5]

I.1. Définition :

Le terme anglais *monitoring* provient du latin *monère* qui signifie «avertir», «rappeler», «souffler», «suggérer une façon d'agir» ou encore «présager».^[3]

La dernière définition du STP proposée par l'Association Internationale de Suivi Thérapeutique et de Toxicologie Clinique (l'IATDMCT) est la suivante :

« le STP est une spécialité clinique pluridisciplinaire visant à améliorer la prise en charge du patient en ajustant individuellement la dose des médicaments pour lesquels le bénéfice clinique du STP a été démontré dans la population générale ou dans une population particulière. Il repose sur des informations pharmacogénétiques (Le génotype des protéines responsables du métabolisme et de l'absorption) , démographiques (comme l'âge, le sexe et le régime alimentaire des patients) et cliniques (comme le mode d'administration, la forme galénique ainsi que la posologie) *à priori* et/ou sur la mesure *à posteriori* des concentrations sanguines du médicament (suivi pharmacocinétique) ou de composés endogènes de substitution ou de paramètres biologiques d'effet (suivi pharmacodynamique)».^[3,5]

I.2. Justification :

La justification du STP tient au fait que, pour de nombreux médicaments, la même dose ne produit pas la même quantité, et parfois pas la même nature d'effets chez tous les patients traités. Ces variations inter-individuelles peuvent être dues à la variabilité de la relation dose-concentration au site d'action ou à celle de la relation concentration au site d'action-effet.

Les premières relèvent de la pharmacocinétique, les secondes de la pharmacodynamie. La variabilité pharmacocinétique peut être minimisée par ajustement de la dose à chaque individu sur des critères de concentration, par le spécialiste du STP. La variabilité pharmacodynamique peut l'être, sur des critères cliniques ou paracliniques, par le médecin traitant. ^[20]

I.3. Buts :

Les deux principaux buts de ce suivi sont de diminuer d'une part le taux d'échec thérapeutique lié à une mauvaise observance ou à une dose insuffisante, et d'autre part la fréquence des effets indésirables et /ou toxiques des médicaments liés à une dose excessive. ^[20]

I.4. Médicaments concernés par le STP :

En pratique le STP n'est utile que pour des traitements de longue durée et ayant des effets indésirables lourds ou pour lesquels le risque d'inefficacité est grand. Il est évident que, pour des raisons pratiques et économiques, il est impossible de pratiquer le STP sur des traitements ne répondant pas à ces caractéristiques.

Pour qu'un médicament soit éligible au titre du STP, il doit répondre aux critères suivants :

- ✚ Une relation concentration-effet pharmacologique (thérapeutique ou toxique) meilleure que sa relation dose-effet.
- ✚ Une importante variabilité inter-individuelle de la relation dose-concentration.
- ✚ Si possible une variabilité intra-individuelle pharmacocinétique faible ou modérée à court terme.
- ✚ Une zone thérapeutique étroite, c'est-à-dire une faible différence entre la concentration efficace et la concentration toxique.
- ✚ Une réponse pharmacologique difficilement accessible par une mesure directe de l'effet.
- ✚ Présence de nombreuses interactions médicamenteuses pouvant modifier sa concentration sanguine.
- ✚ Une ou, au mieux, plusieurs méthodes analytiques permettant son dosage dans les milieux biologiques. ^[14, 20]

Il apparaît qu'un très petit nombre de médicaments, au regard de la pharmacopée des pays industrialisés, font réellement l'objet d'un suivi thérapeutique et que ce nombre varie selon les pays.

Les recommandations pour un suivi thérapeutique moderne publiées par l'Académie nationale de biochimie clinique des Etats-Unis en 1998 ne font apparaître qu'une quarantaine de médicaments :

- ✚ Antiépileptiques (acide valproïque, phénytoïne, carbamazépine, phénobarbital, topiramate...).
- ✚ Antiviraux et antirétroviraux (ganciclovir, zidovudine, didanosine, ritonavir...).
- ✚ Antibiotiques (amikacine, gentamicine, vancomycine, téicoplanine,...).
- ✚ Autres anti-infectieux (isoniazide, rifabutine, rifampicine, amphotéricine B,...).
- ✚ Psychotropes (amitriptyline, imipramine, clomipramine, lithium, midazolam,...).
- ✚ Médicaments à visée cardiaque (digoxine, amiodarone, disopyramide, propafénone,...).
- ✚ Immunosuppresseurs (ciclosporine, tacrolimus, sirolimus, évérolimus, acide mycophénolique,...).
- ✚ Anticancéreux (méthotrexate, 5-fluorouracil, topotécan,...).
- ✚ Divers (théophylline, caféine...).^[11,20]

II. Modalités du STP

II.1. Prise en charge pré-analytique :

Il s'agit d'organiser la demande de suivi thérapeutique, en précisant à l'équipe clinique :

- ✚ La nature de l'échantillon à analyser (sang total, sérum, plasma) et donc du contenant (tube sec, hépariné, contenant de l'EDTA, etc.).^[20]
- ✚ L'état d'équilibre et moment de prélèvement :
Le prélèvement sanguin pour un STP est soumis à certaines contraintes, puisque la concentration du médicament dépend fortement du moment du prélèvement par rapport au début du traitement et la dernière administration (médicament lorsque l'on cherche à déterminer des concentrations à un temps précis (pic sérique, taux résiduel, etc.), mais aussi de la voie d'administration et de la formulation galénique.
Dans la majorité des cas, le dosage sanguin se fait à l'état d'équilibre (c'est-à-dire cinq fois le temps de demi-vie après le début du traitement, respectivement après le dernier changement de la posologie).^[31]
- ✚ Les renseignements cliniques indispensables à l'interprétation (pathologie, traitements associés, effet actuel du traitement, etc.).

Il faut définir et faire connaître à l'équipe clinique, par le biais de procédures, le délai et les conditions d'acheminement.

Enfin, il faut organiser la conservation des échantillons, d'autant plus que la stabilité des médicaments, souvent mal connue, est parfois très mauvaise (par exemple amoxicilline, N-acétylcystéine, benzodiazépines, etc.).^[20]

II.2. Techniques analytiques :

La phase analytique commence avec la préparation de l'échantillon (p.ex. centrifugation, ultrafiltration pour le dosage de la fraction libre) et se termine avec la vérification du résultat.

Les techniques immunologiques sont souvent choisies pour les médicaments dosés couramment parce qu'elles présentent plusieurs avantages : le résultat est obtenu dans un délai très court, la demande en expertise technique est faible et le degré d'automatisation est haut ce qui permet facilement d'en disposer 24/24 heures.

Chaque méthode est caractérisée par deux paramètres importants : la précision et l'exactitude. La précision décrit la variabilité du résultat rendu.^[20]

L'exactitude de la méthode décrit à quel point le résultat rendu correspond à la valeur vraie. Les méthodes immunologiques sont généralement moins exactes que les méthodes chromatographiques. Ceci est lié à une sélectivité inférieure : des réactions croisées, variables selon la nature et la spécificité des anticorps (polyclonaux ou monoclonaux), entre la substance à doser, ses métabolites ou des substances apparentées sont un problème fréquent. Souvent, plusieurs méthodes immunologiques sont commercialisées par différentes entreprises et les résultats obtenus par chacune de ces méthodes peuvent différer de façon importante.

Les valeurs de références sont alors aussi fonction de la méthode utilisée. La même méthode analytique devrait être appliquée lors du suivi d'un patient.^[31]

Les techniques physicochimiques, en particulier chromatographiques, se sont largement développées dans le cadre du suivi thérapeutique au cours des dernières années. Généralement plus spécifiques que les techniques immunochimiques, elles permettent le dosage simultané et indépendant de plusieurs médicaments de la même famille pharmacothérapeutique, ou d'une molécule mère et de ses métabolites. Il s'agit par ailleurs de techniques flexibles, permettant la mise au point de nombreuses méthodes d'analyse avec le même appareillage, indépendamment de toute stratégie commerciale.

Néanmoins, ces techniques imposent des contraintes de temps (temps de mise au point, temps de validation, temps de réalisation), sont plus complexes à mettre en œuvre que les méthodes immunochimiques (ce qui les rend parfois difficiles à utiliser dans un contexte d'urgence) et

nécessitent généralement plusieurs types d'appareillage (différentes techniques séparatives, différents détecteurs, etc.) ce qui se traduit par un coût d'investissement important [20]

II.3. phase post-analytique :

Le laboratoire de STP ne peut se contenter de rendre un chiffre, c'est-à-dire une concentration, sans interprétation. Cette interprétation doit être fondée sur les données cliniques, le délai entre l'administration et le prélèvement, les zones thérapeutiques, la population à laquelle appartient le patient ainsi que les performances et les limites de la technique analytique employée. Les données cliniques essentielles concernent l'indication pour laquelle le médicament est administré, les effets actuels du traitement, les pathologies associées ou l'état morbide et les données morphométriques essentielles, telles que taille, poids, sexe et âge.

En fonction du médicament étudié, d'autres données paracliniques peuvent être nécessaire, telles que la clairance de la créatinine.

La concentration sanguine ou plasmatique d'un médicament étant une variable, et non une grandeur régulée comme les constantes physiologiques, la connaissance de l'heure de prélèvement et l'heure de l'administration précédente est indispensable à l'interprétation correcte des résultats. [20]

III. Ciclosporine et Suivi Thérapeutique Pharmacologique :

La ciclosporine répond aux critères d'éligibilité au STP. Elle fait ainsi l'objet d'un STP systématique, qui est par ailleurs rendu obligatoire puisque figurant sur le Résumé des Caractéristiques du Produit (RCP) de la spécialité Néoral[®] et Sandimmun[®]. [27]

En effet, la ciclosporine présente une zone thérapeutique étroite, c'est-à-dire qu'elle ne déploie son effet pharmacologique désiré avec une tolérance acceptable qu'à l'intérieur d'un faible domaine de concentrations sanguine ; Les conséquences d'un sous-dosage peuvent être désastreuses (rejet de greffe), il en est de même en cas de surdosage avec l'apparition d'une toxicité importante, ainsi que des variabilités inter-individuelles importantes au niveau de sa biodisponibilité et de son métabolisme par le CYP 3A4 et qui est susceptible à de nombreuses interactions médicamenteuses, des relations concentration-effets thérapeutiques et/ou toxiques (néphro- et neurotoxicité concentration-dépendantes) bien démontrées. Ces caractéristiques empêchent l'utilisation de schémas posologiques standards et justifient un suivi individuel régulier des concentrations sanguines. Plusieurs outils permettent de réaliser le STP de la ciclosporine. Il s'agit de mesures de concentration au cours de l'intervalle compris entre 2 doses, ou de combinaisons de concentrations permettant de calculer des aires sous la courbe des

concentrations en fonction du temps (AUC) dites « complète » ($AUC_{0 \rightarrow 12}$) ou « tronquée » ($AUC_{0 \rightarrow 4}$).^[27]

III.1. Paramètres à mesurer :

III.1.1. Concentration résiduelle (C_0) :

Le premier indice d'exposition proposé fut la concentration résiduelle (C_0). Cette mesure est classiquement effectuée le matin, douze heures après la prise vespérale de ciclosporine et juste avant la prise matinale.

Au début des années 80, plusieurs études ont montré l'intérêt de C_0 . Au cours de ces travaux, il apparaissait que les patients pour qui les valeurs de C_0 étaient faibles (< 200 µg/l), étaient les plus sujets à un rejet aigu de greffe. Au contraire, les patients chez qui les valeurs de C_0 étaient élevées (> 300-400 µg/l), présentaient des risques accrus de néphrotoxicité liée à la ciclosporine.^[9]

Ainsi, la communauté des transplantateurs adopta rapidement le concept de suivi thérapeutique sur la base du C_0 et des « fourchettes thérapeutiques » furent définies.

Les zones thérapeutiques pour le C_0 varient en fonction de la nature de l'indication (greffe rénale, hépatique, moelle osseuse), de la période de prescription, de l'état clinique et biologique, ainsi que de la technique de dosage.^[27]

Tableau VII : Zone thérapeutique de la concentration résiduelle de ciclosporine (C_0) après une transplantation rénale^[20]

| Délai post-transplantation (jours) | Concentration cible (µg/l) | Zone cible (µg/l) |
|------------------------------------|----------------------------|-------------------|
| 1-14 | 300 | 200-400 |
| 15-42 | 250 | 150-350 |
| 43-84 | 200 | 125-275 |
| 85-182 | 150 | 100-200 |
| 183-365 | 120 | 100-150 |
| > 365 | 100 | 75-150 |

Tableau VIII: Zone thérapeutique de la concentration résiduelle de ciclosporine (C_0) en fonction du type de la greffe^[20]

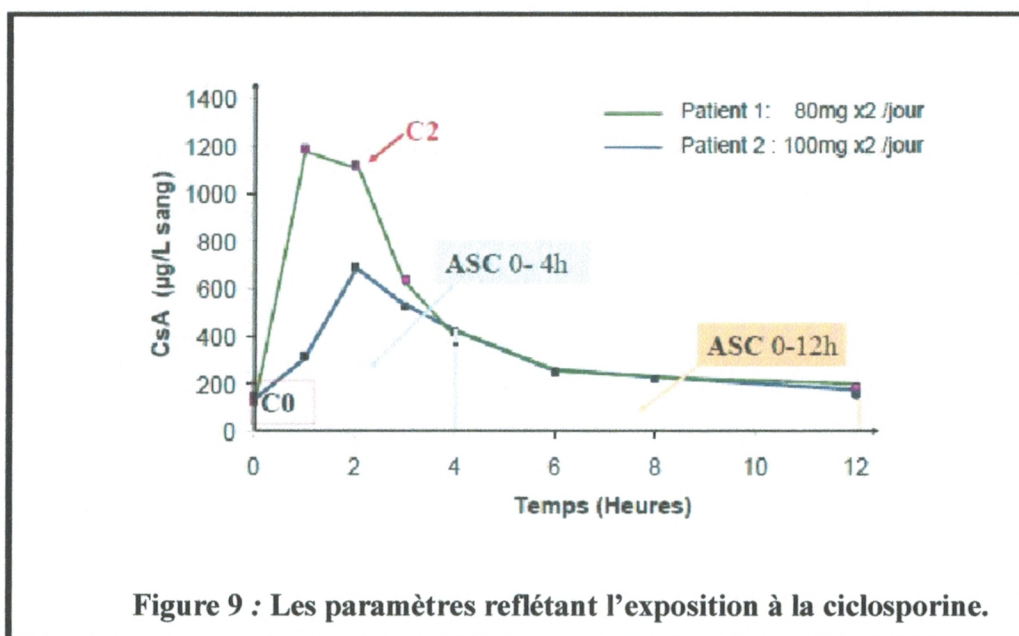
| Type de transplantation | Phase aiguë (µg/l) | A long terme (µg/l) |
|-------------------------|--------------------|---------------------|
| Cardiaque | 250-350 | 120-200 |
| Hépatique | 250-350 | 100-200 |
| Rénale | 150-300 | 75-150 |
| Pulmonaire | 220-320 | 140-220 |

III.1.2. Aire sous la courbe ($AUC_{0 \rightarrow 12}$) :

Intuitivement, l' $AUC_{0 \rightarrow 12}$ est l'indice permettant d'évaluer le plus globalement l'exposition à la ciclosporine entre deux administrations. En effet, cet indice est le seul à permettre d'évaluer à la fois l'intensité de l'absorption et l'élimination du produit.

L'estimation de l' $AUC_{0 \rightarrow 12}$ nécessite, classiquement, de multiplier les prélèvements sanguins au cours des 12 heures suivant la prise matinale du médicament. Cette multiplication des prélèvements entre deux administrations permet en effet de calculer, avec une certaine précision, l' AUC par la méthode dite des trapèzes. Toutefois, cet indice d'exposition n'est que rarement utilisé en routine du fait d'un prix de revient trop élevé et de la contrainte infligée au patient, ainsi qu'aux équipes soignantes^[3]

Afin d'éviter la multiplication des prélèvements, il est possible de rechercher une ou plusieurs concentrations bien corrélées à l' $AUC_{0 \rightarrow 12}$ au cours de l'intervalle inter-dose afin de mettre au point une équation de régression multilinéaire qui permet d'estimer la valeur de l' AUC à l'aide d'un nombre limité d'échantillons sanguins (généralement 2 ou 3). On parle de stratégies d'échantillonnage limité ou « limited sampling strategies » (LSS). Les modèles bayésiens constituent également une méthode permettant d'estimer l' AUC à partir d'un nombre limité de prélèvements sanguins. Nécessitant le développement au préalable d'un modèle pharmacocinétique. En transplantation, la zone cible (globale) est de 2 à 9 mg.h/l^[9]



III.1.3. Aire sous la courbe abrégée ($AUC_{0\rightarrow 4}$) ou « Absorption Phase Profiling » :

La notion d' $AUC_{0\rightarrow 4}$ est apparue plus récemment. Ce nouveau concept se base essentiellement sur des travaux ayant montré que la variabilité de la pharmacocinétique du Néoral[®] serait, dans sa plus grande part, imputable aux variations observées au cours des quatre premières heures suivant l'administration.^[3]

La fourchette thérapeutique comprise entre 4,4 et 5,5 mg.h/l est la seule reconnue à l'heure actuelle pour l' $AUC_{0\rightarrow 4}$. Elle n'est utilisable que dans les premiers jours suivant la greffe, et n'est pas clairement définie au-delà. Toutefois, elle a été définie chez des patients recevant une triple immunosuppression (n'incluant pas une induction par des anticorps). Son efficacité chez des patients recevant une quadrithérapie n'a pas été étudiée^[27]

III.1.4. Concentration 2 heures après la prise (C_2) :

En se fondant sur les résultats d'études rétrospectives et prospectives, divers auteurs recommandent depuis 2001 le STP fondé sur le C_2 (concentration 2 h après la prise), de manière à apprécier l'intensité de l'absorption et à obtenir une meilleure estimation de l'AUC.

Il a été montré que l'inhibition de la libération d'interleukine-2 par les cellules T était maximale 2 heures après la prise de ciclosporine et que 70 à 96 % de l'inhibition de la calcineurine était atteints à ce moment là. Ces arguments pharmacologiques tendent à faire penser que la mesure du C_2 est un bon indice d'effet du médicament et plus sensible que C_0 dans la prédiction de la survenue d'un épisode de rejet aigu. D'autre part, il a été montré que la détermination de C_2 uniquement donnait une bonne estimation de l' $AUC_{0\rightarrow 4}$.^[27]

Les zones thérapeutiques pour le C_2 varient en fonction des mêmes paramètres que celles du C_0 :

Tableau IX: Zone thérapeutique de la concentration 2 heures après la prise de ciclosporine (C_2) en fonction de l'indication et du délai post-greffe.^[20]

| Type de greffe | Délai post-greffe | Zone cible ($\mu\text{g/L}$) |
|----------------|-------------------|--------------------------------|
| Hépatique | 0-6 mois | 800-1200 |
| | 6-12 mois | 640-960 |
| | >12 mois | 480-720 |
| Rénale | 1 mois | 1360-2040 |
| | 2 mois | 1200-1800 |
| | 3 mois | 1040-1560 |
| | 4-6 mois | 880-1320 |
| | 7-12 mois | 720-1080 |
| | >12 mois | 640-960 |

Il est recommandé de procéder à un dosage sanguin 1-2 jours après la transplantation, puis 2-3 fois par semaine pendant les 3-6 premiers mois jusqu'à stabilisation du patient.

La mesure des concentrations sanguines peut ensuite être espacée de plusieurs mois, en l'absence de modification de la posologie, des traitements concomitants ou de l'état clinique du patient. [3]

III.2. Méthodes analytiques :

Alors que le dosage de la plupart des médicaments se fait dans le plasma, celui des immunosuppresseurs et notamment la ciclosporine est réalisé dans le sang complet. Les raisons de cette exception sont les suivantes :

- ✚ Ces molécules sont distribuées largement dans les érythrocytes, leurs concentrations peuvent donc être mesurées plus aisément dans le sang complet que dans le plasma.
- ✚ La distribution érythrocytaire dépend de la température. Des erreurs de reproductibilité ont en effet été observées lorsque le dosage était effectué à partir du plasma.
Ces erreurs ont pu être limitées par une standardisation du processus de séparation des deux matrices (centrifugation) à l'aide d'un équilibrage de l'échantillon à une température déterminée pendant au moins 1 heure. Cette pratique n'est cependant plus utilisée en routine.
- ✚ La distribution érythrocytaire dépend de la concentration en immunosuppresseurs.
- ✚ Les concentrations plasmatiques peuvent être influencées par la concentration en lipoprotéines ainsi que par l'hématocrite. [2]

Le suivi des concentrations sanguines de ciclosporine peut être réalisé avec différentes techniques analytiques. On différencie classiquement:

- ✚ Les techniques chromatographiques couplées à un détecteur spécifique : dosage spécifique de la CsA seule. [20]
 - Chromatographie Liquide – Electrospray – Spectrométrie de Masse (LC-ES-MS).
 - Chromatographie Liquide – Electrospray – Spectrométrie de Masse en tandem (LC-ES-MS/MS).
 - Chromatographie Liquide Haute Performance couplée à un détecteur UV (CLHP/UV) : la ciclosporine ne comporte pas de groupements chromophores mais peut être détectée par un détecteur ultraviolet à une faible longueur d'onde (205 nm). [27]

- ✚ Les techniques immunologiques : dosage de la CsA et ses métabolites. ^[20]
 - Immuno-polarisation de fluorescence (FPIA : Fluorescence Polarization Immuno-assay technique).
 - Dosage Immuno-enzymatique (EMIT : Enzyme Multiplied Immuno-assay Technique ; et CEDIA : Cloned Enzyme Donor Immuno-assay).
 - ACMIA (Affinity-Column-Mediated Immunoassay).
 - RIA (Radio Immuno-assay). ^[27]

La ciclosporine peut être dosée par HPLC : c'est la méthode la plus spécifique et donc la méthode de référence. L'utilisation de l'HPLC n'est pourtant pas très répandue car elle demande une bonne connaissance de la technique et beaucoup de temps. La plupart des laboratoires utilisent généralement des tests immunologiques mis au point par des industriels.

La difficulté de mise au point d'un test immunologique est de développer des anticorps spécifiques de la ciclosporine qui n'interagissent pas avec les métabolites inactifs de celle-ci. ^[9]

Les méthodes immunologiques présentent toujours un biais et il est difficile de comparer les résultats entre 2 laboratoires. De plus, la spécificité varie en fonction de la pathologie du patient et du type de transplantation.

La LC-MS/MS (chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem) est une méthode plus rapide, facile et réellement spécifique avec une grande précision et sensibilité ; elle est de plus en plus utilisée par les laboratoires. ^[9]

D'après une revue de la littérature (Marquet P. 2004), on pourra retenir les informations suivantes concernant la spécificité vis-à-vis des métabolites, d'autres médicaments et de substances endogènes :

- ✚ LC-ES-MS et LC-ES-MS/MS : pas d'interférence avec les principaux métabolites de la ciclosporine : AM9, AM19, AM1 et AM4N (jusqu'à 500 µg/l).
- ✚ FPIA pour automate AxSYM : réactivité croisée faible avec certains métabolites (AM1, AM9). Erreur < 10 % dans la détection du médicament par interférence avec les substances endogènes (bilirubine, hémoglobine, triglycérides, protéines).
- ✚ FPIA pour automate TDx : réactivité croisée avec certains métabolites (AM1, AM9, AM4N).
- ✚ EMIT et ACMIA : réactivité croisée faible (AM9). Aucune interférence avec les substances endogènes.
- ✚ CEDIA : forte réactivité croisée avec AM9, AM1 et AM4N. ^[20]

PARTIE PRATIQUE

Objectifs de l'étude

L'objectif principal de l'étude :

Pour obtenir l'effet thérapeutique maximal d'un médicament sans risque de toxicité, il est nécessaire de déterminer le schéma posologique optimal (dose et horaire d'administration) qui permettra de maintenir les concentrations du médicament dans une zone définie appelée intervalle thérapeutique ou zone thérapeutique.

Notre objectif principal est :

D'une part, la réalisation du suivi thérapeutique pharmacologique de la ciclosporine chez les patients greffés rénaux traités au niveau du service de néphrologie et suivis au sein du laboratoire de médecine nucléaire, CHU – TLEMCEN ; et ceci dans le but d'aider le médecin à adapter individuellement leur posologie afin d'éviter, d'une part, le risque de rejet (la survie du greffon) lié à un sous dosage, et d'autre part, les effets indésirables (en particulier la Néphrotoxicité) liée à une immunosuppression élevée.

Et d'autre part, déterminer si la mesure de la concentration résiduelle de la ciclosporine avant la nouvelle prise du médicament (C_0) est un paramètre suffisant ou non pour le suivi des patients greffés rénaux.

L'objectif secondaire :

La surveillance des changements des concentrations résiduelles de la ciclosporine (C_0) après les modifications posologiques faites par le médecin traitant : Etude de 2 cas réfractaires.







Chapitre I : Réalisation du suivi thérapeutique de la ciclosporine (détermination de la C₀)

I. Matériel et Méthode :

I.1. Matériel :

I.1.1. Verrerie et appareillage :

Tableau X : Matériel utilisé.

| | | | |
|-----------------------------|---|--------------------------------|---|
| <i>Tube secs</i> |  | <i>Godet (cupule).</i> |  |
| <i>Tube EDTA</i> |  | <i>Vortex pour l'agitation</i> |  |
| <i>Micropipette à 300µl</i> |  | <i>Micropipette à 50µle</i> |  |

+ Consommables :

- Bouchons des tubes secs.
- Gants purifiés.
- Compresses.
- Etiquettes.

✚ Appareillage :

- Réfrigérateur pour la conservation des prélèvements.
- Logiciel nucléus
- AxSYM (automate).

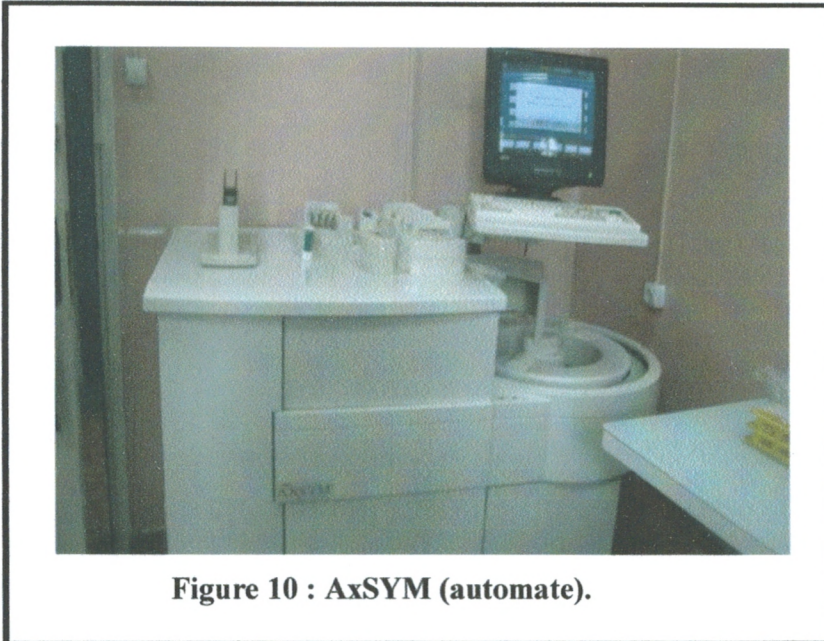


Figure 10 : AxSYM (automate).

- Centrifugeuse :

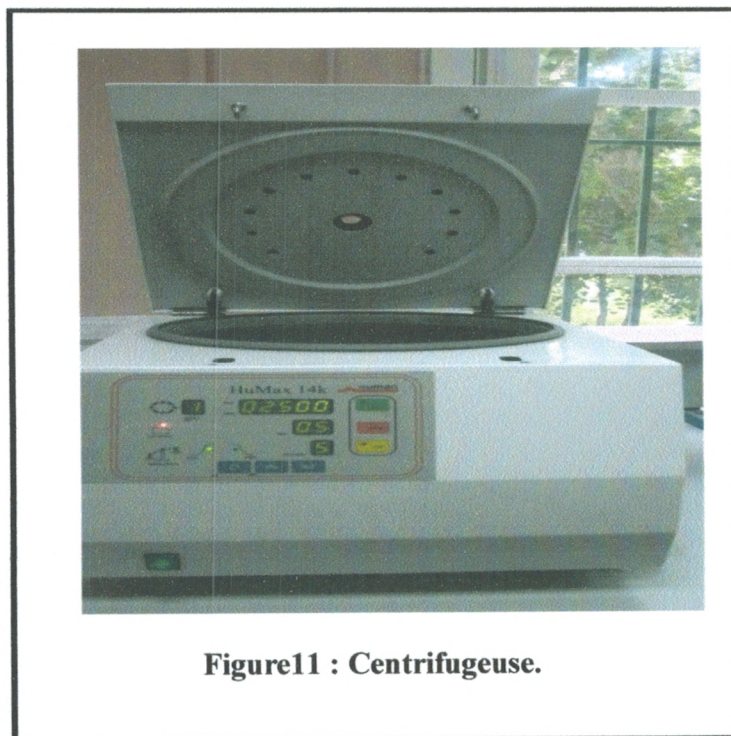


Figure11 : Centrifugeuse.

I.1.2. Réactifs :**a. Coffret-réactifs:**

- ✚ Un flacon (4,6 ml) d'anticorps anti-cyclosporine (souris, monoclonaux), < 25 % dans du tampon citrate contenant un stabilisant de protéines (ovines). Conservateur : azide de sodium. (Flacon réactif 1).
- ✚ Un flacon (4,3 ml) de solution de prétraitement. Surfactants dans du tampon TRIS. Conservateur : azide de sodium. (Flacon réactif 2).
- ✚ Un flacon (10,5 ml) de traceur Cyclosporine marqué à la fluorescéine, < 0,01 % dans un tampon phosphate contenant du surfactant et un stabilisant de protéines (bovines). Conservateur : azide de sodium. (flacon réactif 3).

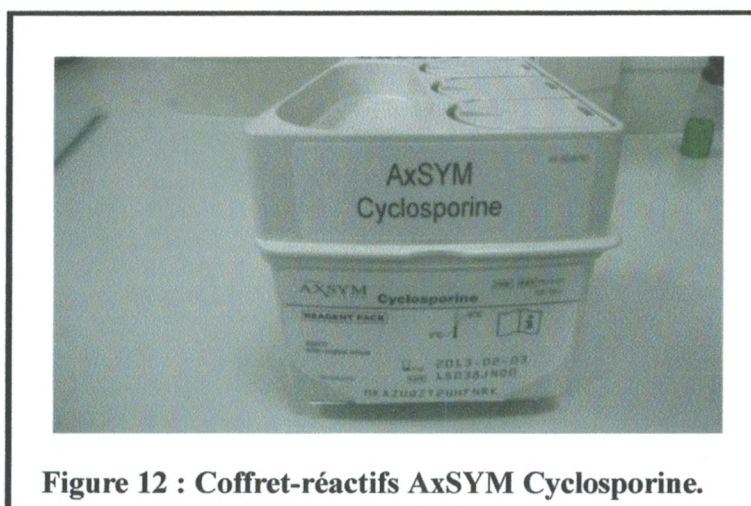


Figure 12 : Coffret-réactifs AxSYM Cyclosporine.

b. Calibrateurs standards :

- ✚ Calibrateurs standard A : un flacon de 10 ml contenant un composant de sang humain.
- ✚ 5 flacons (4 ml chacun) de Calibrateurs standards (B à F) AxSYM Cyclosporine contenant de la cyclosporine A préparée dans un composant de sang humain.

Tableau XI : Calibrateurs standards (A à F) AxSYM Cyclosporine.

| Flacons | Cyclosporine A (ng/ml ou µg/l) | Concentration (nmol/l) |
|----------------|-----------------------------------|---------------------------|
| STANDARD CAL A | 0 | 0 |
| STANDARD CAL B | 40 | 33,2 |
| STANDARD CAL C | 100 | 83,1 |
| STANDARD CAL D | 200 | 166,2 |
| STANDARD CAL E | 400 | 332,3 |
| STANDARD CAL F | 800 | 664,7 |

Conservateur : azide de sodium.

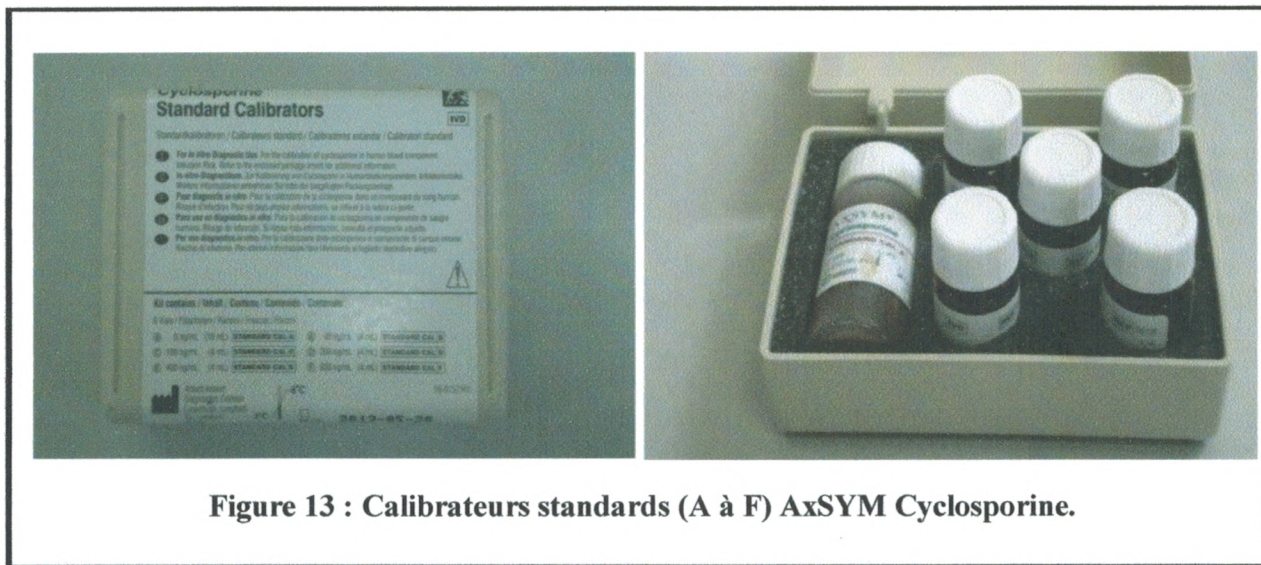


Figure 13 : Calibrateurs standards (A à F) AxSYM Cyclosporine.

c. Contrôles :

- 3 flacons (4 ml chacun) de contrôles AxSYM Cyclosporine contenant de la cyclosporine A préparée dans un composant de sang humain pour obtenir les limites de concentration suivantes :

Tableau XII : contrôles AxSYM Cyclosporine

| Flacons | Ciclosporine A | | Limites | |
|-----------|-------------------------------|----------|-----------------|-------------|
| | Concentration (ng/ml ou µg/l) | (nmol/l) | (ng/ml ou µg/l) | (nmol/l) |
| CONTROL L | 70 | 58,2 | 45-95 | 37,4-78,9 |
| CONTROL M | 300 | 249,2 | 201-399 | 167,0-331,5 |
| CONTROL H | 600 | 498,5 | 402-798 | 334,0-663,0 |

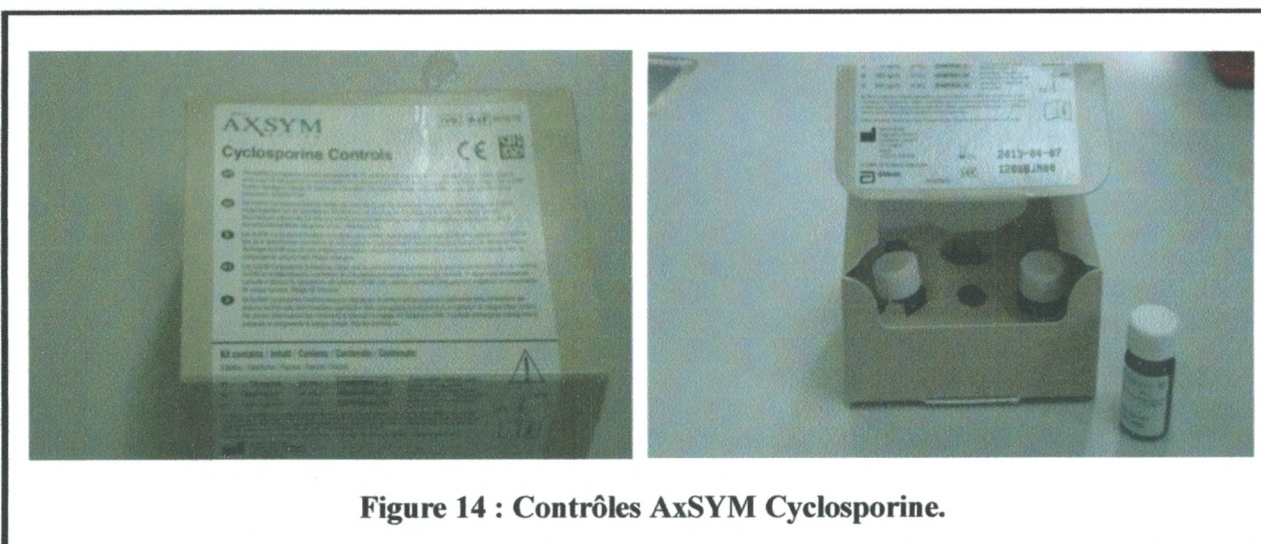


Figure 14 : Contrôles AxSYM Cyclosporine.

d. Réactifs de prétraitement :

- ✚ **Réactif de précipitation** : un flacon de 33 ml contenant une solution de sulfate de zinc dans du méthanol et de l'éthylène glycol.
- ✚ **Réactif de solubilisation** : un flacon de 5 ml contenant l'eau avec surfactants.
Conservateur : azide de sodium.



Figure 15 : Réactifs de prétraitement AxSYM Ciclosporine.

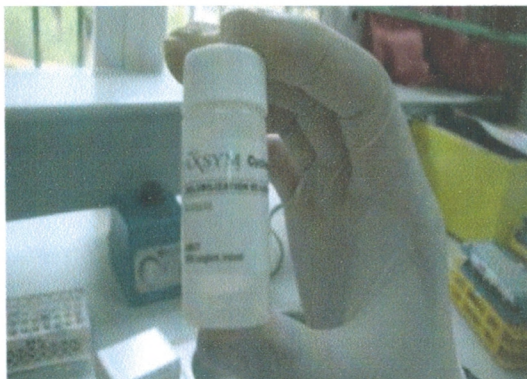


Figure 16 : Réactif de solubilisation.



Figure 17 : Réactif de précipitation.

e. Autres réactifs :

- ✚ **Solution de lavage des aiguilles AxSYM** : 2 flacons (220 ml chacun) contenant du tétraéthylammonium hydroxyde (TEAH) à 2 %.
- ✚ **Solution 4 (diluant)** : un bidon (10 l) contenant du tampon phosphate à 0,1 mol/l.
Conservateur : azide de sodium et agent antimicrobien.

I.2. Méthode :

I.2.1. Phase pré-analytique :

a. Population d'étude :

Une étude prospective a été portée sur un échantillon aléatoire de 7 patients (14 prélèvements), ayant consulté au service de néphrologie et suivis dans le laboratoire de médecine nucléaire, durant la période du 1 mars au 20 mai 2013, et pour lesquels un dosage de la ciclosporine a été effectué.

Les patients faisant partie de cette étude ont été bénéficiés d'une greffe rénale entre l'année 1990 et l'année 2011 et recevant de la ciclosporine (Néoral) sous forme d'une solution buvable en 2 prises quotidiennes associé à un autre immunosuppresseur (un corticoïde et/ou un antimétabolite).

Parmi ces patients ; 2 cas sont exploités pour l'étude de l'évolution de la Ciclosporinémie en fonction des modifications posologiques réalisée par le médecin traitant.

Remarque : des critères d'inclusion et d'exclusion n'ont pas été établi, tous les patients traités au niveau du service de néphrologie ont été sélectionnés pour cette étude.

b. Modalités de prélèvement :

Les prélèvements sont effectués au niveau du service de néphrologie.

- **Nature de prélèvement et du contenant :** Le sang est recueilli dans des tubes contenant de l'anticoagulant EDTA sans séparateur.

NB : Ne jamais prélever à travers une voie veineuse qui a servi à administrer le médicament ou dans une veine du bras où coule la perfusion de médicament.

- **Moment de prélèvement :**

Le prélèvement doit être effectué à l'état d'équilibre des concentrations, 2 à 3 jours (à posologie constante), et puisque notre étude est basée sur la C_0 les patients sont prélevés à jeun de médicament au moins 12 heure après la dernière prise du NEO (c'est-à-dire juste avant la nouvelle prise du médicament).

- **Conservation des prélèvements :**

L'acheminement des échantillons a été fait à température ambiante entre le moment du prélèvement et l'arrivée au laboratoire.

Les prélèvements ont été analysé le jour même ou conservés à -2°C au réfrigérateur.

NB : Stabilité des analytes en fonction des conditions de transport et de conservation :

- à température ambiante (18 à 37°C) : 8 à 12 j ;
- à $2-8^{\circ}\text{C}$: 8 à 12 j ;
- à -20°C : au moins 3 mois.

c. Enregistrement des données :

- D'abord on a créé un acte pour la ciclosporine dans le logiciel de gestion des services de médecine nucléaire « le nucléus », désigné par « CYCLO » avec la fourchette thérapeutique [75-150 µg/l] sachant que tous les échantillons sont issus des patients ayant un délai post greffe > 365 jours.
- On a élaboré une fiche manuscrite sur laquelle on a mentionné des informations sur le patient, le prélèvement et le traitement. Ces informations sont indispensables pour interpréter correctement les résultats. (figure 18)
- Ces données ont été ensuite enregistrées dans le nucléus afin de créer un dossier pour chaque patient pour lequel on a attribué un numéro d'enregistrement qui doit être mentionné sur la fiche établie.

Exemple : le patient O.A —————> N° d'enregistrement CsA/C₀/13/4160.

| CENTRE HOSPITALO- UNIVERSITAIRE DE TLEMCEM | Fiche du Suivi thérapeutique de la Ciclosporine | N° d'enregistrement CsA/C ₀ /..... |
|--|--|--|
| 1. Etablissement de soin : | | |
| Médecin traitant : | | |
| Service demandeur : | | |
| Adresse : N° de téléphone : | | |
| 2. Identification du patient : | | |
| Nom/ prénom : Date de naissance :/...../..... | | |
| Sexe : Taille : Poids : | | |
| Adresse complète : N° de téléphone : | | |
| Traité pour : <input type="checkbox"/> Transplantations : Fait le :/...../..... | | |
| <input type="checkbox"/> Autre pathologie : | | |
| 3. Etat clinique : | | |
| L'état clinique du malade donne la priorité à la fonction : | | |
| <input type="checkbox"/> Rénale <input type="checkbox"/> Cardiaque <input type="checkbox"/> Hépatique <input type="checkbox"/> Autres : | | |
| Echographie du greffon : Biopsie du greffon : Autres renseignements : | | |
| | | |
| 4. Ciclosporine : | | |
| Posologie : | | |
| Voie d'administration : | | |
| Date du début du traitement :/...../..... | | |
| Dernière modification de la posologie :/...../..... | | |
| Dernière prise de la ciclosporine le :/...../..... Heure : | | |
| 5. Médicaments associés : Posologies : | | |
| | | |
| 6. Examens biologiques : | | |
| Bilan rénal Bilan hépatique FNS : | | |
| Urée : TGO/TGP :/..... Ionogramme : | | |
| Créatinine : TG/Cholestérol :/..... Glycémie : | | |
| Uricémie : Bilirubine : Autres : | | |
| 7. Raison de la demande du dosage : | | |
| <input type="checkbox"/> Manque d'efficacité <input type="checkbox"/> Toxicité <input type="checkbox"/> Contrôle <input type="checkbox"/> Autres | | |
| 8. Prélèvement : | | |
| Date :/...../..... Heure : | | |
| 9. Résultats : | | |
| Ciclosporinémie : | | |
| Valeur cible : | | |
| Interprétation : | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| Fait le :/...../..... | | |

Figure 18 : Fiche du suivi thérapeutique pharmacologique de la ciclosporine.

I.2.2. Phase analytique :

Le suivi thérapeutique pharmacologique (STP) de ces patients se fonde sur la détermination des concentrations sanguines résiduelles de la ciclosporine, réalisable par une méthode immunochimique par polarisation de fluorescence (FPIA) utilisant les anticorps monoclonaux sur l'analyseur automatique de type AxSYM-Abbott, reposant sur le principe de compétition.

↳ Principe de la méthode :

En phase homogène, les dosages FPIA sont basés sur la mesure de la quantité de lumière polarisée émise après excitation d'une substance fluorescente par un rayon lumineux également polarisé.

Dans cette méthode (figure19), le marquage de la molécule est réalisé par la fluorescéine. Il s'agit d'une réaction Ag-Ac où l'on met en présence un antigène (la ciclosporine), une quantité connue du même antigène marqué à la fluorescéine (traceur), une quantité connue d'anticorps (Ac) spécifique de l'Ag. Lors de la réaction, il y a compétition entre l'antigène marqué et la substance à doser pour se fixer sur l'Ac, du fait du nombre limité de sites à occuper.

❖ Si la substance à doser est en faible quantité dans l'échantillon, beaucoup de traceur sera fixé sur l'Ac. Il y a donc une majorité de grosses molécules fluorescentes, qui tournent lentement : la polarisation mesurée est élevée.

❖ Au contraire, si la quantité de substance à doser est importante, la majorité des sites Ac est occupée. Le traceur sera peu fixé à l'Ac et restera libre dans le milieu réactionnel, sous forme de petites molécules qui tournent rapidement : la polarisation mesurée est faible.

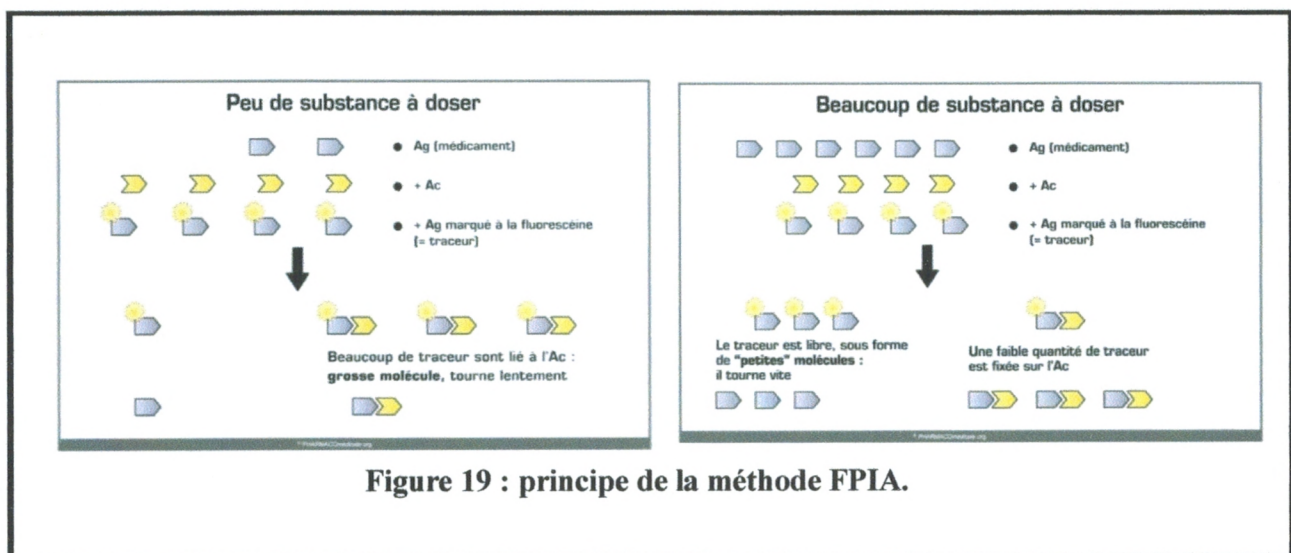


Figure 19 : principe de la méthode FPIA.

↳ Avant de procéder au dosage automatique on va suivre certaines étapes :

a. Calibration :

Le dosage AxSYM Cyclosporine doit être calibré à l'aide d'une méthode de calibration standard (en 6 points)

Pour effectuer une calibration standard AxSYM Cyclosporine, analyser les calibrateurs standards A, B, C, D, E et F en double. Un seul échantillon prétraité de chaque calibrateur standard est nécessaire pour effectuer une calibration sur l'AxSYM.

Le volume est suffisant pour analyser chaque calibrateur en double. Un échantillon de chacun des contrôles doit être analysé afin de pouvoir évaluer la calibration du dosage.

Lorsque la calibration du dosage AxSYM Cyclosporine a été acceptée et mémorisée, tous les échantillons suivants peuvent être analysés sans effectuer de nouvelle calibration, sauf si :

- Un coffret-réactifs portant un nouveau numéro de lot est utilisé ;
- Les valeurs des contrôles se situent hors des limites spécifiées.

b. Prétraitement des échantillons :

Avant d'être placés sur l'AxSYM, les échantillons (calibrateur, contrôles et échantillon de patients) sont soumis à un prétraitement afin de minimiser les interférences provoquées par des composés fluorescents endogènes liés aux protéines.

Ce prétraitement consiste à lyser les globules rouges dans le sang total à l'aide d'un réactif de solubilisation et à précipiter la protéine à l'aide d'un réactif de précipitation.

La cyclosporine est dissoute dans la phase liquide.

✚ On a laissé les échantillons (calibrateurs, contrôles et échantillons de patients) revenir à la température ambiante (entre 15 et 30 °C), puis on a mélangé en retournant délicatement sachant qu'il faut éviter toute agitation excessive afin d'empêcher la formation de mousse susceptible d'affecter les résultats.

✚ En changeant d'embouts de micropipette pour chaque transfert d'échantillon, on a ajouté la quantité exacte de 150 µl de chaque échantillon dans un tube pour centrifugeuse.



Figure 20 : Décantation des échantillons dans les tubes pour centrifugeuse.

✚ On a distribué 50 μ l de réactif de solubilisation dans chaque tube en dirigeant l'embout de la micropipette contre la paroi du tube pour centrifugeuse et en faisant descendre le piston jusqu'au bout.

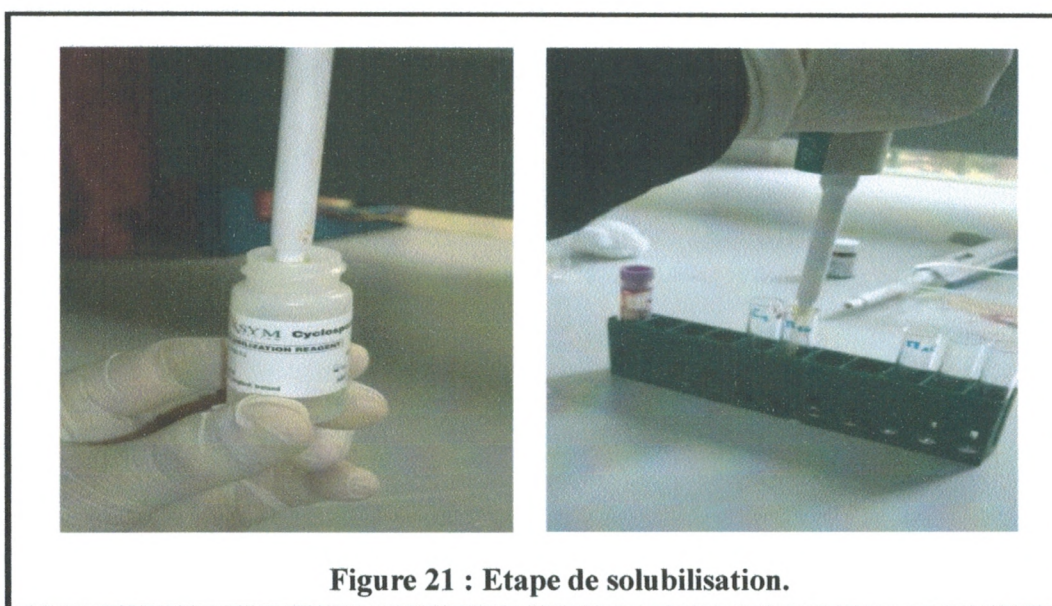


Figure 21 : Etape de solubilisation.

✚ Puis 300 μ l de réactif de précipitation dans chaque tube de centrifugation en dirigeant l'embout de la micropipette contre la paroi du tube pour centrifugation et en faisant descendre le piston jusqu'au bout. Il faut refermer les tubes immédiatement après l'ajout du réactif de précipitation et les faire passer au vortex pendant 10 secondes au minimum en examinant chaque tube afin de vérifier la présence d'un mélange homogène.

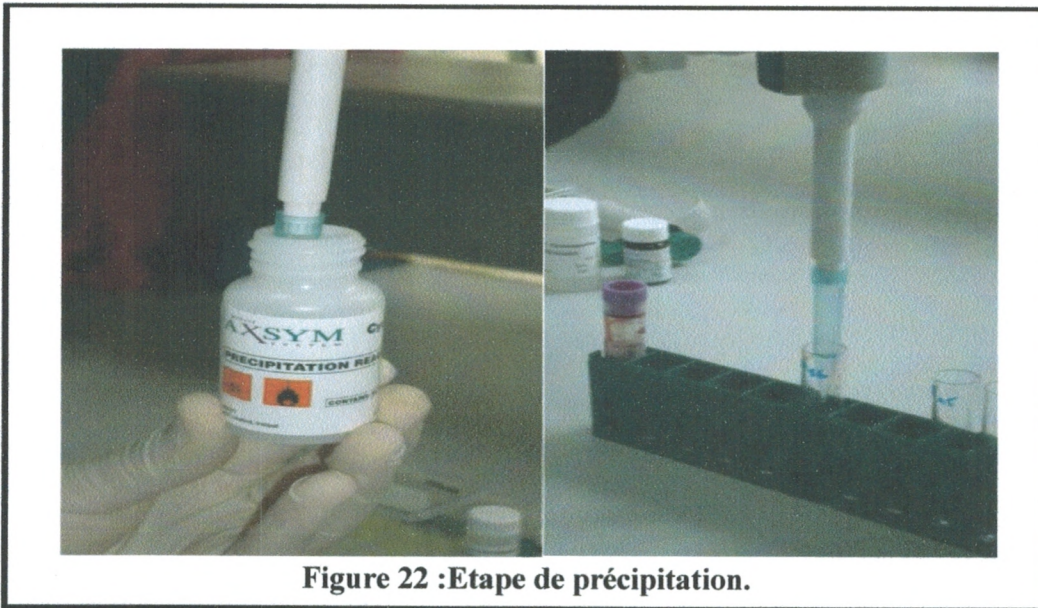


Figure 22 : Etape de précipitation.

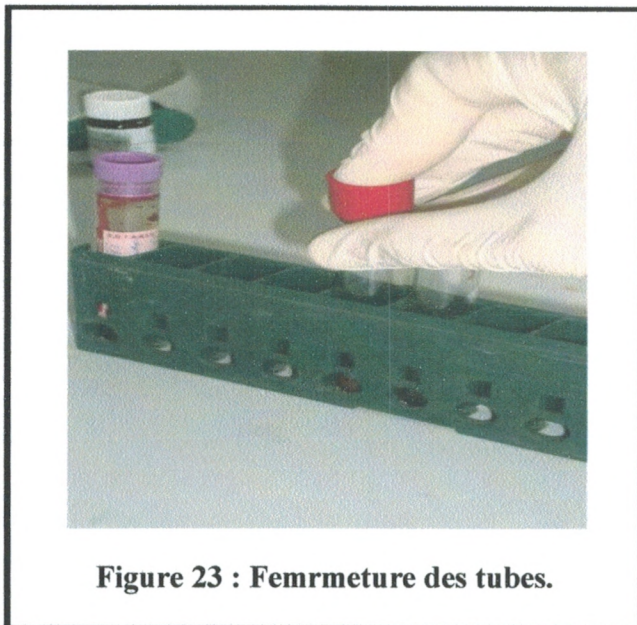


Figure 23 : Fermeture des tubes.

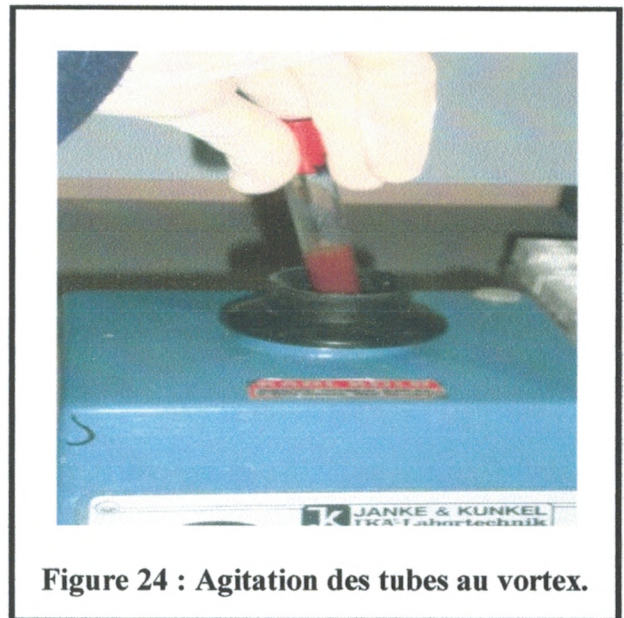


Figure 24 : Agitation des tubes au vortex.

Remarques : 1-Le réactif de précipitation A_xSYM est très volatil. Le maintenir bien fermé après utilisation pour éviter son évaporation.

2-Le fait d'agiter les échantillons sans tarder après l'ajout du réactif de précipitation permet de minimiser le temps nécessaire pour bien homogénéiser le mélange.

✚ Après l'homogénéisation des mélanges on passe les tubes à la centrifugation à 2000 tours pendant 20 minutes ou jusqu'à obtention d'un surnageant transparent et d'un culot de protéines compact et dur. Avant de lancer la centrifugation, vérifier que les tubes sont répartis de manière uniforme dans le rotor afin que celui-ci reste équilibré lors de la centrifugation.

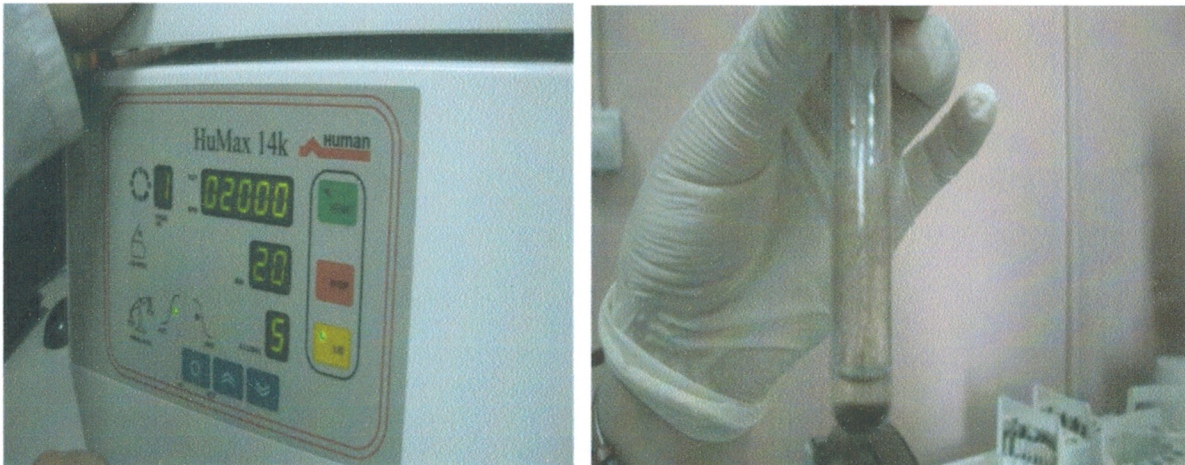


Figure 25 : Centrifugation des tubes et l'obtention des surnageants.

NB : 1- une durée de centrifugation insuffisante peut entraîner un volume d'échantillon insuffisant pour l'analyse par le dosage AxSYM Cyclosporine ou la présence de particules susceptibles d'affecter la précision du pipetage.

2- Une fois les échantillons centrifugés, il est possible de conserver les tubes de centrifugation bouchés à température ambiante (entre 15 et 30 °C) pendant 4 heures au maximum avant de décanter les surnageants et de les placer sur l'AxSYM.

✚ Après centrifugation et vérification de la présence d'un culot de protéines, décanter chaque surnageant dans un godet-échantillon (cupule) AxSYM approprié.



Figure 26 : Décantation des surnageants dans les cupules.

c. Procédure du dosage :

- ✚ Le dosage doit être effectué immédiatement après le transvasement des surnageants dans les godets-échantillons.
- ✚ Le volume d'échantillon prétraité nécessaire pour effectuer un dosage unique de la ciclosporine sur l'A_XSYM est de 184 µl.
- ✚ Avant de programmer les analyses, on a confirmé que la quantité de solutions communes ainsi que le niveau de remplissage des poubelles sont acceptables.
- ✚ Après qu'on a placé les godets (cupules) dans les segments-échantillons puis sur l'A_XSYM ; on a lancé l'analyse.

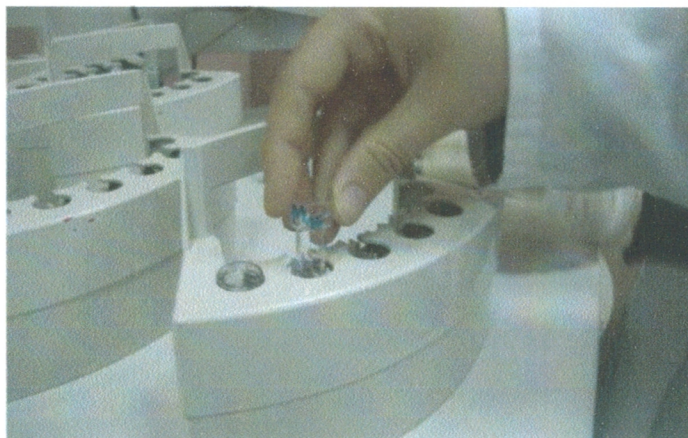


Figure 27 : La mise des cupules dans les segments.

- ✚ On a jeté tous les échantillons prétraités restants à la fin de l'analyse.
- ✚ Toute réanalyse exige que la procédure de "Prétraitement des échantillons " soit effectuée une nouvelle fois

II. Résultats :


Les patients ont bénéficiés d'un dosage sanguin de la ciclosporine résiduelle C_0 (juste avant la nouvelle prise de ciclosporine).

L'ensemble des résultats (caractéristiques des patients, et dosage sanguin de la C_0) est rapporté dans le tableau suivant (classement des patients par date de prélèvement) :

Tableau XIII : les différentes caractéristiques des patients étudiés.

| N° des patients | Sexe | Age (ans) | Date de greffe | Date de prélèvement | Dose journalière (mg/j) | Taux résiduel de la ciclosporine C_0 ($\mu\text{g/l}$) | Créatininémie (mg/l) | Clairance de la créatinine (ml/min) | Interactions médicamenteuses |
|-----------------|------|-----------|----------------|---------------------|-------------------------|--|----------------------|-------------------------------------|------------------------------|
| 01 | F | 21 | 28/10/2011 | 04/03/2013 | 190 | 122,30 | 12,5 | 69,80 | NEO*-COR* ; |
| | | | | 08/04/2013 | 190 | 95,40 | 7,57 | 124,52 | APC* |
| | | | | 23/04/2013 | - | 117,60 | 16,15 | 51,94 | // |
| 02 | F | 37 | 20/03/2006 | 04/03/2013 | 170 | 68,80 | 14 | 54,59 | NEO*-COR* ; |
| | | | | 08/04/2013 | 180 | 25,50 | 19 | 38,38 | APC* |
| | | | | 15/04/2013 | 170 | 44,20 | 14,68 | 51,69 | NEO*-IMU* ; |
| 03 | H | 36 | 23/12/2007 | 18/03/2013 | 180 | 46,20 | 14 | 73,99 | APC* ; |
| | | | | 18/04/2013 | 180 | 88,30 | 14,39 | 71,68 | NEO*-COR* ; |
| | | | | | | | | | APC* ; |
| | | | | | | | | | NEO*-COR* ; |
| | | | | | | | | | APC* ; |
| | | | | | | | | | // |

| | | | | | | | | | |
|----|---|----|------------|------------|-----|--------|-------|-------|--|
| 04 | H | 39 | 2007 | 18/03/2013 | 120 | 63,00 | 13,67 | 74.83 | NEO*-COR* : APC* |
| 05 | H | 50 | 13/04/2009 | 25/03/2013 | 120 | 64,30 | 15 | 63.92 | NEO*-COR* : APC* |
| 06 | H | 29 | 12/05/2011 | 04/03/2013 | 170 | 269,20 | 14,34 | 75.20 | NEO*-COR* : APC* |
| | | | | 08/04/2013 | 240 | 282,10 | 10 | 51.22 | APC* |
| | | | | 06/05/2013 | - | 174,20 | 14,63 | 73.48 | // |
| 07 | F | 33 | 29/04/1990 | 08/04/2013 | 100 | 65,90 | 17 | 44.66 | NEO*-COR* : APC* / NEO*- IMU* : APC* |

H : homme  greffe récente APC* : association à prendre en compte. COR* : Cortancyl (Prédnisone)

F : femme  greffe ancienne NEO* : Néoral IMU* : Imurel (azathioprine)

↳ Les paramètres de travail sont : le sexe, l'âge, la date de greffe, et le taux de créatinine, ils ont été recueillis à partir des fiches du STP de la ciclosporine.

↳ Les études statistiques (moyenne, écart type) sont réalisées à l'aide du logiciel Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) version 17.

↳ Les histogrammes et les circulaires sont faits à partir de l'Excel version 2007.

II.1. Caractéristiques de la population étudiée :

II.1.1. Répartition des patients selon le sexe :

Le tableau et la figure suivants résument la répartition des greffés selon le sexe :

Tableau XIV : Répartition des patients selon le sexe.

| Sexe | Pourcentage des patients (%) | Sexe ratio |
|-------|------------------------------|------------|
| Homme | 57 % | 1.32 |
| Femme | 43 % | |

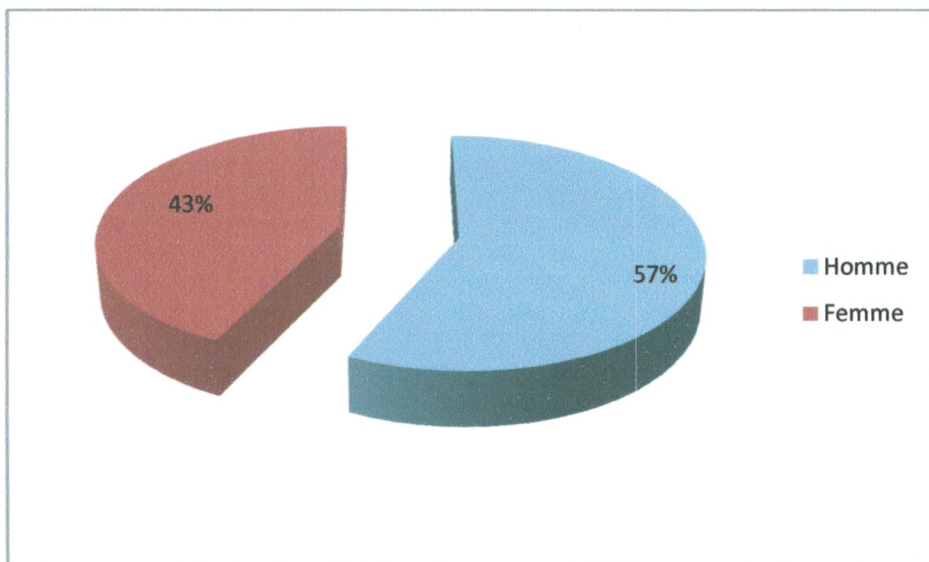


Figure 28 : Répartition des patients selon le sexe.

II.1.2. Répartition des patients selon la tranche d'âge :

La répartition en tranche d'âge est représentée dans le graphique suivant :

Tableau XV : Répartition des patients selon la tranche d'âge.

| Age | Pourcentage | Minimum | Maximum | Moyenne | Ecart type |
|---------|-------------|---------|---------|---------|------------|
| [20-30] | 28.57% | 21 | 50 | 35,00 | 8,963 |
| [31-40] | 57.14% | | | | |
| [41-50] | 14.28% | | | | |

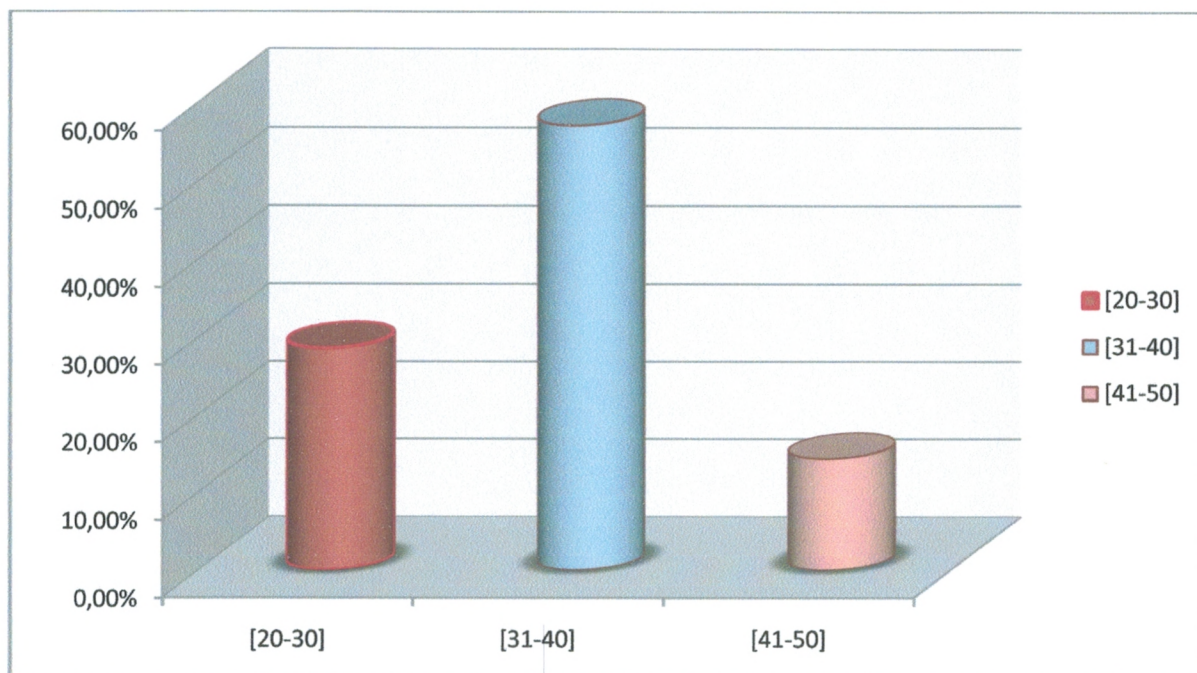


Figure 29 : Répartition des patients selon la tranche d'âge.

◆ L'âge moyen des patients est de $35 \pm 8,963$ [21-50ans].

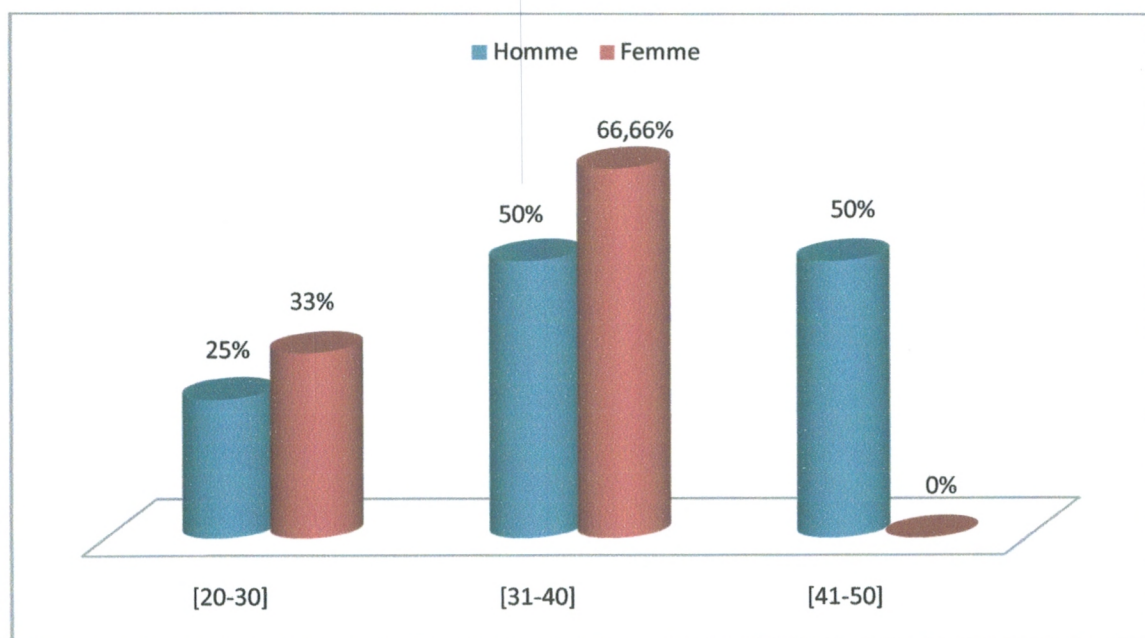


Figure 30 : Répartition des patients selon le sexe et la tranche d'âge.

II.1.3 Répartition des patients selon le délai post-greffe :

Tableau XVI : Répartition des patients selon le délai post-greffe.

| Délai post- greffe (ans) | Pourcentage % | Minimum (ans) | Maximum (ans) | Moyenne | Ecart type |
|-----------------------------|------------------|------------------|------------------|---------|------------|
| 2 | 28,6 % | 2 | 23 | 7.14 | 7.267 |
| 4 | 14,3 % | | | | |
| 6 | 28,6 % | | | | |
| 7 | 14,3 % | | | | |
| 23 | 14,3 % | | | | |

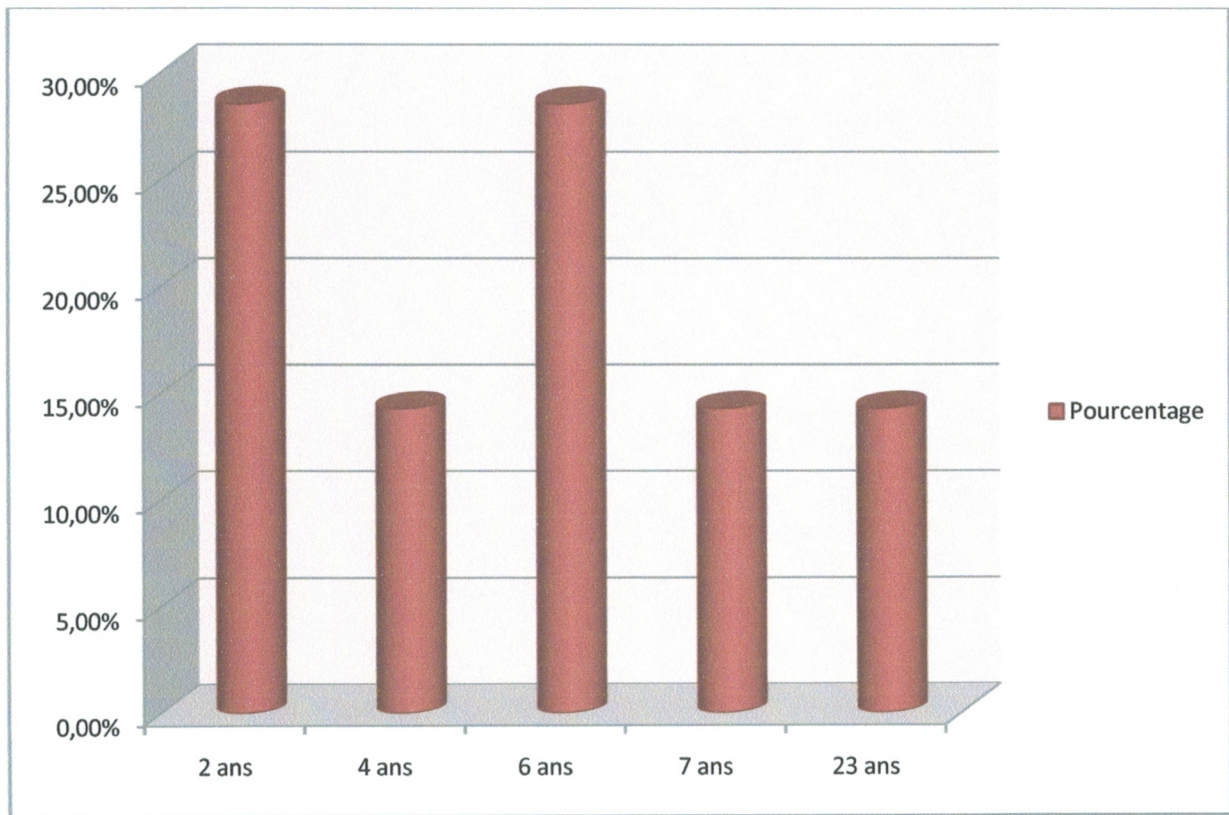


Figure 31 : Répartition des patients selon le délai post-greffe.

II.2. Résultats du dosage sanguin de la ciclosporine résiduelle C_0 :

II.2.1 Répartition des patients selon la fourchette thérapeutique de C_0 :

Le tableau suivant résume les pourcentages des prélèvements selon la fourchette thérapeutique :

Tableau XVII : Répartition des C_0 par rapport à la fourchette thérapeutique.

| Pourcentage des prélèvements (%) | Ciclosporinémie résiduelle (C_0) ($\mu\text{g/l}$) |
|----------------------------------|--|
| 50 % | < 75 |
| 28,57 % | 75-150 |
| 21,42 % | > 150 |

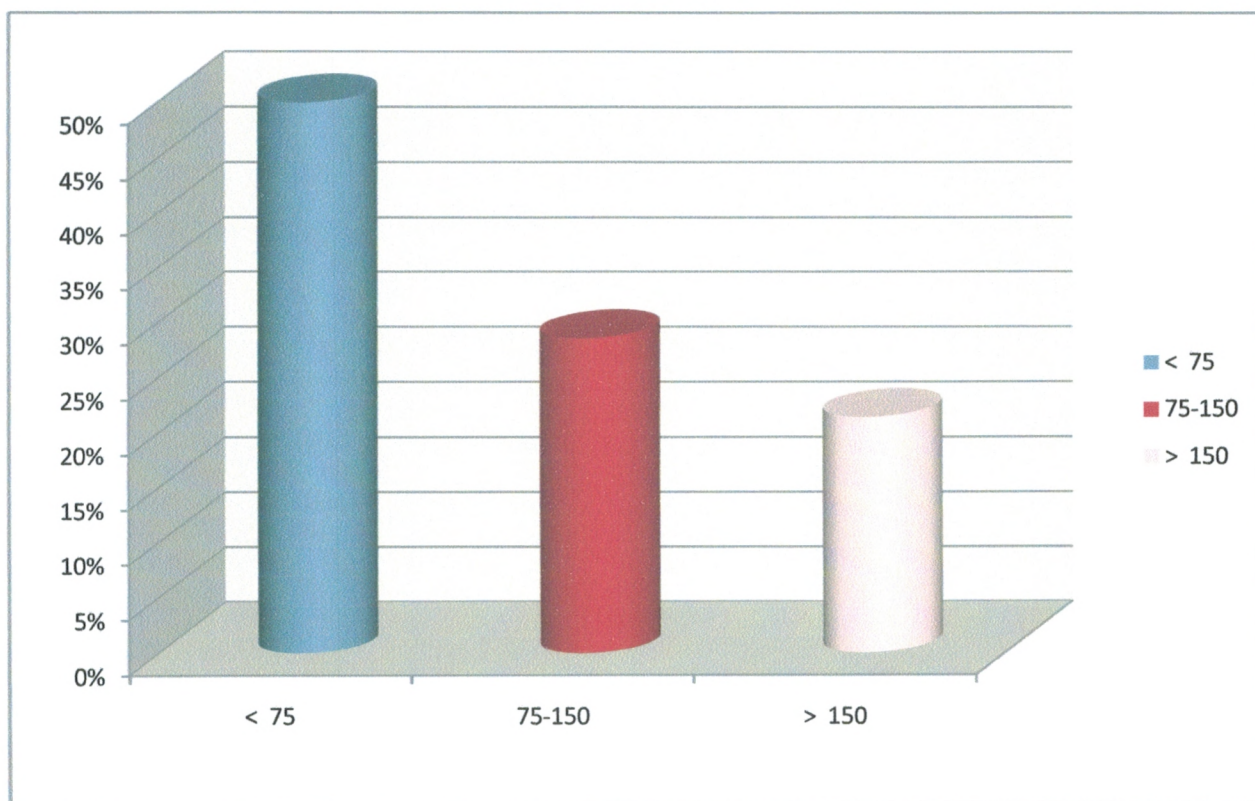


Figure 32 : Répartition des C_0 par rapport à la fourchette thérapeutique.

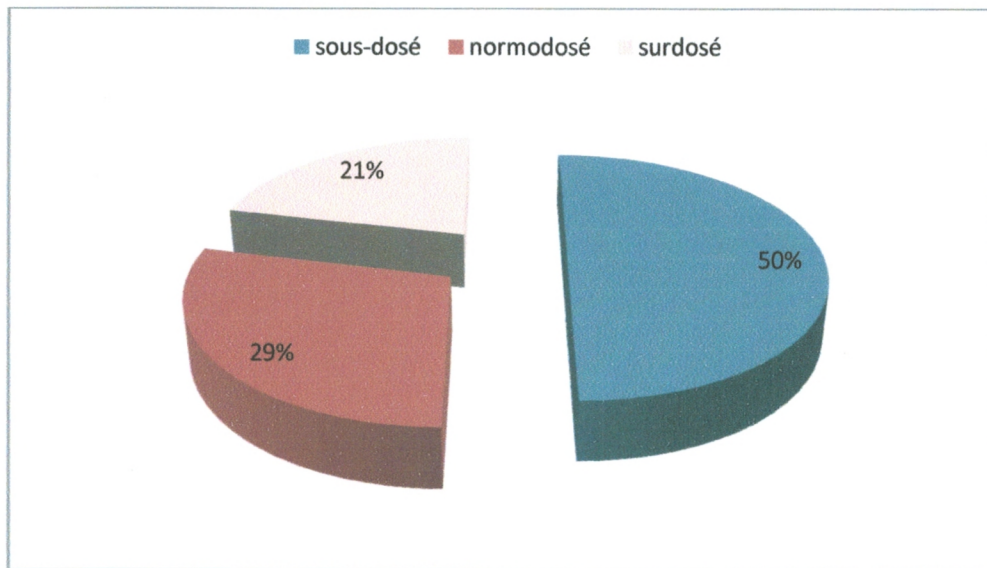


Figure 33: Répartition des C_0 par rapport à la fourchette thérapeutique.

II.2.2. Répartition des patients selon la fourchette thérapeutique de C_0 et le sexe :

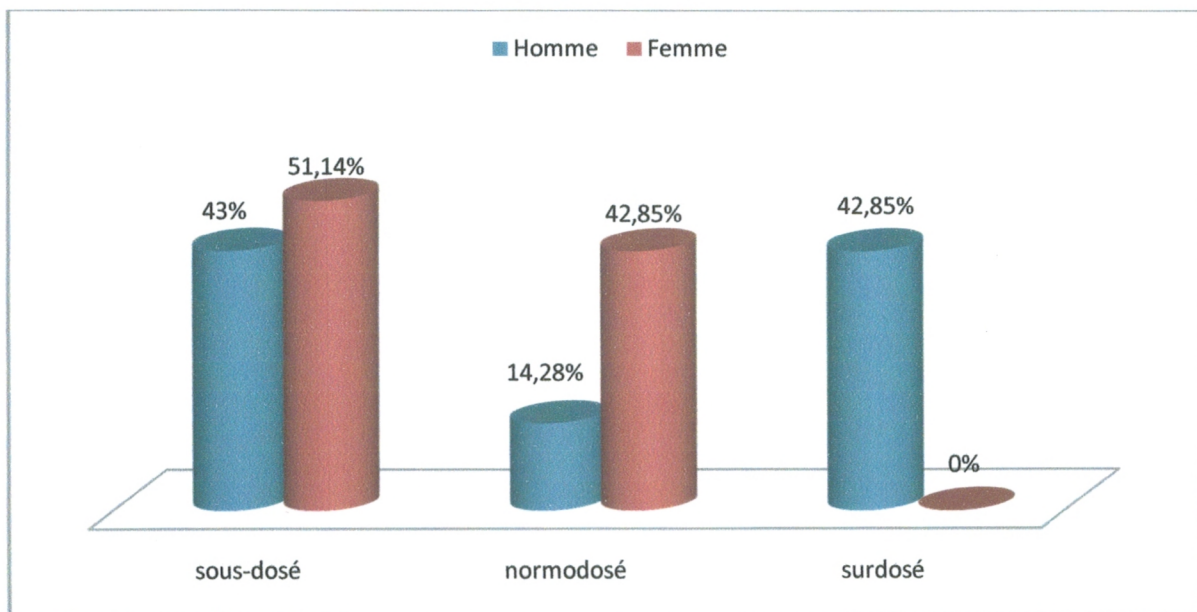


Figure 34 : Répartition des C_0 par rapport à la fourchette thérapeutique et le sexe.

II.2.3. Répartition des patients selon la fourchette thérapeutique de C_0 et les tranches d'âge :

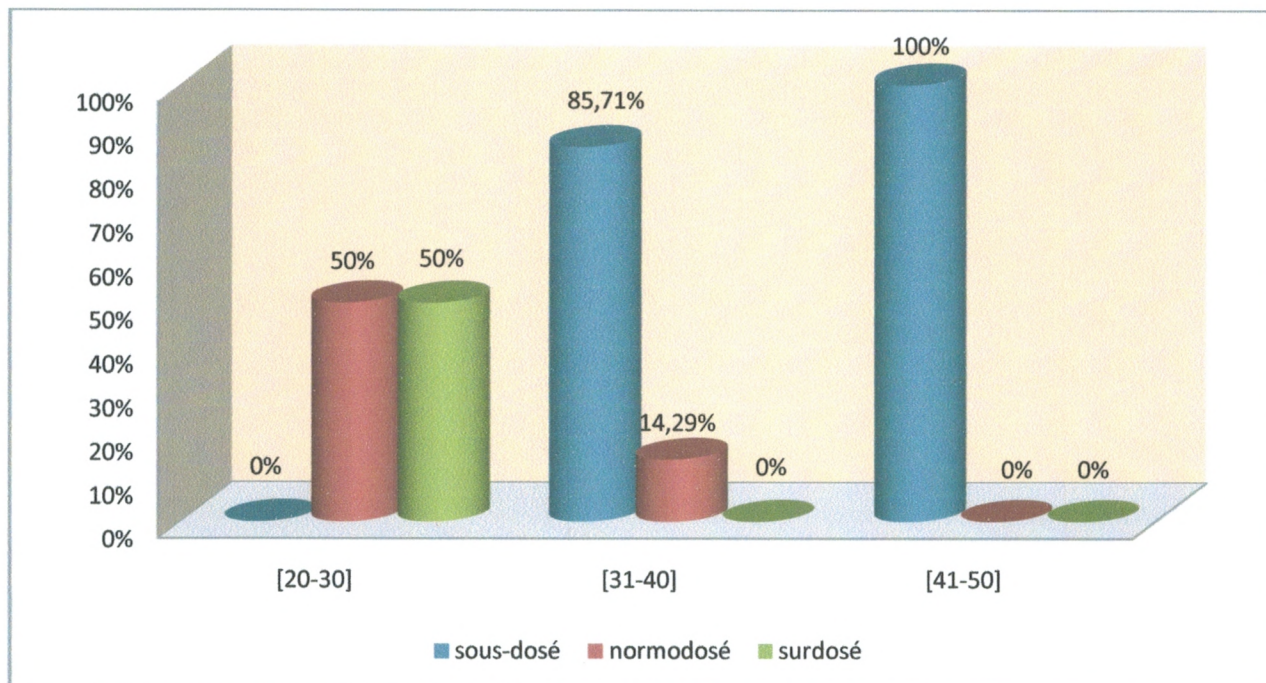


Figure 35: Répartition des patients selon la fourchette thérapeutique de C_0 et les tranches d'âge

II.3. Les tests de corrélation :

Les marges des indices de corrélation, nécessaires à l'interprétation des résultats sont rapportées dans les tableaux ci-dessous.

Tableau XVIII : les différentes relations en fonction de l'indice de corrélation (R^2).

| R^2 | Interprétation |
|---------------------|---------------------------|
| $-1 < R^2 < 0$ | Relation négative |
| $0 < R^2 < 1$ | Relation positive |
| $0 < R^2 < 0.30$ | Relation positive faible |
| $0.30 < R^2 < 0.64$ | Relation positive moyenne |
| $0.64 < R^2 < 1$ | Relation positive forte |

II.3.1. Corrélation C_0 -l'âge :

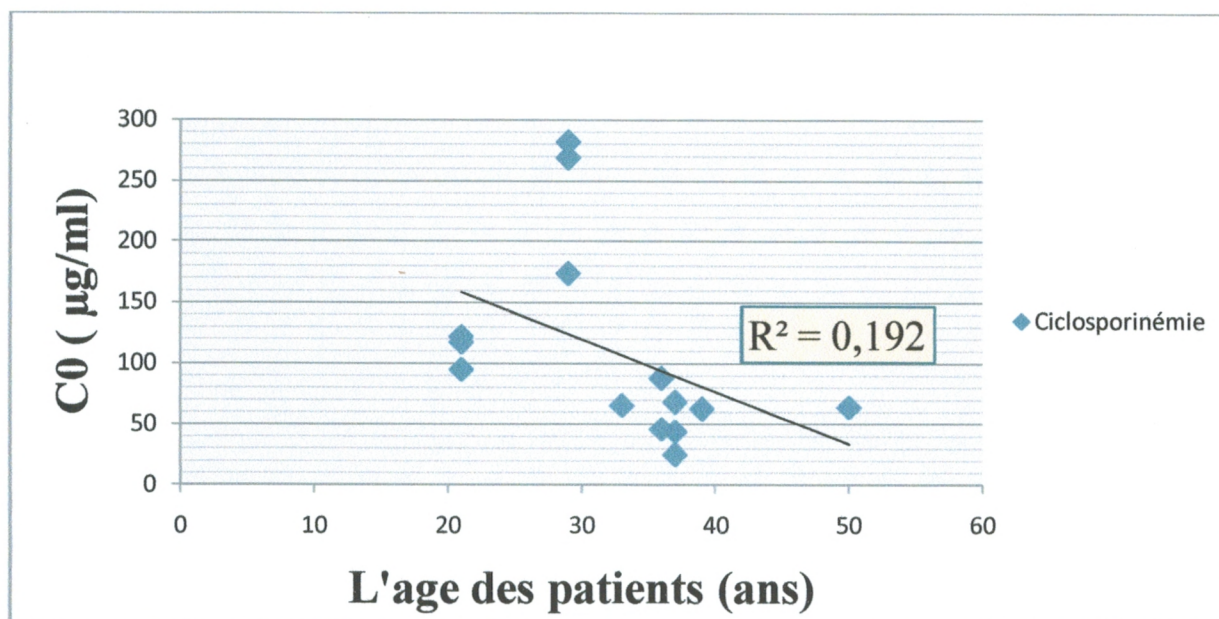


Figure 36 : Courbe de régression étudiant la corrélation entre la C_0 et l'âge des patients.

II.3.2. Corrélation C_0 -date de greffe :

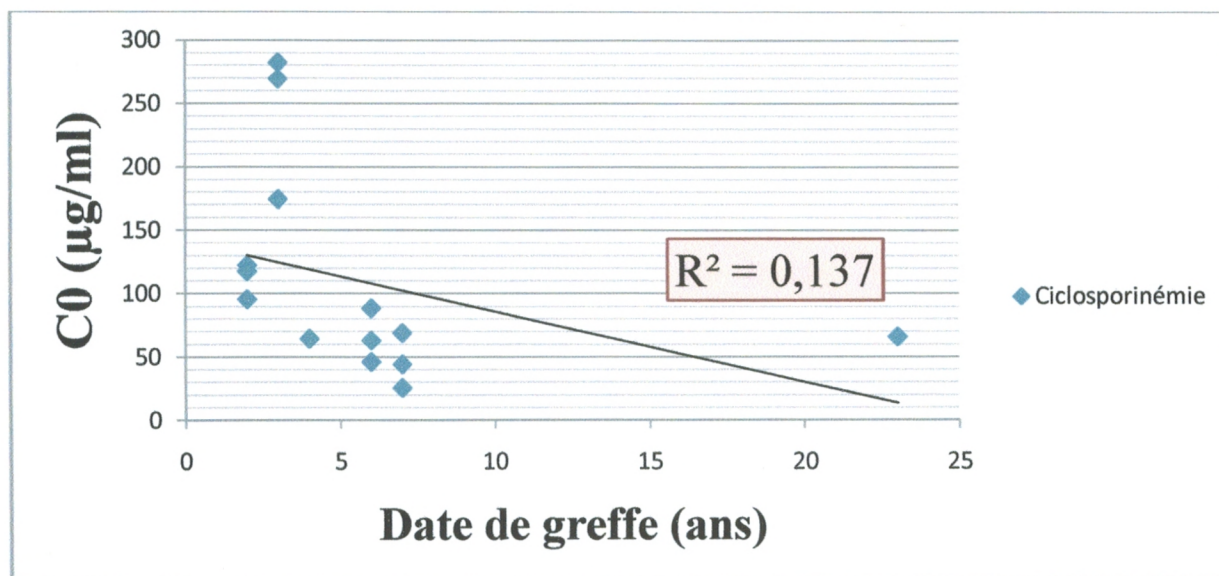


Figure 37 : Courbe de régression étudiant la corrélation entre la C_0 et la date de greffe.

II.3.3. Corrélation C₀- dose journalière :

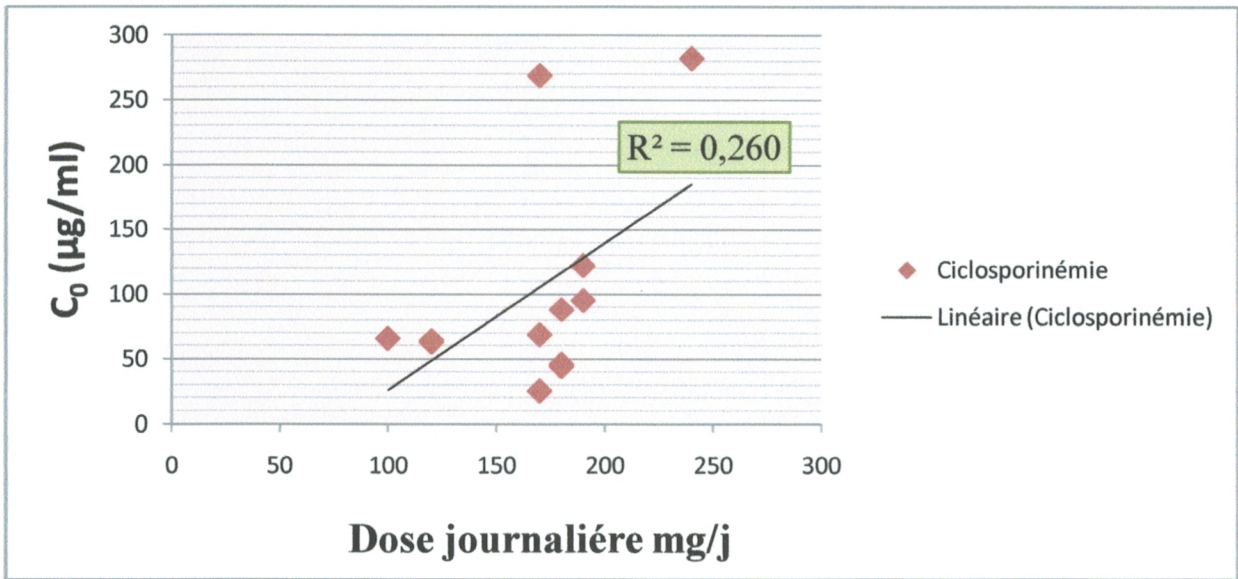


Figure 38 : Courbe de régression étudiant la corrélation entre la C₀ et la dose journalière de la CsA.

II.3.4. Corrélation C₀ – Clairance rénale :

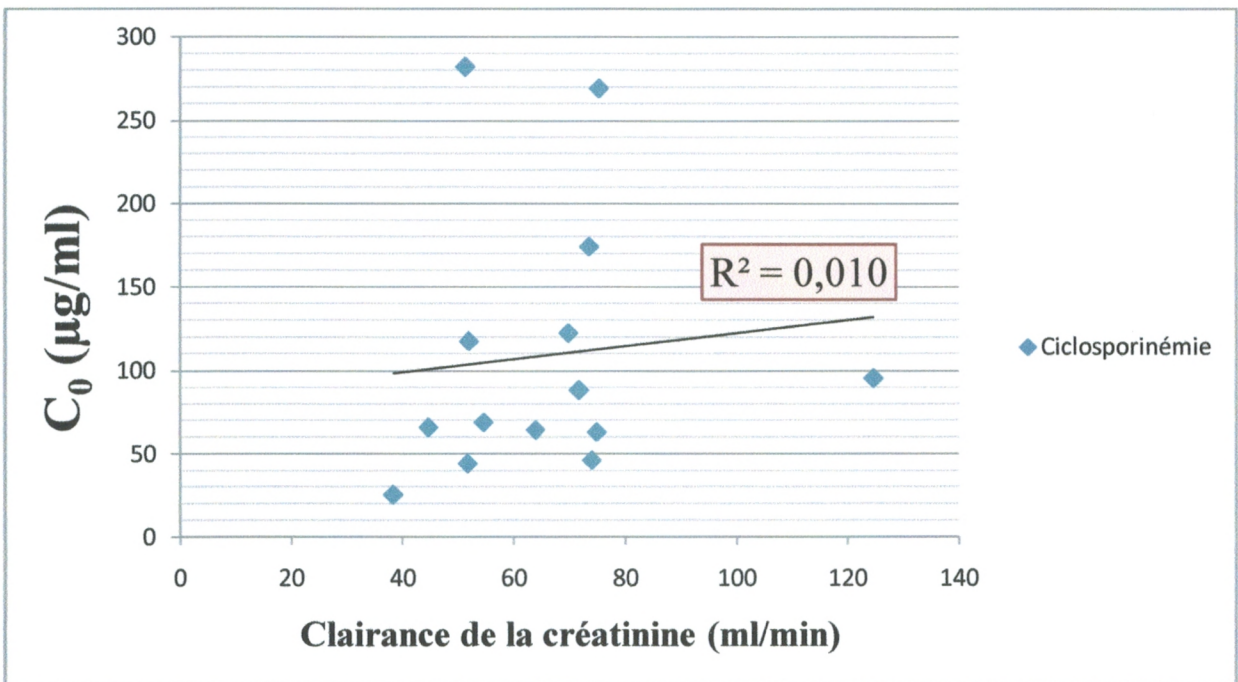


Figure 39 : Courbe de régression étudiant la corrélation entre la concentration résiduelle C₀ et la clairance rénale.

III. Discussion :

Il est nécessaire de mettre l'accent sur l'importance de l'atteinte de la zone thérapeutique chez les transplantés rénaux.

En pratique, le suivi thérapeutique pharmacologique est recommandé en routine. C'est un moyen primordial de la prise en charge des malades sujets à des complications engendrées par le surdosage et le sous dosage de la Ciclosporine. . La mesure du taux résiduel (C_0) est la plus couramment utilisée pour la ciclosporine.

Si le taux résiduel C_0 est inférieur à la valeur minimale de l'intervalle thérapeutique, il y a risque de rejet d'organe ou risque de réapparition des symptômes auto-immuns. Si la concentration est supérieure à la valeur maximale les effets secondaires toxiques pourront s'observer (atteinte rénale, élévation de la tension artérielle, hyperlipidémie...).

En effet, l'étude de la nature de la relation existante entre les concentrations sanguines de la ciclosporine basse ou élevée et la dose journalière, la clairance rénale de la créatinine, la date de la greffe rénale, nous permet d'expliquer en partie les variations inter-individuelle et intra-individuelle des taux résiduels de la ciclosporine, et surtout nous oriente vers le choix du paramètre du suivi le plus adéquat pour un suivi thérapeutique rigoureux.

Le présent travail aurait pu être plus global c'est-à-dire réalisée sur une grande population si certaines conditions auraient été réunies telles que :

- La présence d'une unité de suivi thérapeutique pharmacologique, avec un espace réservé pour faire les prélèvements et le recueil des informations des patients d'une façon plus organisé permettant ainsi d'éviter le manque de certaines données nécessaires à l'interprétation des résultats (manque de certaines fiches pour quelques patients).
- La constitution des dossiers des patients au niveau de l'unité du suivi thérapeutique pour analyser les informations des patients et l'évolution individuelle de la Ciclosporinémie, ainsi de garder une traçabilité des résultats.

Cependant, ces problèmes ne remettent pas en cause les conclusions de l'étude.

- ◆ Selon la figure 36 représentant la corrélation entre C_0 et l'âge des patients : l'indice de corrélation R^2 est de **0.192**

Ce qui explique qu'il y a une faible relation entre l'âge des patients et les variations inter-individuelle de la ciclosporine résiduelle C_0 .

II.4. La répartition des patients selon la date de greffe et corrélation avec le taux résiduel C_0 de la ciclosporine :

Sur 14 prélèvements :

- ✚ Les anciens greffés (1990-2007) sont tous sous dosés sauf un seul patient qui a été sous dosé puis après adaptation posologique ; la C_0 est revenue à la normale.
- ✚ Les greffés récents (2009-2011):
 - 1 patient est sous-dosé (14.28% des prélèvements des greffés récents)
 - 1 patient normodosé (42.85 % des prélèvements)
 - 1 patient surdosé (42.85% des prélèvements).

Autrement dit :

- Parmi les 7 prélèvements sous-dosés, 85.71 % sont issus des anciens greffés et 14.28 % des patients greffés récemment.
- Pour les 4 prélèvements normodosés : 25 % provenant des anciens greffés et 75 % des patients greffés récemment.
- Les 3 prélèvements restants, surdosés, sont tous issus d'un patient greffé récemment.

La courbe de régression représentée dans la figure 37 étudie la corrélation entre la C_0 et la date de la greffe rénale.

Selon notre étude, on constate qu'il y a une faible corrélation ($R^2 = 0.137$) entre les taux résiduel de la ciclosporine C_0 et le délai post-greffe.

Les données existante de la littérature ; montre que le dosage de la concentration résiduelle (C_0) avant la prise matinale est réalisée dans la majorité des centres pour les patients transplantés de longue date. Alors que la mesure de la concentration à 2 heures (C_2) de ciclosporine est la méthode optimale pour le suivi du traitement par Néoral® d'un patient nouvellement et anciennement transplanté du rein, et peut être utile pour détecter une toxicité par surdosage en ciclosporine.

Selon les recommandations du consensus européen en 2005, les modalités de suivi (C_0 ou C_2) et les cibles souhaitées sont à établir en fonction de la période de transplantation et du risque

immunologique individuel. La communication de ces cibles au médecin et au patient doit permettre une adaptation optimale des posologies tout en évitant les risques d'erreurs de prescription souvent liés à la confusion entre les différents résultats.

II.5. Relation entre les variations du taux résiduel avec le traitement associé :

Des concentrations sériques inattendues évoquent la possibilité d'interactions médicamenteuses (extrêmement fréquentes) ;

A partir des fiches du suivi des patients, on constate que la prise de la ciclosporine a été accompagnée par la prise de :

- Cortancyl (Prédnisone) + Cellcept (mycophénolate mofétil) pour 4 patients soit 57,14 % de notre échantillon ;
- Cortancyl + Imurel (Azathioprine) pour 2 patients (28,57 % de notre échantillon).
- Cortancyl avec l'Oméprazole pour un patient (14,28 % de l'échantillon).

En utilisant le Vidal 2011 et Vidal expert on peut détecter la présence de deux interactions d'ordre pharmacodynamique à prendre en compte:

- Entre la ciclosporine et le Prédnisone chez tous les patients (100 %) dont le mécanisme est l'augmentation des effets des corticoïdes : aspect cushingoïde, avec réduction de la tolérance aux glucides (diminution de la clairance des corticoïdes).
- Entre la CsA et l'Azathioprine chez 2 patients soit 28,57 %, caractérisée par immunodépression excessive avec risque de syndrome lymphoprolifératif.

D'après nos résultats on remarque chez la patiente n° 2 :

- La posologie des médicaments associés (Imurel et Cortancyl) n'a pas été modifiée au cours de son suivi (3 mois).
- La patiente était exposée à un sous-dosage avec une posologie de 170 mg/j de Néoral, une augmentation de 10 % de la dose conduit à une diminution de la C_0 de 68,80 µg/l à 25,50 µg/l.
- Par contre le retour à la dose initiale (170 mg/j) a provoqué une augmentation légère du taux résiduel de la CsA à 44,20 µg/l, mais ce dernier reste toujours sous-thérapeutique.

D'après nos résultats les médicaments associés n'influencent pas le taux résiduel C_0 .

Donc l'adaptation posologique reste imprévisible nécessitant un suivi thérapeutique rigoureux.

II.6. Corrélation entre C_0 et la dose journalière de la ciclosporine :

- ↳ La posologie journalière de la ciclosporine est répartie en deux prises.
- ↳ Pour notre population la posologie journalière varie entre 120 mg/j et 240mg/j.

Selon notre étude, on constate qu'il existe une faible corrélation entre le taux résiduel C_0 et la dose journalière de la ciclosporine ($R^2=0.260$).

Cette faible corrélation peut s'expliquer par l'extrême variabilité inter individuelle (et intra individuelle qui est mieux appréciée dans l'étude des cas) et confirme qu'une même dose peut impliquer des concentrations différentes d'un patient à un autre.

Par exemple :

Le patient N° 03 : pour 180 mg/j de ciclosporine la concentration résiduelle C_0 est de 46.20 $\mu\text{g/ml}$, puis elle augmente jusqu'à 88.30 $\mu\text{g/ml}$ pour la même posologie.

II.7. Corrélation entre le taux résiduel C_0 et la fonction rénale (la créatininémie et clairance rénale de la créatinine) :

II.7.1. Selon la créatininémie :

Selon les recommandations de l'**American Society of Transplantation (AST)** une surveillance de la fonction rénale est nécessaire durant toute la vie du transplanté rénal afin de pouvoir identifier et traiter des atteintes dont certaines sont réversibles, à savoir : le rejet aigu et la néphrotoxicité des immunosuppresseurs.

Dans notre étude :

- Parmi les 14 prélèvements :
 - 11 prélèvements (soit 78,57%) sont caractérisés par une créatininémie élevée.
 - 3 prélèvements (soit 21,42%) présentant une créatininémie diminuée sachant que la fourchette de la créatininémie est [6-13mg/l].
- La plupart des patients sous-dosés présentant une créatininémie supérieure à la normale sauf un patient après adaptation posologique sa C_0 devient normale mais la créatininémie reste toujours élevée.
- Pour la patiente N°1 la C_0 elle est toujours normale avec une créatininémie normale qui a été augmentée malgré la stabilité posologique.

- Pour le patient N° 6 la C_0 est toujours supérieure à la limite au cours des trois prélèvements malgré que le médecin traitant ait changé la posologie et ceci est accompagné d'une instabilité de la créatininémie.

b. La clairance rénale :

↳ Le calcul de la clairance rénale selon la formule MDRD (Modification of the Diet in *Renal* Disease) se fait à partir du logiciel « Calcul de la clairance de la créatinine ».

La courbe de régression représentée dans la figure 39 étudie la corrélation entre la C_0 et la clairance rénale de la ciclosporine chez les greffés rénaux l'ayant reçue.

Il existe une faible corrélation entre la clairance rénale et la concentration résiduelle de la ciclosporine ($R^2=0.010$), On peut déduire que :

- Les taux résiduels C_0 de la ciclosporine ne peuvent pas constituer un paramètre prédictif de la fonction rénale : une concentration résiduelle élevée n'implique pas la survenue d'une néphrotoxicité. En effet, des patients ayant une fonction rénale normale peuvent avoir des concentrations résiduelles dans la zone thérapeutiques.
- D'après nos résultats, la néphrotoxicité de la CsA ne peut pas être mise en évidence par le monitoring basé sur la C_0 seule.

IV. Conclusion préliminaire:

La concentration résiduelle (C_0) de la ciclosporine est facilement utilisable en routine et fortement ancrée dans les habitudes des cliniciens.

Or la mesure du C_0 semble insuffisante pour certains patients non équilibrés (présentant un sous-dosage ou surdosage) car ce paramètre est mal corrélé principalement à la dose journalière et la fonction rénale, et est un faible reflet de la variabilité inter- et intra-individuelle de la pharmacocinétique de la ciclosporine.

De ce fait, ce paramètre est peu relié au risque d'apparition d'effets indésirables ou d'une inefficacité thérapeutique.

Chapitre II : Etude de deux cas réfractaires.

Type d'études :

Pendant la période de notre étude, on a remarqué que certains patients restés non équilibrés (présentant un sous-dosage ou un surdosage) malgré les modifications posologiques faites par le médecin traitant en se basant uniquement sur les le taux résiduel de la ciclosporine C_0 , ce qui nous a incités à consulter les dossiers médicaux des greffés rénaux conservés au niveau du service de néphrologie du CHU - TLEMCEN.

I. Etude du premier cas :

I.1. Profil du patient :

M^R .O.A, âgé de 36 ans, a bénéficié d'une greffe rénale le 23/12/2007 suite à une insuffisance rénale chronique.

I.2. Traitement immunosuppresseur par la ciclosporine :

Ce patient est traité par Néoral solution buvable 100 mg/ml : répartis en deux prises par jour (voire la posologie dans le tableau) ;

I.3. Problèmes liés à la thérapeutique :

Le patient n'est pas équilibré. Les valeurs de la Ciclosporine résiduelle C_0 se situe au dessous de la fourchette thérapeutique (75-150 ng/ml) (sous-dosage).

I.4. Résultats :

Les valeurs de C_0 après modifications posologiques sont regroupées dans le tableau suivant :

Tableau XIX : Les variations de la C_0 en fonction des modifications posologiques et date de prélèvement.

| Posologie avant dosage | Date de prélèvement | Ciclosporinémie C_0 ($\mu\text{g/l}$) |
|------------------------|---------------------|---|
| 160 mg/j | 11/06/2012 | 40,00 |
| 160 mg/j | 03/07/2012 | 66,70 |
| 180 mg/j | 03/09/2012 | 76,60 |
| 180 mg/j | 17/12/2012 | 71,10 |
| 180 mg/j | 21/01/2013 | 68,90 |
| 180 mg/j | 18/03/2013 | 46,10 |
| 180 mg/j | 20/03/2013 | 46,20 |
| 180 mg/j | 08/04/2013 | 48,20 |
| 180 mg/j | 18/04/2013 | 88,30 |
| 160 mg/j | 23/04/2013 | 67,00 |

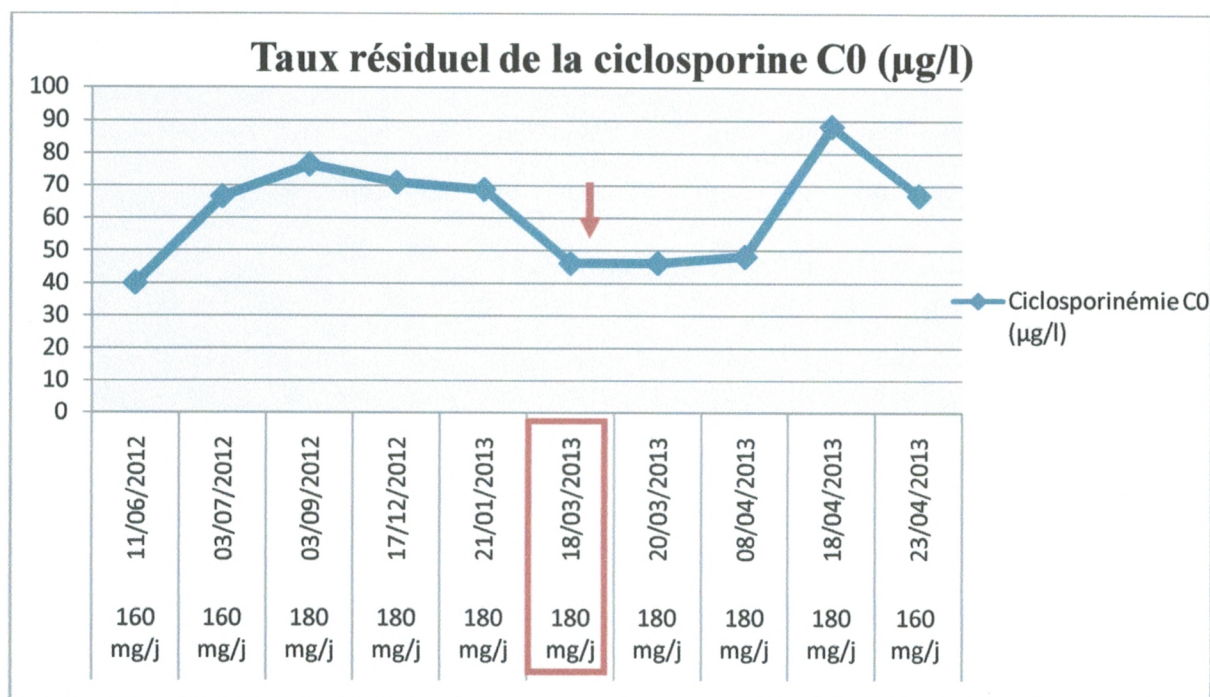


Figure 40 : Les variations de la C₀ en fonction des modifications posologiques et date de prélèvement.

I.5. Interprétation :

La cinétique non linéaire de la ciclosporine est bien appréciée dans ce cas : l'augmentation de la posologie de 12,5% (de 160 mg/j à 180 mg/j) a pour conséquence l'augmentation du taux résiduel de la ciclosporine de 14,8% (de 66,7 à 76,6 µg/l).

Juste après cette nouvelle posologie, la ciclosporine résiduelle C₀ s'est retrouvée dans l'intervalle thérapeutique (à la limite inférieure de l'intervalle).

Au cours du traitement par la dose 180mg/j la ciclosporinémie n'était pas stable ceci illustre bien les variations intra-individuelles.

I.6. Traitement immunosuppresseur du patient et Médicaments associés :

La prévention du rejet repose sur l'association d'un ACN (Néoral), d'un antimétabolite (Cellcept) et d'un corticoïde (Cortancyl) :

- ↳ Cellcept (MMF) cp 500 mg : 2 comprimés le matin et 1 comprimé le soir ;
- ↳ Cortancyl (Prédnisone) cp 5 mg : 1 comprimé par jour.

Analyse de l'ordonnance :

- ✚ Pas de contre-indications.
- ✚ Les interactions médicamenteuses :
 - ❖ Une interaction a été observée entre Cortancyl et Néoral (en se basant sur le Vidal 2011).
 - ❖ Niveau d'association : à prendre en compte (APC).
 - ❖ Mécanisme d'interaction : c'est une interaction d'ordre pharmacodynamique par augmentation des effets des corticoïdes : aspect cushingoïde, avec réduction de la tolérance aux glucides (diminution de la clairance des corticoïdes).

II. Etudes du deuxième cas:**II.1. Profil du patient :**

M^{me} G.M, 33 ans, a bénéficié d'une greffe rénale le 29/04/1990 suite à une insuffisance rénale chronique.

II.2. Traitement immunosuppresseur par la ciclosporine :

Ce patient est traité par Néoral solution buvable 100 mg/ml : répartis en deux prises par jour (voire la posologie dans le tableau) ;

II.3. Problèmes liés à la thérapeutique :

Le patient n'est pas équilibré. Les valeurs de la ciclosporine résiduelle C_0 se situe au dessous de la fourchette thérapeutique (75-150 $\mu\text{g/l}$) (sous-dosage).

II.4. Résultats :

Les valeurs de C_0 après modifications posologiques sont regroupées dans le tableau suivant :

Tableau XX : Les variations de la C_0 en fonction des modifications posologiques et date de prélèvement.

| Posologie avant dosage | Date de prélèvement | Ciclosporinémie C_0 ($\mu\text{g/l}$) |
|------------------------|---------------------|---|
| 90 mg/j | 10/09/2012 | 105,10 |
| 80 mg/j | 17/12/2012 | 58,70 |
| 80 mg/j | 19/03/2013 | 28,00 |
| 100 mg/j | 01/04/2013 | 47.10 |
| 100 mg/j | 08/04/2013 | 42,50 |

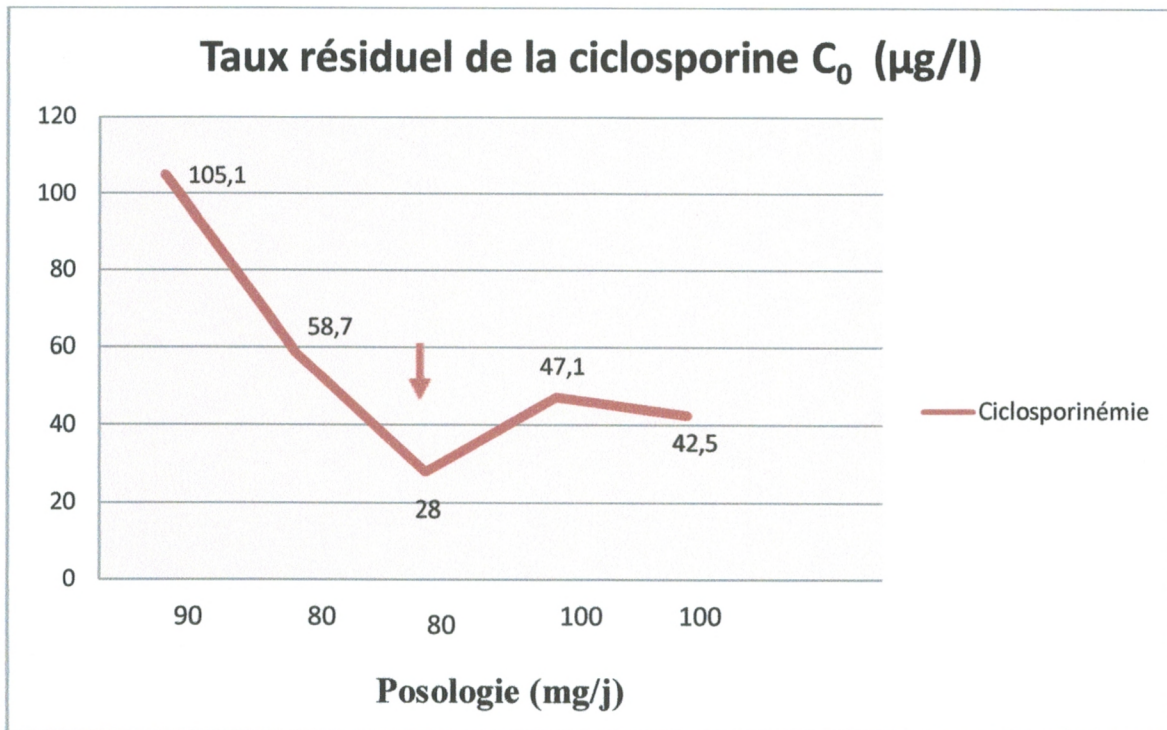


Figure 41 : Les variations de la C_0 en fonction des modifications posologiques et date de prélèvement.

II.5. Interprétation :

Au début la C_0 était normale puis elle a diminuée de 73.33% (de 105.10 $\mu\text{g/l}$ à 28 $\mu\text{g/l}$ après diminution de la posologie de 11.11% (de 90 mg/j à 80 mg/j).

Puis L'augmentation de cette dernière de 25% (de 80 mg/j à 100 mg/j) a comme conséquence l'augmentation de la C_0 avec un pourcentage de 50 %, mais elle a restée toujours en dehors de la zone thérapeutique (inférieure à la normale).

II.6. Traitement immunosuppresseur du patient et Médicaments associés :

L'ordonnance prescrite est la suivante :

- ↵ Néoral solution buvable 100mg/ml
- ↵ Cortancyl cp 5 mg : 1comprimé par jour.
- ↵ Imurel (Azathioprine) cp : 1/2comprimé par jour.

Analyse de l'ordonnance :

- + Pas de contre-indications.
- + Interactions médicamenteuses :
 - ❖ une interaction a été observée par Vidal 2011 entre Néoral et Imurel (azathioprine).
 - ❖ Niveau d'association : à prendre en compte (APC).
 - ❖ Mécanisme d'interaction : c'est une interaction d'ordre pharmacodynamique caractérisée par une immunodépression excessive, avec risque de lymphoprolifération.

III. Conclusions préliminaires :

- Les concentrations sanguines de la ciclosporine sont dans les deux cas en dehors de la marge thérapeutique, ceci confirme qu'elle est loin de présenter une valeur fixe qu'il faut atteindre à tout prix.
- Les interactions médicamenteuses peuvent être une source d'inefficacité thérapeutique ou au contraire d'une néphrotoxicité d'où la nécessité d'un STP.
- La variation intra-individuelle et la cinétique non linéaire de la ciclosporine rendent difficile l'individualisation de la posologie en se basant uniquement sur la C_0 .

CONCLUSION GENERALE

Les résultats obtenus après l'analyse des dosages sanguins de la ciclosporine (C_0) et des deux cas cliniques de greffés rénaux démontrent l'inéluçtabilité du suivi thérapeutique pharmacologique des transplantés rénaux sous ciclosporine en mettant en exergue certaines caractéristiques relatives à cette famille de médicaments :

- La cinétique non linéaire compliquée et les variations inter et intra-individuelle.
- La faible corrélation entre les concentrations sanguines résiduelles et la dose journalières de la Ciclosporine d'où la difficulté de l'adaptation posologique en se basant uniquement sur la C_0 .

Recommandations

Pour que le suivi thérapeutique pharmacologique soit pertinent et efficace, d'autres stratégies peuvent être élaborées afin de mieux prendre en compte la variabilité inter- et intra-individuelle de la ciclosporine. Cette dernière est mieux exprimée par la mesure de l'aire sous la courbe ($AUC_{0 \rightarrow 12}$) ou sa concentration maximale (2 heures après la prise médicamenteuse) que par sa concentration résiduelle.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

1. Alain kanfer, Olivier Kourilsky, Marie-Noelle Peraldi. Néphrologie et troubles hydro-électrolytiques (connaissances et pratique). Éd. Paris : Masson, 2001, p. 219-282.
2. ANSERMOT, Nicolas. Dosage sanguin d'immunosuppresseurs : mise au point d'une methode d'analyse par chromatographie liquide couplee a la spectrometrie de masse, 2004, p.32-36
3. ANSERMOT, Nicolas. Suivi thérapeutique de la ciclosporine : approche analytique et pharmacogénétique, 2007, p .59
4. Association Française d'Urologie, Association Française des Urologues en Formation, coordonné par Morgan ROUPRËT. Urologie. 2^e édition. Paris : Masson, 2010, p.76.
5. AURELIE, Premaud. Pharmacocinétique et suivi thérapeutique pharmacologique du mycophénolate mofetil Dans le traitement anti-rejet de greffe, 2004, p. 38.
6. BAL, Claire. Utilisation de la ciclosporine chez le transplanté rénal obèse : l'attitude actuelle est- elle adaptée ?, 2012, p.23-43.
7. CHAAYA, Rana Youssef. Rôle du stress oxydant induit par les monoamines oxydases dans la fibrose rénale : étude in vivo dans un modèle d'ischémie reperfusion chez le rat, 2010, p.21-38.
8. CHARPENTIER Bernard, BEAUDREUIL Séverine, FRANCOIS Hélène, JACQUET Antoine, DURRBACH Antoine. Use of new non-nephrotoxic immunosuppressive drugs in kidney transplantation, especially after ischemia-reperfusion injury. Communication : *Bull. Acad. Natle Méd*, 2011, séance du 31 mai 2011.
9. CINDY, Canivet. Apport du suivi pharmacodynamique des immunosuppresseurs en transplantation d'organes, 2009, p.8-18.
10. CLAUDE Bohuone, CLAUDE Monneret. FABULEUX HASARDS : Histoire de la decouverte de médicaments.ed :EDPscience : France,2009,p.42-46.
11. DENOOZ, Raphaël. Intérêt clinique et économique du suivi therapeutique pharmacologique pour des médicaments habituellement non contrôlés, 2010, p .2-3.

12. DESLANDES, Guillaume. Comparaison de méthodes de dosage des médicaments immunosuppresseurs (ciclosporine, tacrolimus, sirolimus et évérolimus) sur sang total chromatographie liquide haute performance couplée à spectrométrie de masse en tandem versus immunodosage, 2008, p. 16- 17.
13. DOROSZ, Philippe. Guide pratique des médicaments. 27^e édition. Paris : Maloine, 2007, p.920-921.
14. GENSBURGER, Olivier. Etude pharmacogénétique et Pharmacodynamique de la cible de l'acide mycophenolique : l'inosine monophosphate déshydrogénase de type II., 2010, p. 38.
15. GNP Encyclopédie pratique du médicament. 12^o édition, p. 729-730.
16. Jean CALOP, Samuel LIMAT, Christine FERNANDEZ. Pharmacie clinique et thérapeutique. 3^o édition. PARIS : ELSEVIER MASSON, 2008, p.1250, 1275.
17. K. Ismaili, D. Abramowicz, B. Adams, N. Godefroid, K. Lolin, T. Schurmans, M. Hall et F. Janssen. Le traitement immunosuppresseur en transplantation rénale pédiatrique ; Immunosuppressive agents in pediatric renal transplantation : Rev Med Brux , 2005 , p.507.
18. LAMOUREUX, Fabien. Étude protéomique des modifications phénotypiques des cellules rénales exposées aux immunosuppresseurs inhibiteurs de la calcineurine, 2011, p .18.
19. Marie-José Royer–Morrot. Suivi thérapeutique pharmacologique.
20. MARQUET, Pierre. Suivi thérapeutique pharmacologique pour l'adaptation de posologie des médicaments, 2004, p. 20-25,280-293.
21. M. Moulin, A. Coquerel. Pharmacologie : connaissances et pratique. 2^o éd. Paris : Masson, 2002, p.440-441.
22. **Neoral** : Indications, Posologie, Contre indications, Effets indésirables. Disponible à partir d'URL <http://sante-az.aufeminin.com>.
23. PIGNERET-BERNARD, Stéphanie. Education thérapeutique du patient transplanté rénal : impact d'une intervention pharmaceutique ? 2008, p.23-26.

Références bibliographiques

24. P. Jungers, N.K. Man, C. Legendre .L'insuffisance rénale chronique : prévention et traitement. 3^e édition. Paris : Flammarion Médecine-Sciences, 2004, p.68-163.
25. Renseignements posologiques : NEORAL*(cyclosporine en capsules, cyclosporine en solution orale) pour micro-émulsion ET SANDIMMUN* I.V.(cyclosporine pour injection),2010,p .3,15.
26. Résumé des caractéristiques du produit. Consulté le 13/09/2011. Disponible à partir d'URL <http://agence-prd.ansm.sante>.
27. SAINT-MARCOUX, Franck. Pharmacocinétique et Suivi Thérapeutique Pharmacologique de la ciclosporine en transplantation d'organes solides, 2004, p .11-14.
28. Thesaurus des Interactions médicamenteuses ; Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé Disponible à partir d'URL. www.afssaps.sante.fr, 2008, p:45-48.
29. Vidal 2011.
30. www.afssaps-prd.afssaps.fr ; Résumé des caractéristiques du produit ,2010.
31. ZAUGG, Claudia. Evaluation et optimisation du « Therapeutique drug monitoring » en néonatalogie, 2010, p. 16,17.

Résumé

Le suivi thérapeutique pharmacologique de la ciclosporine est nécessaire en transplantation rénale, de par une zone thérapeutique étroite, une variabilité intra- et interindividuelle importante, et de nombreuses interactions médicamenteuses.

Notre étude a pour objectif la réalisation du suivi thérapeutique pharmacologique de la ciclosporine chez les patients greffés rénaux et ceci pour aider le médecin à adapter individuellement leurs posologies permettant de maintenir les concentrations du médicament dans la zone thérapeutique ainsi qu'une meilleure prise en charge de ces patients.

Il s'agit d'une étude prospective portée sur un échantillon aléatoire de 7 patients greffés rénaux (14 prélèvements) ; ayant consulté au service de néphrologie et suivis dans le laboratoire de médecine nucléaire, durant la période du 1 mars au 20 mai 2013.

Les prélèvements sont soumis à un dosage immunologique afin de déterminer la concentration résiduelle (C_0) avant une nouvelle prise de la ciclosporine.

Les patients greffés rénaux soumis à cette étude présentent un sexe ratio de 1.32, dont l'âge moyen est de $35 \pm 8,963$ [21-50ans]. Les résultats du monitoring sanguin ont révélés une prédominance des sous-dosés chez 5 patients avec un pourcentage de 50% de l'ensemble des 14 prélèvements.

La concentration résiduelle (C_0) de la ciclosporine est recommandée pour des raisons pratiques. Or la mesure du C_0 semble insuffisante pour certains patients (sous-dosé et surdosé) car ce paramètre est mal corrélé principalement à certains paramètres étudiés. Ce qui nous paraît primordial d'introduire d'autres paramètres du suivi thérapeutiques.

Mots clés : transplantation rénale, ciclosporine ; suivi thérapeutique pharmacologique (STP), concentration résiduelle (C_0).

Abstract

Therapeutic drug monitoring of cyclosporine in kidney transplantation is necessary, by a narrow therapeutic range, a large intra-and inter-individual variability, and many drug interactions.

Our study aims to develop the therapeutic drug monitoring of cyclosporine in kidney transplant patients and this to help the doctor to individually tailor their dosage to maintain drug concentrations within the therapeutic range and better support these patients.

There is a scope on a random sample of seven renal transplant patients (14 samples) prospective study, having consulted the Department of Nephrology and monitored in the nuclear medicine laboratory, during the period from March 1 to 20 May 2013.

Samples are subjected to immunoassay to determine the residual concentration (C_0) before capturing of cyclosporine.

Renal transplant patients subjected to this study have a sex ratio of 1.32, with a mean age of 35 ± 8.963 [21-50years]. The results of blood monitoring have revealed a prevalence of under-dosed in 5 patients with a percentage of 50% of all 14 samples.

The residual concentration (C_0) of cyclosporine is recommended for practical reasons. But the extent C_0 seems insufficient for some patients (under-dosed and overdosed) because this parameter is poorly correlated primarily to certain parameters studied. What seems to us important to introduce other parameters of therapeutic monitoring.

Keywords: renal transplantation, cyclosporine, therapeutic drug monitoring (TDM), residual concentration (C_0).