

**UNIVERSITÉ DE NANTES
FACULTÉ DE PHARMACIE**

ANNÉE 2013

N°080

THÈSE
Pour le
DIPLÔME D'ÉTAT
DE DOCTEUR EN PHARMACIE

par

Sabine COSSADE

Présentée et soutenue publiquement le 28/10/2013

**Evaluation de la NGAL comme biomarqueur
d'atteinte rénale chez des patients traités
par cisplatine**

Président : M. Jean-Marie BARD, Professeur de Biochimie

Membres du jury : Mme Kalyane BACH-NGOHOU, MCU-PH en Biochimie

M. Thomas DEJOIE, PH en Biochimie (Directeur de thèse)

REMERCIEMENTS

Aux membres de mon jury :

A Mr Thomas DEJOIE, PH en Biochimie,

Pour m'avoir proposé et permis de travailler sur ce sujet. Pour m'avoir guidé, conseillé et avoir accepté de diriger cette thèse. Merci de m'avoir accordée du temps et d'avoir accepté de travailler avec moi tout au long de ce projet.

A Mme Kalyane Bach-Ngohou, MCU-PH en Biochimie,

Pour votre participation active tout au long de ce projet et pour l'honneur que vous me faites en ayant accepté de faire parti de mon jury.

A Mr Jean-Marie BARD, Professeur en Biochimie,

Pour l'honneur que vous me faites de siéger parmi les membres du jury, veuillez trouver ici l'expression de ma sincère reconnaissance. Merci d'avoir accepté spontanément de présider ce jury.

Mes remerciements s'adressent également :

A Mme Christine Bobin-Dubigeon, MCU de Pharmacologie

Pour son investissement dans la mise en place de l'étude et dans le recueil des échantillons au sein du centre René Gauducheau, indispensable à l'avancé de mon projet.

A toute l'équipe de la Pharmacie Avril-Valarcher : Mme Avril, Mme Valarcher, Anne-Sophie, Marine, Maggy, Manu, Delphine et Géraldine,

Pour m'avoir si bien accueillie au sein de l'officine, et pour m'avoir appris tant de chose.

A toute l'équipe de la Pharmacie Gergaud : Mr Gergaud, Céline, Marine, Christelle, Annie et Hélène.

Pour m'avoir suivi tout au long de mon cursus universitaire. Officine dans laquelle j'ai commencé mes études et quelle plaisir de revenir y travailler une fois diplômée.

A toutes mes amies Nantaises sans qui ma vie d'étudiante aurait été sans intérêt :

Hélène, Aude et Juliette, merci de votre compagnie et de votre soutien tout au long de ces après-midis révisions à la BU

Merci à vous ainsi qu'à : Emilie B., Emilie C., Clotilde, Fanny, Justine, Marion et Clémence, grâce à qui et avec qui ces 6 années à Nantes resteront inoubliables. Entre travail, révisions et fiesta, on a su faire la part des choses. Bravo à toutes pour votre réussite et bonne continuation.

A tous mes copains Turballais : *Adèle, Guillaume, Karine, Erwann, Francky, Vanessa, Etienne, Jo, Lulu, Alex, Adeline, Seb, Coco, Juju, Yaya et Vince qui ont toujours répondu présent pour me changer les idées. Les copains je vous adore !!!*

Je dédie cette thèse :

A Blandine,

Qui a toujours su me remettre les pieds sur Terre quand il le fallait. Merci pour ton soutien sœurlette tout au long de ces « longues » années d'études. Prochain détail choc : « Sabine plus étudiante à vie, mais diplômée en pharmacie »...

A Thierry, mon beau-frère,

Pour son soutien, sa bonne humeur (!!!) et son énergie.

A Clémence et à Nathan,

Pour votre joie de vivre, pour vos câlins et vos bisous

A ma Maman,

Pour m'avoir toujours soutenue dans les mauvais comme dans les bons moments. Pour m'avoir rassurée et boostée quand il fallait. Pour avoir cru en moi, sans ton soutien je ne serais pas où j'en suis. Merci Maman

*Enfin, je dédie tout particulièrement cette thèse à **mon Papa**, qui malheureusement n'est plus parmi nous pour voir l'aboutissement de toutes ces années d'études mais à qui je pense tous les jours.*

-TABLE DES MATIERES-

TABLES DES ILLUSTRATIONS	- 9 -
TABLE DES TABLEAUX	- 11 -
ABREVIATIONS	- 12 -
INTRODUCTION.....	- 15 -
- 1ERE PARTIE - LE CISPLATINE : UN PUISSANT ANTICANCEREUX.....	- 17 -
1 – GENERALITES	- 18 -
<i>1-1 Découverte du cisplatine.....</i>	<i>- 18 -</i>
<i>1-2 Structure.....</i>	<i>- 18 -</i>
<i>1-3 Caractères physicochimiques</i>	<i>- 19 -</i>
1-3-1 Caractères organoleptiques	- 19 -
1-3-2 Solubilité.....	- 19 -
1-3-3 Stabilité.....	- 19 -
1-3-4 Conservation	- 20 -
<i>1-4 Données pharmaceutiques du cisplatine</i>	<i>- 20 -</i>
1-4-1 Conditions de prescription et de délivrance	- 21 -
1-4-2 Mode d'administration	- 21 -
1-4-3 Posologie d'après le RCP	- 21 -
En monothérapie	- 21 -
En association.....	- 22 -
1-4-4 Contre-Indications	- 22 -
1-4-5 Interactions médicamenteuses	- 23 -
2 – MECANISME D'ACTION	- 24 -
<i>2-1 Formation des espèces réactives du cisplatine.....</i>	<i>- 24 -</i>
2-1-1 Hydrolyse du cisplatine	- 24 -

2-2	<i>Fixation à l'ADN</i>	- 25 -
2-3	<i>Formation de ponts</i>	- 25 -
2-4	<i>Conséquences</i>	- 27 -
2-5	<i>Bilan du mécanisme d'action du cisplatine</i>	- 28 -
3	PROPRIETES PHARMACOCINETIQUES	- 29 -
3-1	<i>Absorption</i>	- 29 -
3-2	<i>Liaisons aux protéines plasmatiques</i>	- 29 -
3-3	<i>Cinétique plasmatique</i>	- 30 -
3-4	<i>Distribution</i>	- 32 -
3-5	<i>Elimination</i>	- 32 -
4	INDICATIONS.....	- 34 -
4-1	<i>Cancers des voies aéro-digestives supérieures (lèvres, bouche, pharynx)</i>	- 34 -
	Epidémiologie	- 34 -
	Traitement	- 34 -
4-2	<i>Cancer du poumon</i>	- 35 -
	Epidémiologie	- 35 -
	Traitement	- 35 -
4-3	<i>Cancers uro-génitaux</i>	- 35 -
4-3-1	<i>Cancer du testicule</i>	- 35 -
	Epidémiologie	- 35 -
	Traitement	- 36 -
4-3-2	<i>Cancer des ovaires</i>	- 36 -
	Epidémiologie	- 36 -
	Traitement	- 37 -
4-3-3	<i>Cancer du col de l'utérus</i>	- 37 -
	Epidémiologie	- 37 -
	Traitement	- 37 -
4-3-4	<i>Cancer de la vessie</i>	- 38 -
	Epidémiologie	- 38 -
	Traitement	- 38 -
4-4	<i>Cancer de l'œsophage</i>	- 38 -
	Epidémiologie	- 38 -
	Traitement	- 39 -

5- TOXICITE.....	- 40 -
5-1 Néphrotoxicité.....	- 40 -
5-1-1 Mécanisme de néphrotoxicité du cisplatine.....	- 41 -
a - Nécrose tubulaire aigüe -	- 42 -
b - Insuffisance rénale chronique -	- 43 -
c - Troubles hydro-électrolytiques -	- 43 -
d - L'hyperuricémie -	- 44 -
5-1-2 Prévention.....	- 44 -
5-1-3 Suivi du patient.....	- 45 -
5-2 Autres toxicités.....	- 45 -
5-2-1 Toxicité digestive	- 45 -
5-2-2 Toxicité neurologique.....	- 46 -
5-2-3 Toxicité auditive.....	- 47 -
5-2-4 Toxicité hématologique	- 47 -
5-2-5 Toxicité allergisante.....	- 48 -
5-2-6 Toxicité hépatique	- 48 -
5-2-7 Mutagénèse.....	- 48 -
5-3 Précautions d'emploi.....	- 49 -
- 2ÈME PARTIE - NGAL : HUMAN NEUTROPHIL GELATINASE ASSOCIATED LIPOCALIN	- 50 -
1– NGAL : DONNÉES FONDAMENTALES	- 51 -
1-1 Généralités.....	- 51 -
1-1-1 Qu'est ce que la NGAL?	- 51 -
1-1-2 Structure de la NGAL.....	- 51 -
1-1-3 Synthèse.....	- 52 -
1-2 Rôles physiologiques de la NGAL.....	- 52 -
1-2-1 Effets de la NGAL sur les cellules rénales	- 52 -
a - La NGAL favorise la croissance des cellules rénales -	- 52 -
b - Protection des cellules rénales -	- 53 -
1-2-1 Propriétés anti-inflammatoires	- 53 -
1-2-2 Propriétés antibactériennes	- 53 -
2 – NGAL : BIOMARQUEUR DE LA NEPHROTOXICITE.....	- 54 -
2-1 Insuffisance rénale.....	- 54 -
2-1-1 Définition.....	- 54 -
2-1-2 Biomarqueurs actuels des insuffisances rénales	- 54 -
a - Biomarqueurs sanguins -	- 55 -

b - Biomarqueurs urinaire -	- 55 -
c - Limites de ces biomarqueurs dans l'insuffisance rénale -	- 57 -
2-1-3 Classification des insuffisances rénales.....	- 58 -
2-2 <i>Qu'est ce qu'un biomarqueur idéal ?</i>	- 59 -
2-3 <i>Caractéristiques de la NGAL comme biomarqueur</i>	- 59 -
2-3-1 Précocité de détection des différents biomarqueurs rénaux	- 59 -
2-3-2 Augmentation significative.....	- 61 -
2-3-3 Localisation de la lésion et étiologie	- 61 -
2-3-4 Sensibilité et spécificité de la NGAL	- 62 -
2-4 <i>Remarques : NGAL comme biomarqueur de l'insuffisance rénale</i>	- 62 -
3- METHODES DE DOSAGE DE LA NGAL	- 63 -
3-1 <i>Dosage de la NGAL plasmatique</i>	- 63 -
3-2 <i>Dosage de la NGAL urinaire</i>	- 63 -
3-2-1 Test ELISA	- 64 -
Définition	- 64 -
En pratique	- 64 -
3-2-2 Chimiluminescence	- 65 -
Définition	- 65 -
En pratique	- 65 -
3-2-3 Le test immunoturbidimétrique	- 66 -
Définition	- 66 -
En pratique	- 67 -
4 – CONCLUSION SUR LA NGAL	- 68 -
- 3ÈME PARTIE - DOSAGE DE LA NGAL URINAIRE CHEZ DES PATIENTS TRAITES PAR CISPLATINE.....	- 69 -
1 – OBJECTIFS.....	- 70 -
2– PATIENTS ET METHODE.....	- 70 -
2-1 <i>Mise en place de l'étude</i>	- 70 -
2-1-1 Lieu et durée de l'étude	- 70 -
2-1-2 Critères d'inclusion et d'exclusion	- 70 -
2-2 <i>Description de la population</i>	- 71 -
2-2-1 Généralités	- 71 -

a - Données démographiques -	- 71 -
b - Données étiologiques -	- 71 -
2-3 <i>Recueil des données clinico-biologique</i>	- 72 -
2-3-1 Doses de cisplatine	- 72 -
2-3-2 Créatininémies	- 73 -
2-3-3 Médicaments concomitants à la chimiothérapie	- 74 -
2-4 <i>Prélèvements</i>	- 77 -
2-4-1 Recueil	- 77 -
2-2-2 Conservation	- 77 -
3 – RESULTATS	- 78 -
3-1 <i>Description de la population inclus dans l'étude (voir Annexe 5)</i>	- 78 -
3-2 <i>Dosage des biomarqueurs urinaires</i>	- 79 -
3-2-1 La NGAL	- 79 -
a - Evolution de la concentration de la NGAL des échantillons à J0	- 80 -
b - Evolution de la concentration de la NGAL des échantillons entre les J0 et les J1	- 81 -
3-2-2 La créatininurie ³⁵	- 82 -
3-3 <i>Analyse des résultats</i>	- 83 -
4 – DISCUSSION	- 84 -
CONCLUSION	- 86 -
- LEXIQUE -	87
- BIBLIOGRAPHIE -	91
ANNEXES	97

TABLES DES ILLUSTRATIONS

Figure 1 - Molécule de cisplatine ou CDDP	- 19 -
Figure 2 - Hydrolyse du cisplatine en milieu aqueux (Nuhrich A., 2008)	- 24 -
Figure 3 – Guanine	- 25 -
Figure 4 - Liaison cisplatine-guanine (D'après Natale D. et Mareque-Rivas J.C., 2008) ..	- 25 -
Figure 5 – Interactions sur le même brin d'ADN (Nuhrich A., 2008)	- 26 -
Figure 6 – Interaction sur deux brins différents d'ADN (Nuhrich A., 2008)	- 26 -
Figure 7 – Cycle cellulaire	- 27 -
Figure 8 - Synthèse du mécanisme d'action du cisplatine	- 28 -
Figure 9 - Pharmacocinétique d'ultrafiltrat de sang de cisplatine chez des cochons d'inde recevant 8mg/kg, soit en bolus de 15 secondes en IV, soit en perfusion de 1 heure en IV (Ekborn A. <i>et al.</i> , 2000)	- 29 -
Figure 10 - Evolution de la concentration en platine ultrafiltrable (a) et en platine totale (b) chez une population de patients pendant les 6 premières heures après le début de la perfusion de cisplatine (Urien S., Lokiec F. 2004).	- 31 -
Figure 11 - Illustration de la fonction rénale	- 33 -
Figure 12 - Anatomie du rein	- 41 -
Figure 13 - Liaison covalente cisplatine sur groupements SH des protéines tubulaires proximales	- 42 -
Figure 14 - Allopurinol	- 44 -
Figure 15 - Molécule de furosémide	- 45 -
Figure 16 - aprépitant : EMEND®	- 46 -
Figure 17 - Comparaison d'un audiogramme entre un patient sous cisplatine et un patient contrôle (Dhooge I., et al. 2006)	- 47 -
Figure 18 - Structure de la NGAL (Lalanne A. <i>et al.</i> 2011)	- 52 -
Figure 19 - Représentation schématique de la cinétique de détection sanguine et urinaire de différents biomarqueurs pour une insuffisance rénale aiguë après chirurgie cardiaque chez	

l'adulte (McIlroy D., <i>et al.</i> 2010), KIM-1 et NGAL urinaire; Créatinine et cystatine-C sanguine.....	- 60 -
Figure 20 – Taux de la NGAL urinaire obtenu par chimiluminescence en fonction du temps (D'après Bennett M., <i>et al.</i> 2008)	- 61 -
Figure 21 - Dosage de la NGAL par test ELISA	- 64 -
Figure 22 - Dosage de la NGAL par chimiluminescence	- 65 -
Figure 23 - Agrégation de microparticules.....	- 67 -
Figure 24 - Représentation de la localisation des cancers chez les patients de l'étude.....	- 72 -
Figure 25 - évolution des doses de cisplatine en fonction des cures	- 73 -
Figure 26 - Evolution de la créatininémie des patients au cours des cures	- 74 -
Figure 27 - Représentation des médicaments pris par les patients.....	- 76 -
Figure 28 - Créatininémie chez les patients traités par sartans ou IEC.....	- 77 -
Figure 29 - Localisations des pathologies cancéreuses chez les patients inclus dans l'étude- 78 -	-
Figure 30 - Concentration de la NGAL dosée chez les patients avant administration de cisplatine à chaque cure.....	- 80 -
Figure 31 - NGAL en ng/mL à J0 et J1 chez des patients en cure C1	- 81 -
Figure 32 - NGAL en J0 et J1 chez des patients en cure Cn.....	- 82 -
Figure 33 - Rapport NGAL/Créatininurie	- 83 -

TABLE DES TABLEAUX

Tableau 1 - Classification du stade de l'insuffisance rénale chronique en fonction du DFG (débit de filtration glomérulaire)	- 56 -
Tableau 2 - Score de "RIFLE" (D'après Journois D., 2007).....	- 58 -
Tableau 3 - Localisation des différents cancers chez les patients	- 71 -
Tableau 4 - Classification des médicaments pris par les patients en même temps que la chimiothérapie à base de cisplatine	- 75 -
Tableau 5 - Dosage de la NGAL en ng/mL chez des patients sous cisplatine	- 80 -
Tableau 6 - Dosage de la créatinurie chez des patients sous cisplatine	- 82 -

ABBREVIATIONS

5-FU: 5-fluorouracil

°C: degrés Celsius

µg: microgramme

AINS : Anti-Inflammatoire Non-Stéroïdien

AKI: Acute Kidney Injury

AMM: Autorisation de Mise sur le Marché

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

ADN: Acide DésoxyriboNucléique

ARNm: Acide RiboNucléique messenger

BEP: Bléomycine, Etoposide, Cisplatine

CC: Cyclophosphamide, Cisplatine

CDDP: Cis-DiamineDichloroPlatine ou cisplatine

DFG: Débit de Filtration Glomérulaire

EER: Epuration Extra-Rénale

EGFR: Epidermal Groth Factor Receptor

ELISA: Enzyme Linked Immunosorbent Assay

GC: Gemcitabine, Cisplatine

h: heure

HRP: *Horseradish peroxidase*

Hz: Hertz

IEC: Inhibiteur de l'Enzyme de Conversion

InCa: Institut Nationale du Cancer

Inserm: Institut National de la Santé Et de la Recherche Médicale

InVS: Institut de Veille Sanitaire

IPP: Inhibiteur de Pompes à Protons

IR: Insuffisance Rénale

IRA: Insuffisance Rénale Aiguë

IRC: Insuffisance Rénale Chronique

IV: Intra-Veineuse

kD: kilo Dalton

MDRD: Modification of the Diet in Renal Disease

mg: milligramme

min: minute

ml: millilitre

M-VAC: Méthotrexate, Vinblastine, Adriamycine, Cisplatine

NaCl: Chlorure de Sodium

NGAL: Neutrophil Gelatinase Associated Lipocalin

PVC: PolyChlorure de Vinyle

RCP: Résumé Caractéristique du Produit

RIFLE: Risk Injury Failure Loss ESKD

RLU: Unité de Lumière Relative

TC: Taxol, Cisplatine

VADS: Voies Aéro-Digestives Supérieures

VeIP: Vinblastine, Ifosfamide, Cisplatine

**Evaluation de la NGAL comme
biomarqueur d'atteintes rénales chez des
patients traités par cisplatine**

Introduction

Le nombre de nouveaux cas de cancer en 2011 en France a été estimé à près de 365500, respectivement 207000 pour les hommes et 158500 pour les femmes.

En 2011, les 3 cancers les plus fréquents sont :

- chez l'homme : le cancer de la prostate (71000 nouveaux cas), du poumon (27500 nouveaux cas) et du colon-rectum (21500 nouveaux cas),
- chez la femme : le cancer du sein (53000 nouveaux cas), du colon-rectum (19000 nouveaux cas) et du poumon (12000 nouveaux cas).

Le nombre de décès par cancer en 2011 a été évalué à 147500, 84500 pour les hommes et 63000 pour les femmes (données de l'InVS).

En 32 ans, entre 1980 et 2012, le nombre de nouveaux cas de cancers a augmenté de 109% et le nombre de décès de 15%.

Le cisplatine est considéré comme l'agent chimiothérapeutique principal dans le traitement de tumeurs solides hautement résistantes. La limite de son efficacité est sa néphrotoxicité. Le cisplatine étant une molécule anticancéreuse très puissante, il faut réussir à détecter, à minimiser et à contrer sa néphrotoxicité, pour optimiser aux mieux ses capacités thérapeutiques.

A cet effet, une diurèse forcée avant chaque cure de cisplatine est mise en place ainsi qu'une surveillance accrue des patients.

Actuellement, le diagnostic de l'atteinte rénale repose sur les dosages de l'urémie, de la créatininémie et la détermination de la clairance de la créatinine. Cependant, ces biomarqueurs fonctionnels ne sont pas utilisés pour la détection de l'atteinte rénale aiguë car ils sont beaucoup trop tardifs. Il faut attendre 48h pour observer une augmentation de la créatininémie, lors d'une atteinte rénale aiguë déclenchée par le cisplatine.

De nombreuses études ont été menées dans le but de trouver de nouveaux biomarqueurs, plus sensibles, plus spécifiques et plus précoces.

La Neutrophil Gelatinase Associated Lipocalin (NGAL) est un de ces nouveaux biomarqueurs. Il est très prometteur, il permet une détection précoce de la toxicité rénale. La

sécrétion de NGAL augmente significativement dans les 2 heures qui suivent le début de l'atteinte rénale pouvant être causée par un médicament néphrotoxique (Carillo-Esper R., *et al.* 2011).

Sa cinétique peut être comparée à celle de la troponine cardiaque, qui est la molécule principale de détection dans le cas des infarctus du myocarde.

L'intérêt de ces nouveaux biomarqueurs serait de permettre la prédiction de l'insuffisance rénale aiguë avant l'introduction du cisplatine ou de détecter précocement les premiers effets néphrotoxiques des drogues avant que cela ne soit irréversible.

Ce travail propose une revue des propriétés, de l'utilisation et des effets néphrotoxiques du cisplatine. Ainsi que les résultats d'une étude préliminaire effectuée sur une cohorte de patients recrutés au CRLCC de Nantes.

- 1ère partie -

Le cisplatine : un puissant anticancéreux

1 – Généralités

site internet : agence-prd.ansm.sante.fr , répertoire des spécialités pharmaceutiques, RCP

Le cisplatine ou cis-diaminedichloroplatine (II) (CDDP) est un complexe de petit poids moléculaire (PM = 300.1 g.mol⁻¹) à base de platine.

1-1 Découverte du cisplatine

C'est en 1965, que B. Rosenberg^a (biophysicien à l'Université du Michigan) découvre de façon accidentelle l'activité du cisplatine.

Suite à des expériences, il a pu observer une inhibition de la croissance d'*Escherichia coli* mis dans un milieu de culture contenant du chlorure d'ammonium et soumis à un courant électrique établi entre 2 électrodes de platine.

Il montra par la suite que ce phénomène n'était pas dû au courant parcourant le milieu mais aux produits de l'électrolyse provenant des 2 électrodes de platine.

Cette observation conduit B. Rosenberg à étudier le cisplatine ainsi que d'autres complexes du platine et à mettre en évidence leurs effets antinéoplasiques¹ chez l'animal puis chez l'homme. Le cisplatine étant le complexe le plus actif (Alderden R. et *al.*, 2006).

Rosenberg prouve ainsi que le cisplatine inhibe la division cellulaire et qu'il est actif sur les tumeurs solides (Rosenberg^b B. et *al.*, 1969).

1-2 Structure

Le CDDP est un complexe plan, où l'ion divalent platine est lié à deux atomes de chlore et deux groupements ammoniac en cis (fig.1).

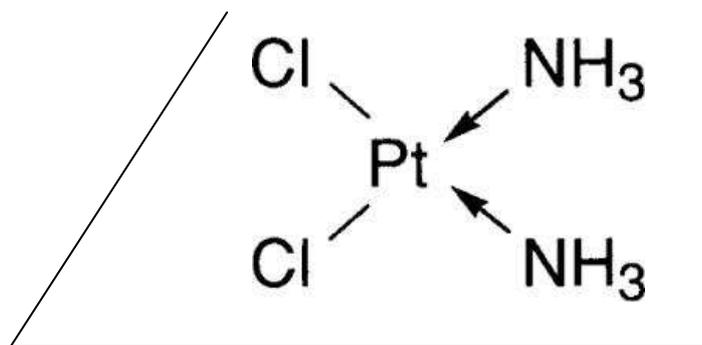


Figure 1 - Molécule de cisplatine ou CDDP

Formule moléculaire du cisplatine : $\text{Cl}_2\text{H}_6\text{N}_2\text{Pt}$ ou $(\text{NH}_3)_2\text{PtCl}_2$

1-3 Caractères physicochimiques

1-3-1 Caractères organoleptiques

Le CDDP se présente sous la forme d'une poudre fine de couleur jaune orangé qui se décompose à 270°C.

1-3-2 Solubilité

Le cisplatine est soluble dans l'eau à 25°C, à une concentration de 1mg/mL, mais également dans certains solvants organiques tels que : le diméthylformamide ($\text{C}_3\text{H}_7\text{NO}$) et l'acétone ($\text{C}_3\text{H}_6\text{O}$).

Cependant, il est insoluble dans l'alcool.

1-3-3 Stabilité

Sous forme solide, le cisplatine est un produit stable.

Le CDDP en poudre doit être conservé à l'abri de la chaleur et de la lumière. On le retrouve dans des récipients étanches de couleur jaune pour le protéger de la lumière.

En solution aqueuse, la stabilité du cisplatine va dépendre du solvant de dilution utilisé. Elle est améliorée en présence de chlorure de sodium (NaCl) 0,9%. La présence de chlorure (Cl⁻) dans le milieu est nécessaire à la stabilisation de la structure du cisplatine.

Une solution de cisplatine à 0,9% de NaCl est stable **pendant 24h** à température ambiante et à l'abri de la lumière.



La stabilité du cisplatine peut être influencée par le contenant c'est pourquoi on utilise des contenants exempts de polychlorure de vinyle (PVC).

1-3-4 Conservation

- **Cisplatine sous forme de poudre lyophilisée :**

Les fioles non-ouvertes gardées dans le réfrigérateur (entre 2° et 5°C) à l'abri de la lumière sont stables 25 mois après fabrication.

- **Cisplatine en solution aqueuse :** (forme d'usage la plus fréquente dans les pharmacies hospitalières)

Les fioles non-ouvertes de la solution gardées à des températures comprises entre 15° et 25°C à l'abri de la lumière, sont stables jusqu'à 24 mois après fabrication.

Après ouverture, reconstitution ou dilution, le produit doit être utilisé immédiatement.

1-4 Données pharmaceutiques du cisplatine

Le cisplatine possède une AMM (Autorisation de mise sur le Marché) depuis le 12/01/2004. C'est un médicament puissant qui ne doit être employé que par des médecins expérimentés dans la chimiothérapie antinéoplasique.

Des numérations globulaires ainsi que des évaluations des fonctions hépatiques et rénales doivent être effectuées régulièrement (Product Monograph, 2011. Renseignements thérapeutiques).

1-4-1 Conditions de prescription et de délivrance

Le cisplatine est un médicament d'exception appartenant à la liste I.

C'est un médicament soumis à prescription hospitalière et réservé aux spécialistes des services de cancérologie, d'hématologie et d'oncologie médicale.

Le cisplatine nécessite une surveillance particulière du patient pendant le traitement.

1-4-2 Mode d'administration

L'administration du cisplatine se fait par **voie intraveineuse stricte**, en perfusion après une dilution.

1-4-3 Posologie d'après le RCP

Le traitement peut être administré pendant une hospitalisation classique ou en hôpital de jour, traitement alors réalisé pendant la journée avec retour à domicile le soir même.

La posologie est strictement individuelle. Le médecin doit tenir compte des antécédents (notamment rénaux et auditifs), du type de tumeur, de la localisation, de l'atteinte ou non de plusieurs organes et de l'association éventuelle avec un autre traitement (exemple : radiothérapie).

En monothérapie

La posologie unitaire chez l'adulte et chez l'enfant est de **50 à 120 mg/m²** de surface corporelle en administration **intraveineuse stricte**, en **perfusion unique**, **toutes les 3 à 6 semaines**. Ce mode d'administration est le plus courant.

L'administration peut également se faire de façon fractionnée sur 5 jours à une dose de 15 à 20 mg/m², 5 jours de suite toutes les 3 à 4 semaines.

Dans les 2 cas, une **hydratation** préalable sera réalisée par perfusion d'eau minimum 2 à 3 litres de solution de glucose à 5 pour cent, administrée en 8 à 12 heures.

Une hydratation et une diurèse² adéquate doivent être maintenues jusqu'à 24 heures après l'administration du produit.

L'audition et les paramètres rénaux, hématologiques et neurologiques sont régulièrement surveillés pour une éventuelle adaptation posologique du cisplatine.

En association

Les doses de cisplatine seront modifiées en fonction de la nature et de la toxicité de chaque composant de l'association.

Remarque: le cisplatine réagit fortement avec l'aluminium, entraînant la formation d'un précipité et une perte d'activité du produit. Il est recommandé de ne pas utiliser de matériel d'injection, comme certaines aiguilles, pouvant contenir de l'aluminium.

1-4-4 Contre-indications

L'emploi du cisplatine est contre-indiqué chez les patients présentant une **insuffisance rénale** et une **surdité partielle** préexistantes, à moins que le médecin et le patient jugent que les bénéfices possibles du traitement l'emportent sur les risques.

Le cisplatine ne devrait pas être administré aux patients souffrant de **dépression médullaire**³ et il est contre-indiqué chez les personnes ayant des antécédents d'**hypersensibilité au cisplatine** ou à d'autres composés renfermant du platine.

Il est également contre-indiqué avec la **grossesse** pour les risques mutagènes qu'il a pu entraîner lors des tests sur les animaux (Product monograph, 2011).

Le cisplatine est excrété dans le lait maternel. L'**allaitement** est donc exclu en cas de mise en place d'un traitement au cisplatine (Product monograph, 2011).

1-4-5 Interactions médicamenteuses

L'interaction médicamenteuse la plus fréquemment rapportée concerne la diminution de l'absorption digestive des anticonvulsivants, entraînant un risque accru de convulsions par diminution des concentrations plasmatiques (Product monograph, 2011).

2 – Mécanisme d'action

Le cisplatine est un antinéoplasique **cytostatique**⁴, son mécanisme d'action est apparenté à celui des alkylants⁵.

Il agit en se fixant sur l'ADN, inhibant ainsi la transcription⁶ et la réplication de l'ADN⁷.

2-1 Formation des espèces réactives du cisplatine

2-1-1 Hydrolyse du cisplatine

L'hydrolyse du cisplatine est un équilibre dans lequel la concentration en ions chlorure, joue un rôle primordial.

- Ainsi, dans le **secteur plasmatique**, riche en ions Cl⁻ (≈ 0,1 M), l'équilibre d'hydrolyse est déplacé vers la gauche, vers le complexe bichloré, ce qui explique la stabilité du cisplatine dans le compartiment sanguin (Nuhrich A., 2008).

Le cisplatine reste donc dans son état neutre tant qu'il circule dans les voies sanguines.

- Par contre, dans le **milieu intracellulaire**, la faible teneur en ions Cl⁻ (≈ 4 × 10⁻³ M) est favorable à la formation d'espèces hydratées réactives.

On obtient ainsi deux espèces électrophiles hautement réactives (fig.2) : monohydratés (a) et bihydratés (b) qui vont réagir avec l'ADN, l'ARN et des protéines (glutathion, méthionine...) présents dans la cellule.

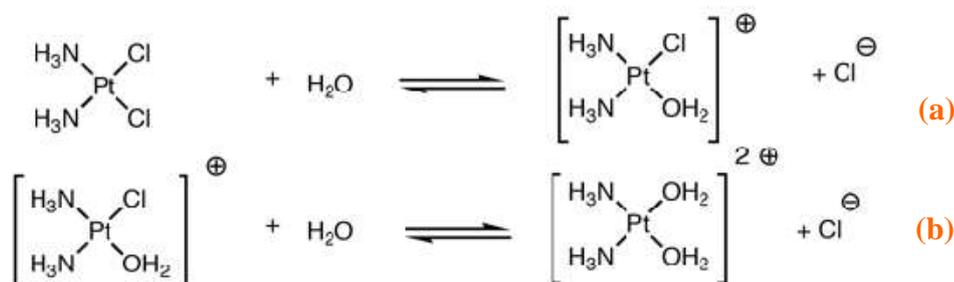


Figure 2 - Hydrolyse du cisplatine en milieu aqueux (Nuhrich A., 2008)

Les données expérimentales indiquent que seules les liaisons platine-ADN sont toxiques (Eastman^a A., 1999).

2-2 Fixation à l'ADN

Au niveau de l'ADN, le cisplatine va se fixer principalement sur l'azote n°7 (position la plus nucléophile) de la **guanine** (fig.3) par une liaison covalente (fig.4) (Zwelling L.A. et Kolm K.W., 1979).

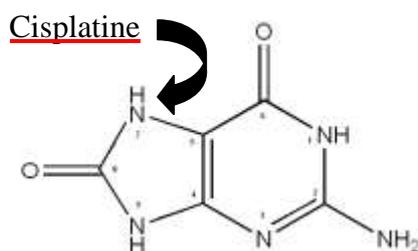


Figure 3 – Guanine

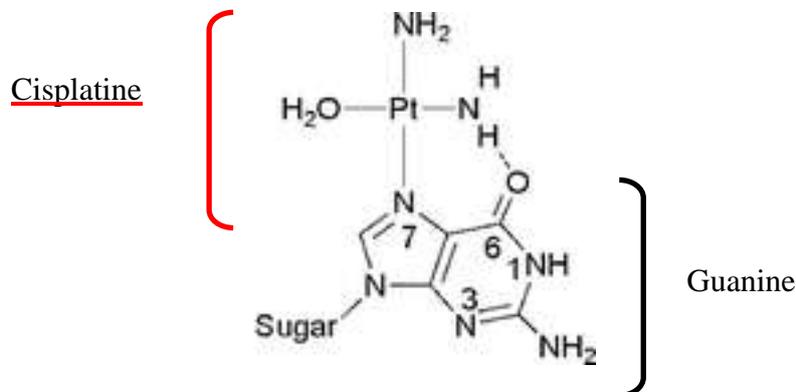


Figure 4 - Liaison cisplatine-guanine (D'après Natale D. et Mareque-Rivas J.C., 2008)

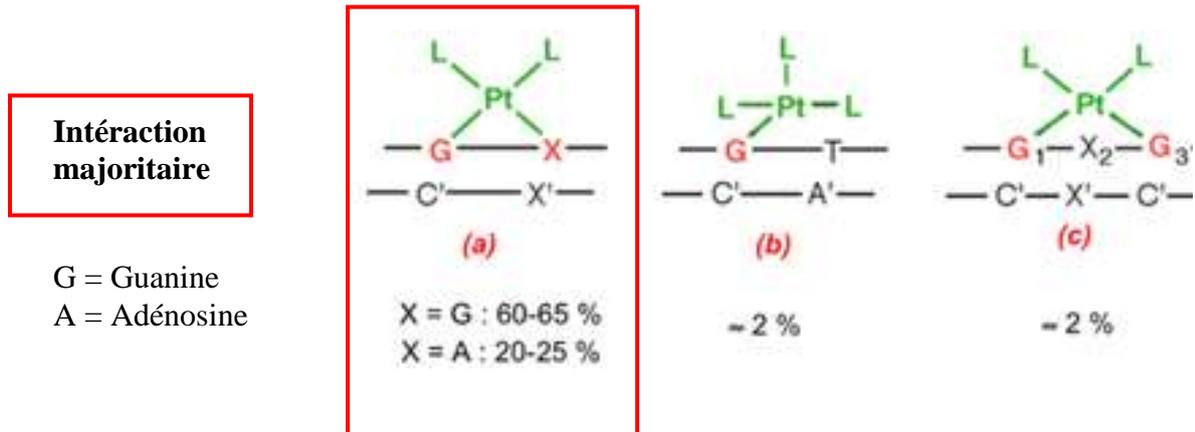
2-3 Formation de ponts

La présence de deux fonctions électrophiles sur la forme réactive du cisplatine va déterminer la formation d'un pont entre deux sites d'actions. Ces deux sites peuvent être situés sur un même brin d'ADN ou sur les deux brins de l'ADN. On obtient ainsi trois modes

d'interactions dont la principale est décrite, dans la figure 5 (a) : l'interaction intrabrin avec 2 liaisons covalentes sur 2 bases contigües.

L'interaction ADN-protéine est rare et concerne en général une guanine couplée au cisplatine et une protéine souffrée.

- interactions intra-brins :



2-4 Conséquences

Deux principales conséquences :

- Les distorsions de la double hélice de l'ADN provoquées, constituent des obstacles au fonctionnement des ADN-polymérase⁸ dont la progression est arrêtée au niveau de la lésion, ce qui bloque la réplication⁷ de l'ADN et entraîne la mort cellulaire par apoptose⁹.

- En se fixant sur l'ADN, les formes réactives du cisplatine bloquent également les ARN-polymérase¹⁰ ce qui empêche la transcription⁶. Or, la transcription de l'ADN en ARNm, est une étape indispensable à la synthèse des protéines (Eastman^b A., 1995).

Les cellules traitées par cisplatine subissent donc un arrêt de leurs cycles cellulaires en phase G2 (fig.7). Le stade G2 correspond à une phase de croissance et de préparation à la mitose¹¹.

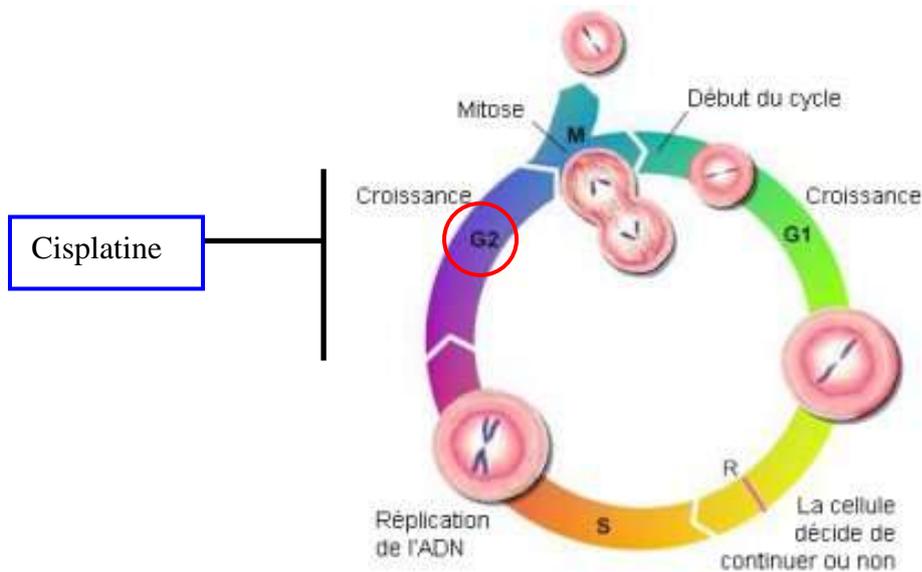


Figure 7 – Cycle cellulaire

2-5 Bilan du mécanisme d'action du cisplatine

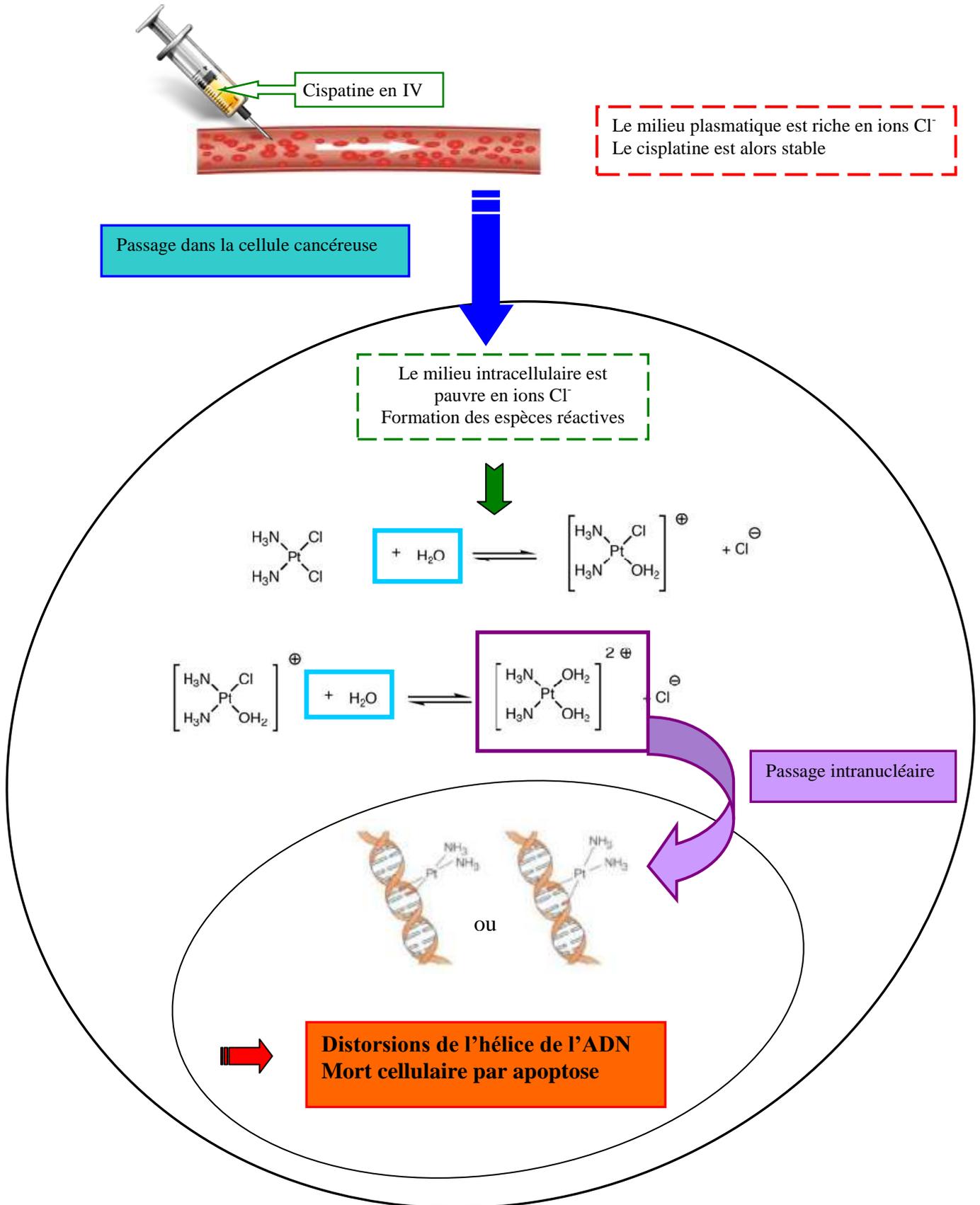


Figure 8 - Synthèse du mécanisme d'action du cisplatine

3 – Propriétés pharmacocinétiques

3-1 Absorption

Le cisplatine est principalement administré par voie intraveineuse (IV), voie la plus utilisée qui permet une absorption totale et rapide du produit.

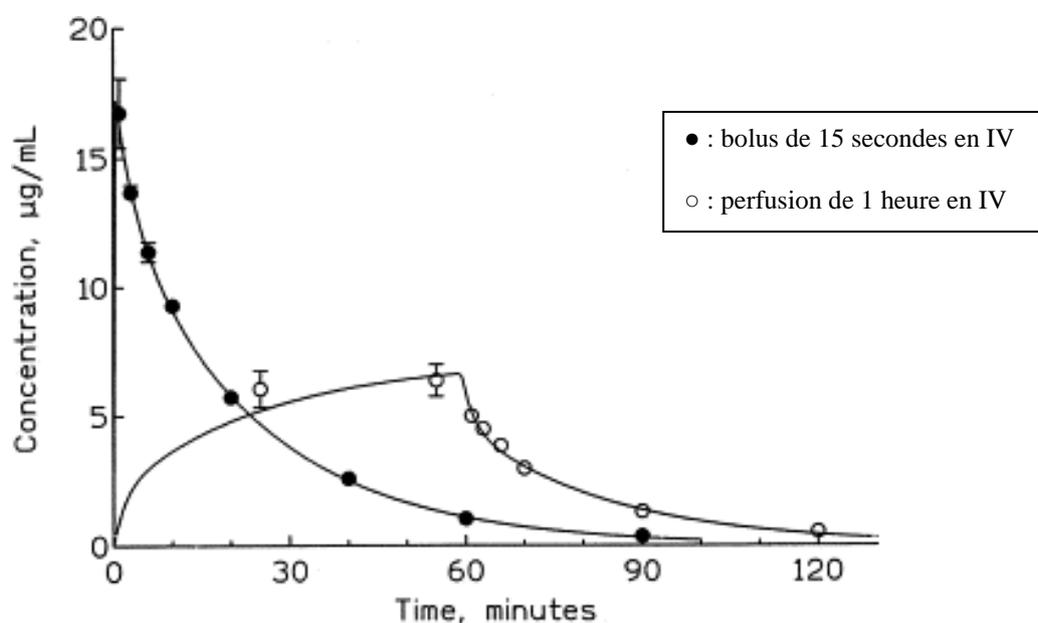


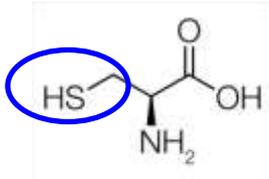
Figure 9 - Pharmacocinétique d'ultrafiltrat de sang de cisplatine chez des cochons d'inde recevant 8mg/kg, soit en bolus de 15 secondes en IV, soit en perfusion de 1 heure en IV (Ekborn A. *et al.*, 2000).

On remarque qu'à doses équivalentes de cisplatine administrées, que se soit par bolus rapide ou par perfusion plus lente, les aires sous courbe respectives sont à peu près identiques.

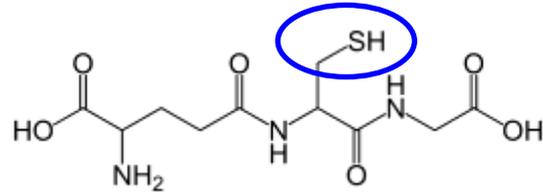
3-2 Liaisons aux protéines plasmatiques

Plus de 90% du cisplatine se fixe de façon rapide et irréversible aux protéines plasmatiques, ce qui lui confère une demi-vie prolongée.

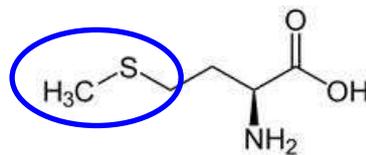
Pendant les deux premières heures après son administration, le cisplatine va se fixer de façon covalente sur des protéines de bas poids moléculaire contenant des groupements sulfhydryls (R-S-H) : exemple : cystéine, complexes du glutathion et surtout la L-méthionine (Manaka R. et Wolf W., 1978) (Heudi O., Cailleux A. et Allain P., 1998).



Cystéine



Glutathion



L-méthionine

Puis, il se fixe avec haute affinité à des protéines de haut poids moléculaire (>25kD), comme l'albumine préférentiellement ou encore les globulines et la transferrine (Momburg R. *et al.*, 1985) (Tosetti F. *et al.*, 1988).

3-3 Cinétique plasmatique

• La demi-vie du cisplatine est très courte, environ **2 heures** car (Boisdron-Cell M. *et al.*, 2001) :

- soit il est rapidement éliminé par voie rénale,
- soit il est transformé dans le plasma en platine, dérivé mono-hydraté, puis dérivé di-hydraté (en faible quantité du fait de la concentration élevée en chlorures).

• Le platine total¹² suit un profil pharmacocinétique bi-phasique :

- une **première phase** rapide, avec un temps de demi-vie de l'ordre de 30 minutes correspondant au platine ultrafiltrable¹³ (platine non-lié aux protéines).

Seulement **2 à 3 % du platine** libre arrive dans le cytoplasme des cellules sous forme cationique pouvant réagir avec les espèces nucléophiles présentes dans la cellule (Lepre, Lippard, 1990).

Le platine ultrafiltrable, malgré une demi-vie classiquement courte, persiste à des taux détectables 3 semaines après l'administration (Boisdron-Cell M. *et al.*, 2001).

- une **phase terminale** longue avec un temps de demi-vie de 2 à 8 jours correspondant au platine lié aux protéines plasmatiques.

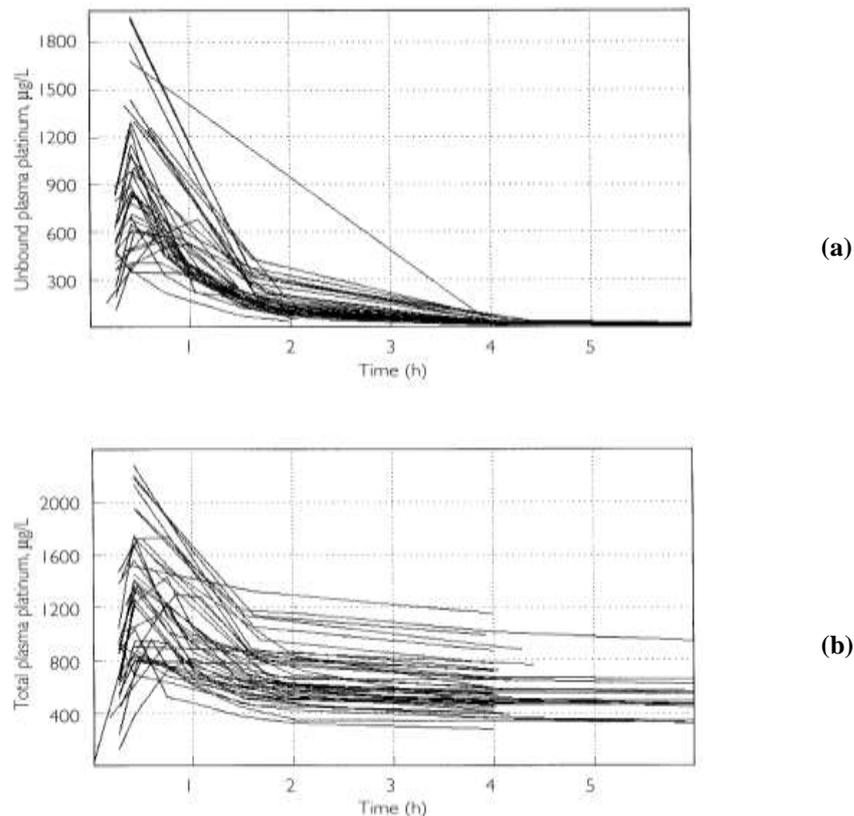


Figure 10 - Evolution de la concentration en platine ultrafiltrable (a) et en platine totale (b) chez une population de patients pendant les 6 premières heures après le début de la perfusion de cisplatine (Urien S., Lokiec F. 2004).

La demi-vie terminale du platine total (platine ultrafiltrable et platine lié) est de 10 jours.

3-4 Distribution

- Le cisplatine et les métabolites platiniques se fixent rapidement, de façon irréversible et dans une proportion élevée aux protéines tissulaires et plasmatiques (plus de 90%).

1 heure après la perfusion, seule 10% de la quantité administrée de cisplatine est encore présente dans le sang (Hill JM. *et al.*, 1975).

- Les concentrations intra-tumorales de platine, sont de l'ordre de 1 à 5 µg/g de tissus 24 h après l'administration IV d'une dose de 100 mg/m² (Product monograph, 2011).

Le platine libre ultrafiltrable se distribue très vite, de façon large, et s'accumule dans les reins et le foie où il peut être détecté plusieurs semaines ou plusieurs mois plus tard (Boisdron-Cell M. *et al.*, 2001).

Cette rétention prolongée pendant plusieurs mois est associée à une neurotoxicité chronique durable et une néphrotoxicité irréversible.

3-5 Elimination

En l'espace de 24h, 10 à 40% du platine est éliminé dans les urines au cours de la première heure, surtout sous forme de cisplatine (site internet : agence-prd.ansm.sante.fr, répertoire des spécialités pharmaceutiques, RCP).

- Le cisplatine est éliminé par le rein à la fois par filtration glomérulaire¹⁴ et par sécrétion tubulaire¹⁵ (fig.11).

- Le platine ultrafiltrable (libre) ou celui fixé à des protéines de bas poids moléculaire est également éliminé dans les urines par filtration glomérulaire et sécrétion tubulaire (fig.11) (site internet : agence-prd.ansm.sante.fr, répertoire des spécialités pharmaceutiques, RCP).

La clairance¹⁶ du platine ultrafiltrable est de 100 à 500 mL/min, elle dépasse la clairance de la créatinine dont la normale se situe entre 80 et 120 mL/min (Product monograph, 2011).

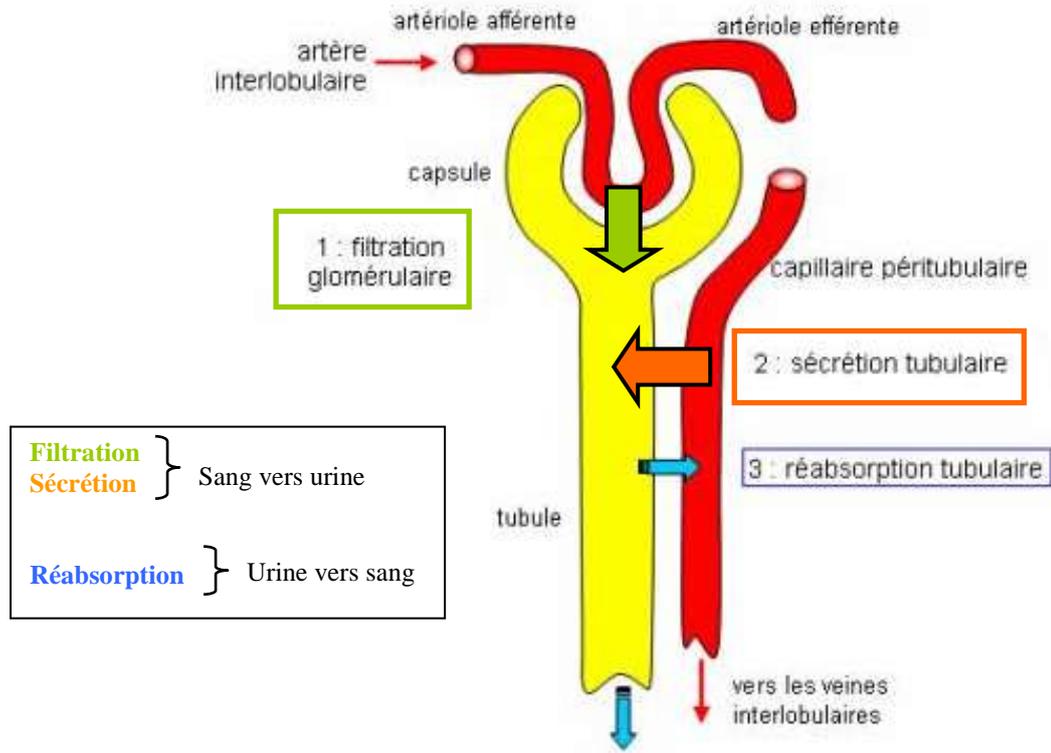


Figure 11 - Illustration de la fonction rénale

Le rein représente une cible privilégiée de la toxicité, on y constate une forte accumulation tissulaire de platine hautement réactif. Le rein constitue la voie d'élimination principale du cisplatine et de ces métabolites platiniques.

4 – Indications

Le cisplatine est habituellement utilisé en polychimiothérapie c'est à dire en association avec d'autres médicaments antinéoplasiques.

L'utilisation en monothérapie est réservée au traitement du cancer du col de l'utérus.

Les données épidémiologiques ci-dessous, sont extraites de « l'Estimation Nationale de l'incidence et de la mortalité par cancer en France » publiée en juillet 2013, étude faite à partir des registres des cancers du réseau Francim, des données de l'InVS et de l'InCa.

L'épidémiologie de l'ensemble des cancers susceptibles d'être traité par cisplatine est présentée ci-dessous.

4-1 Cancers des voies aéro-digestives supérieures (lèvres, bouche, pharynx)

Epidémiologie

En France, les cancers des voies aéro-digestives supérieures (VADS) sont le plus fréquemment diagnostiqués entre 45 et 69 ans (Purdue M.P. *et al.*, 2005).

Les cancers des voies aéro-digestives se situent au 8^{ème} rang des 19 localisations examinées par l'InVS (Annexe 1).

Avec 11316 nouveaux cas estimés en 2012 (dont 71% survenant chez l'homme) et 3192 décès, les cancers des voies aéro-digestives sont au 11^{ème} rang des décès parmi les 19 localisations examinées.

L'incidence de ce cancer a fortement diminué chez l'homme depuis 1980 et cette tendance s'est accentuée après 2005. En effet, le taux d'incidence standardisé diminue de 2.8% par an entre 1980 et 2012 et cette diminution est de 5.3% entre 2005 et 2012.

Chez la femme, l'incidence est en augmentation avec un taux d'incidence standardisé augmentant de 1.5% par an.

Traitement

Le cisplatine est la molécule de base de la chimiothérapie des cancers des VADS.

Le protocole proposé associe le 5-FU et le cisplatine.

4-2 Cancer du poumon

Epidémiologie

En France, le cancer du poumon est le plus fréquemment diagnostiqué entre 45 et 79 ans, avec un pic d'incidence entre 70-74 ans en 2012.

Le cancer du poumon se situe au 4^{ème} rang des 19 localisations examinées par l'InVS (Annexe 1).

Avec 39495 nouveaux cas estimés en 2012 (dont 71% survenant chez l'homme) et 29949 décès dont 71% d'homme, le cancer du poumon se situe au 1^{er} rang des décès parmi les 19 localisations examinées.

Chez l'homme, l'incidence de ce cancer est quasiment stable depuis 1980 avec un taux d'incidence standardisé qui augmente de 0.1% par an entre 1980 et 2012.

Chez la femme, l'incidence de ce cancer est en forte augmentation depuis 1980, le taux d'incidence standardisé croît de 5.3% par an entre 1980 et 2012.

Ces évolutions différentes sont essentiellement liées au principal facteur de risque de ce cancer, la consommation tabagique qui a baissé chez l'homme alors qu'elle a augmenté chez la femme.

Traitement

Le protocole de chimiothérapie le plus utilisé pour traiter un cancer bronchique est une polychimiothérapie à base de platine.

Administré par perfusion intraveineuse, le cisplatine est généralement associé à un agent chimiothérapeutique (Etoposide ou Paclitaxel ou Docétaxel...) (Les traitements des cancers du poumon, 2010).

4-3 Cancers uro-génitaux

4-3-1 Cancer du testicule

Epidémiologie

En France, le cancer du testicule est le plus fréquemment diagnostiqué chez les hommes entre 15 et 44 ans, avec un pic d'incidence compris entre 30 et 34 ans.

De part sa fréquence, le cancer du testicule se retrouve au 19^{ème} rang de l'ensemble des 19 localisations possibles pour les cancers (Annexe 1).

Avec 2317 nouveaux cas estimés en 2012 et 85 décès, le cancer du testicule se situe au dernier rang des décès parmi les 19 localisations examinées.

L'incidence¹⁷ de ce cancer est en hausse depuis 1980 avec une augmentation plus modérée depuis 2005. Les taux d'incidences standardisés ont plus que doublés entre 1980 et 2012.

En Europe, on observe cette augmentation depuis les années 1960, avec un important gradient nord-sud, les taux d'incidences les plus élevés sont observés dans les pays d'Europe du Nord.

Cependant, ce cancer a un très bon pronostic dans l'ensemble des pays développés depuis l'introduction des traitements par sels de platine.

Traitement

Pour le traitement des cancers du testicule, le cisplatine est intégré dans un protocole. Deux types de protocoles peuvent être proposés :

- protocole BEP : Bléomycine, Étoposide, Cisplatine : administré tous les 21 jours en 2 ou 3 cures, dans les formes de bon pronostic.
- protocole VeIP : Vinblastine, Ifosfamide, Cisplatine : habituellement en 4 cures espacées de 21 jours.

Ce traitement est généralement mis en place chez des patients ayant préalablement subi des interventions chirurgicales, radiothérapeutiques et/ou chimiothérapeutiques appropriées (Andrieu J.M. et Colonna P., 1997).

4-3-2 Cancer des ovaires

Epidémiologie

En France, le cancer des ovaires est diagnostiqué chez les femmes entre 45 et 84 ans (Purdue M.P. *et al.*, 2005).

Le cancer de l'ovaire se situe au 16^{ème} rang de l'ensemble des localisations (hommes et femmes confondus) (Annexe 1).

Avec 4615 nouveaux cas estimés en 2012 et 3140 décès, le cancer des ovaires se situe au 12^{ème} rang des décès parmi les différentes localisations examinées.

L'incidence de ce cancer diminue depuis 1990 et cette tendance s'accroît après 2005. Le taux d'incidence standardisé diminue en moyenne de 0.6% par an entre 1980 et 2012. Ce taux était 2 fois plus important en 2005 qu'en 2012.

Traitement

Le traitement initial du cancer de l'ovaire comporte une association de chirurgie à visée d'exérèse¹⁸ maximale et d'une chimiothérapie (6 cycles à base de platine).

Les rechutes surviennent chez 75 % des patientes en stade avancé.

Les patientes avec un cancer de l'ovaire localisé sont traitées après chirurgie avec la même chimiothérapie de 1ère ligne que les stades avancés, si elles présentent les critères de pronostic justifiant une chimiothérapie complémentaire (Institut national du cancer, 2012).

Deux protocoles sont proposés :

- protocoles CC : Cyclophosphamide-cisplatine,
- protocoles TC : Taxol-cisplatine

4-3-3 Cancer du col de l'utérus

Epidémiologie

En France, le cancer du col de l'utérus est le plus fréquemment diagnostiqué chez les femmes entre 30 et 59 ans (Purdue M.P. *et al.*, 2005).

Les cancers du col utérin se situent au 18^{ème} rang des 19 localisations examinées par l'InVS (Annexe 1).

Avec 3028 nouveaux cas estimés en 2012 et 1102 décès, le cancer du col de l'utérus est au 16^{ème} rang des décès parmi les 19 localisations examinées.

L'incidence de ce cancer diminue depuis 1980 avec toutefois un ralentissement de cette baisse depuis le début des années 2000. Le taux d'incidence standardisé a diminué de 2.5% par an entre 1980 et 2012, et de 1.5% par an entre 2005 et 2012.

Traitement

Les agents chimiothérapeutiques employés pour traiter un cancer du col de l'utérus sont administrés par voie intraveineuse.

L'agent le plus employé est le cisplatine.

Le cisplatine est souvent le seul médicament administré (De La Motte Rouge T. *et al.*, 2006).

4-3-4 Cancer de la vessie

Epidémiologie

En France, le cancer de la vessie est diagnostiqué entre 40 et 89 ans (Purdue M.P. *et al.*, 2005).

Le cancer de la vessie se retrouve au 5^{ème} rang de l'ensemble des localisations possibles des cancers (Annexe 1).

Avec 11965 nouveaux cas estimés en 2012 (dont 80% survenant chez l'homme) et 4772 décès dont 75% chez l'homme, le cancer de la vessie se situe au 7^{ème} rang des décès parmi les 19 localisations observées.

Chez l'homme et la femme, l'incidence de ce cancer est globalement en légère diminution depuis 1980.

Chez l'homme, le taux d'incidence standardisé augmente entre 1980 et 1990, puis diminue en 2012.

Chez la femme, l'incidence baisse entre 1980 et 2000 puis augmente à 0.9% par an entre 2005 et 2012.

Traitement

Le traitement de référence des cancers urothéliaux au stade métastatique est basé sur la chimiothérapie.

Depuis 20 ans il n'a jamais pu être montré qu'une drogue faisait mieux que l'association M-VAC (Méthotrexate, Vinblastine, Adriamycine et Cisplatine) en termes de taux de réponse et en termes de survie à cinq ans (Lebret T. et Méjean A., 2008).

Cependant, l'association Gemcitabine-Cisplatine (GC) permet d'obtenir des résultats similaires avec moins d'effets secondaires.

4-4 Cancer de l'œsophage

Epidémiologie

En France, le cancer de l'œsophage est diagnostiqué entre 45 et 84 ans (Purdue M.P. *et al.*, 2005).

Le cancer de l'œsophage se retrouve au 15^{ème} rang de l'ensemble des localisations possibles des cancers (Annexe 1).

Avec 4632 nouveaux cas estimés en 2012 (dont 76% survenant chez l'homme) et 3444 décès, le cancer de l'œsophage se situe au 10^{ème} rang des décès parmi les 19 localisations examinées. L'incidence de ce cancer évolue différemment selon le sexe. Chez l'homme, le taux d'incidence standardisé a diminué de 3% par an entre 1980 et 2012. Chez la femme, le taux d'incidence standardisé a légèrement augmenté de 1.1% par an.

L'œsophage est la localisation tumorale dont l'incidence a le plus diminué chez l'homme en France ces 30 dernières années.

Traitement

Le protocole généralement utilisé associe également le 5-FU avec le cisplatine (Landi B. et Lecomte T., 2004).

Si la tumeur est opérable, cette association peut être utilisée en pré-opératoire ou en post-opératoire.

5- Toxicité

Le rein est l'un des principaux organes cibles de la toxicité induite par des xénobiotiques du fait de ses fonctions de filtration, de réabsorption, de transport et de métabolisme des substances chimiques (Guegen Y. . 2012).

5-1 Néphrotoxicité

La néphrotoxicité est le principal facteur de toxicité limitant l'utilisation du cisplatine. Elle a été constatée chez 28 à 36 % des patients traités avec une dose unique de 50 mg/m² (Product monograph, 2011). Cette toxicité est observée dès la deuxième semaine après l'administration d'une dose de cisplatine. Elle entraîne une altération et une nécrose¹⁹ tubulaire qui peut se présenter de plusieurs façons.

La manifestation principale de la néphrotoxicité est l'apparition d'une insuffisance rénale aiguë (IRA). En règle générale, l'apparition de l'insuffisance rénale commence quelques jours après la première dose de cisplatine. On constate une augmentation des concentrations de créatinine et de l'urée dans le sang et/ou une diminution de la clairance de la créatinine chez certains sujets traités par une dose unique de 50 mg/m² (site internet : agence-prd.ansm.sante.fr , répertoire des spécialités pharmaceutiques, RCP).

Le débit urinaire est habituellement préservé mais l'urine peut contenir du glucose et de petites quantités de protéines, témoins de la dysfonction tubulaire proximale (Miller R. *et al.*, 2010). En effet, le glucose et les protéines sont normalement réabsorbés au niveau du tube contourné proximal (fig.12).

La toxicité rénale se prolonge et s'aggrave avec des doses répétées de cisplatine (Product monograph, 2011).

Elle est également favorisée par l'administration de bolus, les médicaments néphrotoxiques associés et le terrain (sujet âgé, diabète, hypokaliémie²⁰, obstacle sur les voies excrétrices) (site internet : agence-prd.ansm.sante.fr , répertoire des spécialités pharmaceutiques, RCP).

En théorie, la fonction rénale doit redevenir normale avant que l'on puisse administrer une nouvelle cure de cisplatine.

Le rein accumule le cisplatine à un degré plus élevé que les autres organes en lien avec sa fonction d'organe excréteur principal du platine.

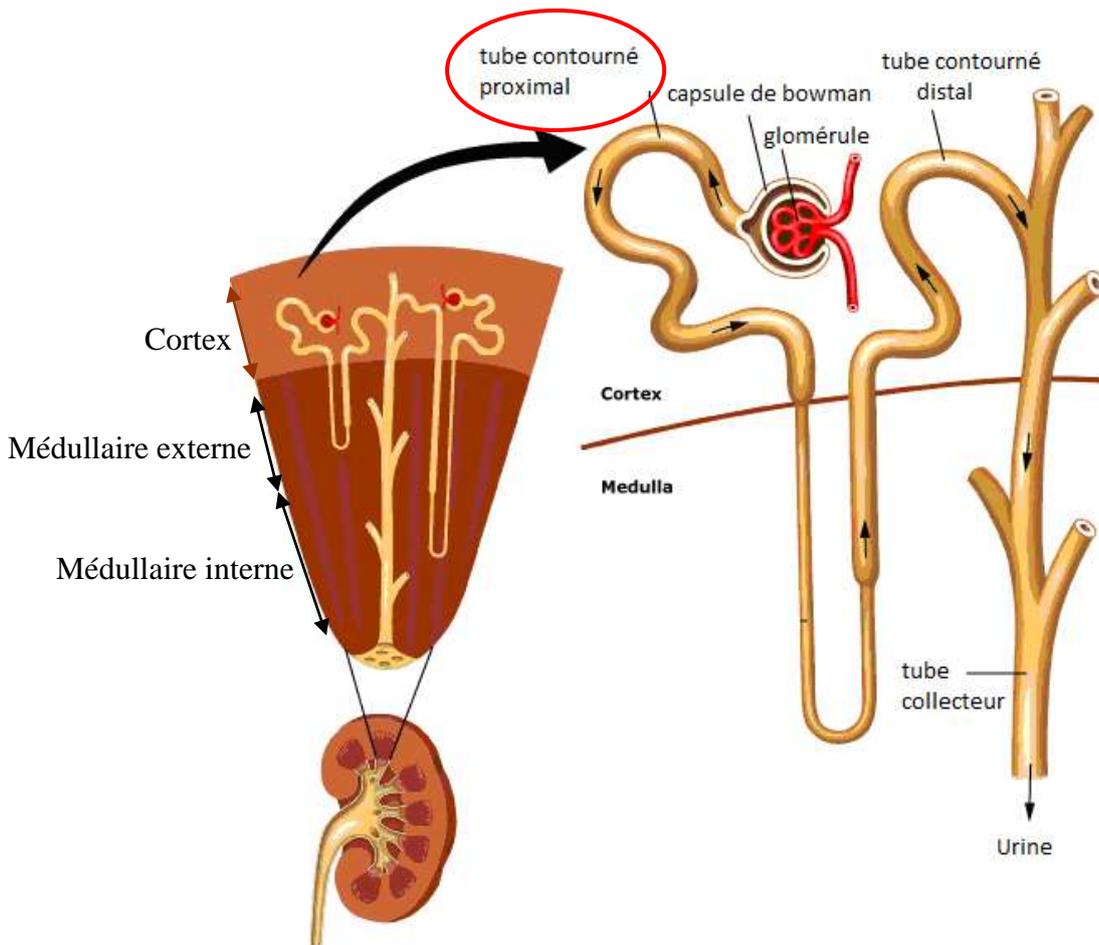


Figure 12 - Anatomie du rein

5-1-1 Mécanisme de néphrotoxicité du cisplatine

La majeure partie du cisplatine est éliminée sous forme non transformée en faisant intervenir tout d'abord une filtration glomérulaire (peu sélective) puis une sécrétion tubulaire (sélective) (fig.11).

La plupart des patients ont une diminution réversible de la filtration glomérulaire.

La néphrotoxicité est le résultat du transport intracellulaire du cisplatine dans les cellules épithéliales rénales, elle est permise grâce à sa fixation pratiquement irréversible par liaison covalente sur les groupements SH des protéines rénales tubulaires (fig.13). Il en résulte une accumulation du cisplatine au niveau du tube contourné proximal, responsable d'une nécrose tubulaire (Nuhrich A., 2008).

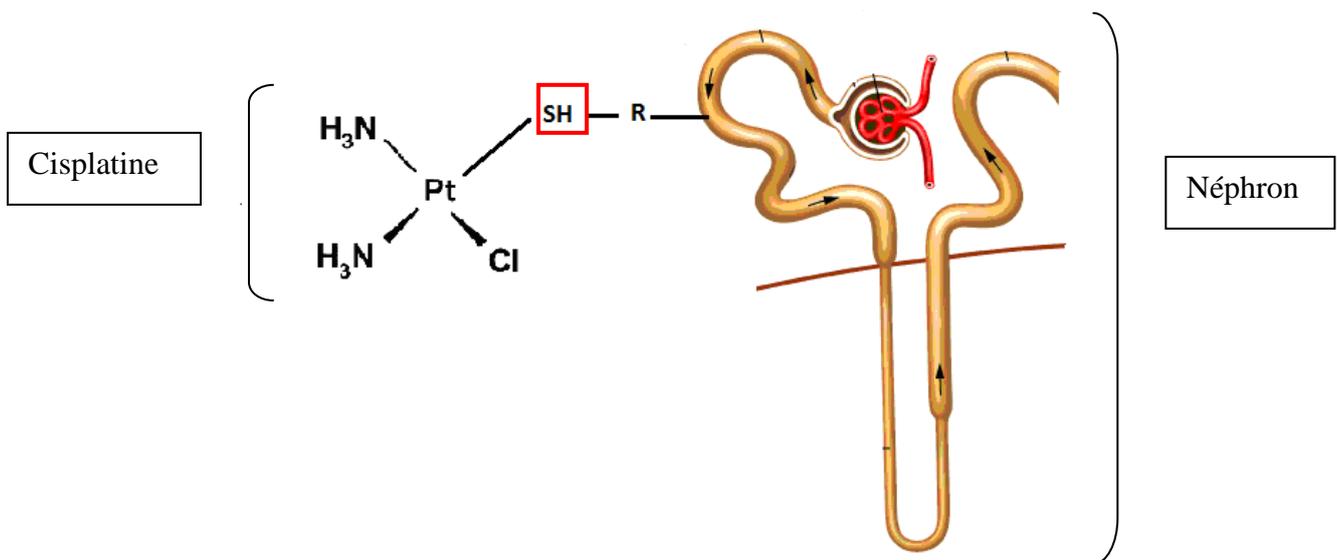


Figure 13 - Liaison covalente cisplatine sur groupements SH des protéines tubulaires proximales

a - Nécrose tubulaire aigüe -

Cette nécrose est due à une accumulation du cisplatine dans les cellules du rein, principalement au niveau de la médullaire externe (fig.12).

Le mécanisme majeur étant à la base de la toxicité rénale est provoqué par l'apoptose des cellules rénales liées à la métabolisation intracellulaire du cisplatine (Boisdron-Celle M. *et al.*, 2001).

La pénétration intracellulaire du platine entraîne des dommages sur l'ADN nucléaire et mitochondrial qui activent par la suite l'apoptose des cellules (mort cellulaire multiple) (Miller RP., *et al.* 2010).

Le cisplatine une fois activé en métabolites platiniques a de multiples effets intracellulaires. En interagissant avec l'ADN nucléaire et mitochondrial, il régule des gènes qui entraînent une

cytotoxicité directe via le stress oxydant. Il entraîne également, l'activation de certaines protéines kinases qui induisent l'apoptose des cellules, stimulent l'inflammation et la fibrinogénèse (Yao X., *et al.* 2007).

Fonctionnellement, on constate une réduction de la perfusion rénale, alors que morphologiquement on observe une nécrose de la partie terminale du tubule proximal (fig. 12).

Le problème étant que ces différentes actions contribuent à la cytotoxicité des cellules tumorales. Par conséquent, les stratégies visant à réduire les lésions rénales induites par le cisplatine sans diminuer les actions anti-tumorales du cisplatine (Miller RP., *et al.* 2010).

b - Insuffisance rénale chronique -

Cette toxicité est surtout due aux doses cumulatives du cisplatine et peut conduire à limiter les doses voire à modifier le traitement.

c - Troubles hydro-électrolytiques -

En particulier, il peut être observé une *hypomagnésémie*²¹, liée à une défaillance de la réabsorption du magnésium, conséquence de la toxicité rénale (Lajer H., Daugaard G., 1999). Une *hyponatrémie*²², une *hypokaliémie*, une *hypocalcémie*²³ et une *hypophosphatémie*²⁴ en rapport avec l'atteinte tubulaire, surviennent habituellement pour des doses supérieures à 50 mg/m² (site internet : agence-prd.ansm.sante.fr , répertoire des spécialités pharmaceutiques, RCP).

Une tétanie peut être observée chez les patients souffrant d'hypocalcémie et/ou d'hypomagnésémie. Généralement, les concentrations d'électrolytes sériques retournent à la normale lorsque des suppléments d'électrolytes sont administrés et le traitement par le cisplatine arrêté (site internet : agence-prd.ansm.sante.fr , répertoire des spécialités pharmaceutiques, RCP).

d - L'hyperuricémie -

L'hyperuricémie²⁵ survient à peu près à la même fréquence que l'élévation du taux de créatinine sérique. Elle est plus prononcée après l'administration de doses supérieures à 50 mg/m². Les concentrations maximales d'acide urique sont généralement atteintes entre le 3^{ème} et 5^{ème} jour suivant l'administration de la dose (site internet : agence-prd.ansm.sante.fr , répertoire des spécialités pharmaceutiques, RCP).

Traitement

L'allopurinol (fig.14) constitue un traitement de l'hyperuricémie. Il empêche la formation d'acide urique en inhibant la xanthine-oxydase qui est une enzyme catalysant la biosynthèse de l'acide urique. L'allopurinol est un puissant hypo-uricémiant, il diminue l'uricémie et l'uraturie.

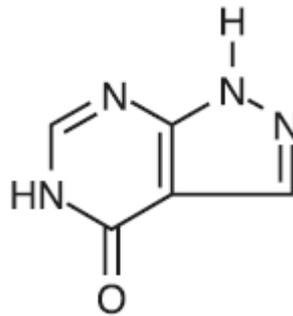


Figure 14 – Allopurinol

5-1-2 Prévention

Pour réduire la toxicité rénale du cisplatine, on augmente la diurèse. L'élimination du cisplatine est alors accélérée et une concentration élevée de chlorure est maintenue pour éviter la transformation du cisplatine en dérivés hydratés.

L'augmentation de la diurèse nécessite l'utilisation d'une forte hydratation par voie veineuse (au moins 3 litres sur 24 heures) mise en place 8 à 12 heures avant la 1^{ère} administration de cisplatine, voire l'utilisation d'un diurétique comme le furosémide (LasilixTM).

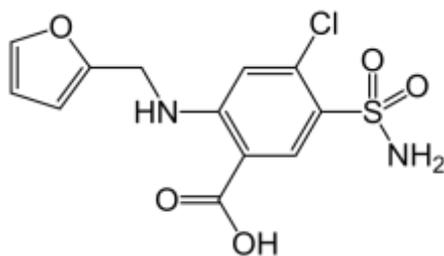


Figure 15 - Molécule de furosémide

5-1-3 Suivi du patient

La néphrotoxicité évolue lentement et de façon prévisible après une exposition initiale et répétée.

Une vérification de la créatinine sanguine et un calcul de la clairance sont nécessaires avant l'administration de chaque nouvelle dose de cisplatine.

Il convient de prévenir les malades que l'utilisation d'un autre néphrotoxique (comme par exemple, un antibiotique de la famille des aminosides) doit être évité en raison de la toxicité cumulée.

5-2 Autres toxicités

5-2-1 Toxicité digestive

Des troubles digestifs à type d'**anorexie**, **nausées**, **vomissements** sont fréquents et apparaissent chez presque tous les patients. Ils sont dose-dépendants et surviennent 1 à 4h après l'administration du produit et peuvent durer jusqu'à 24h.

Ils doivent être prévenus par un traitement anti-émétique efficace mais peuvent parfois conduire à l'arrêt du traitement. Les nausées et les vomissements retardés sont difficiles à contrôler et sont souvent associés à des risques de néphrotoxicité retardée (site internet : agence-prd.ansm.sante.fr , répertoire des spécialités pharmaceutiques, RCP).

Prévention :

Il convient d'associer systématiquement un anti-émétique : un *aprépitant*²⁶ (fig.16) (médicament de choix pour traiter les vomissements retardés liés au cisplatine) et un corticoïde avant la perfusion, voire un anxiolytique pour éviter les vomissements anticipés lors des cures suivantes.

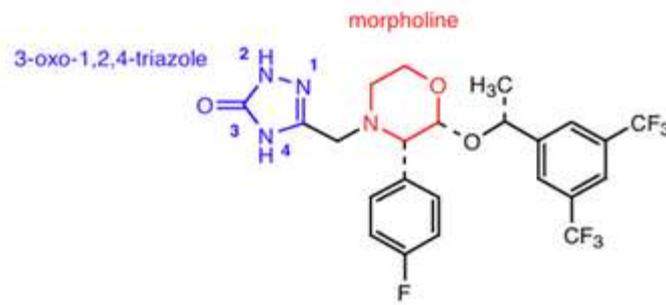


Figure 16 - aprépitant : EMEND®

5-2-2 Toxicité neurologique

Des **neuropathies périphériques** peuvent être observées surtout sensibles à type de parésthésies des extrémités (fourmillements des pieds, mains) plus ou moins permanents, puis une diminution de la sensibilité profonde.

Cette toxicité est cumulative et dose-dépendante, elle débute vers 300 mg/m² et est fréquente vers 600 mg/m², avec une intensité variable.

La récupération est lente et incomplète dans 30 à 50 % des cas et peut conduire à l'arrêt du traitement.

Il faut se méfier des associations du cisplatine avec d'autres produits neurotoxiques (exemple : l'association carboplatine-cisplatine est plus toxique que le cisplatine seul) et des neuropathies pré-existantes.

De rares atteintes neurologiques centrales ont été observées avec le cisplatine, en particulier des crises convulsives et une cécité transitoire; des pertes de goût et de la sensibilité ont également été rapportées (site internet : agence-prd.ansm.sante.fr , répertoire des spécialités pharmaceutiques, RCP).

5-2-3 Toxicité auditive

L'**ototoxicité** est provoquée par une atteinte de la paire VII des nerfs crâniens, elle a été observée chez 31% des patients ayant reçu une dose unique de 50 mg/m² de cisplatine. Cette toxicité se traduit par des bourdonnements d'oreille et une perte auditive au niveau des hautes fréquences (4 000 à 8 000 Hz).

Plus rarement, la perte auditive porterait sur les fréquences conversationnelles (1 000 à 3 000 Hz).

Uni ou bilatérale, l'ototoxicité devient plus fréquente et plus sévère avec l'intensité et la répétition des doses. Elle est majorée par une hypoacousie préalable et l'association de médicaments ototoxiques (Jouzani E. *et al.*, 1999).

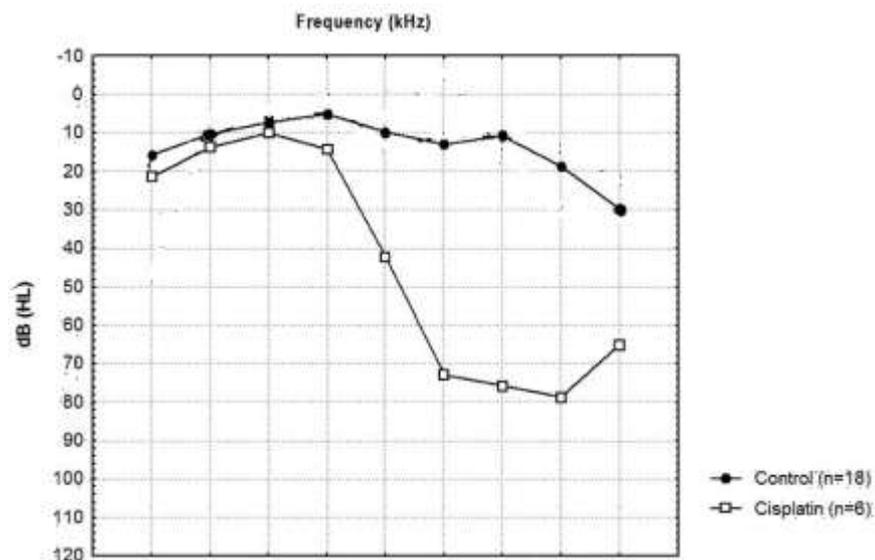


Figure 17 - Comparaison d'un audiogramme entre un patient sous cisplatine et un patient contrôle (Dhooge I., et al. 2006)

5-2-4 Toxicité hématologique

L'**anémie**²⁷ (diminution de 2 g d'hémoglobine/100 mL) survient approximativement à la même fréquence et au même moment que la leucopénie et la thrombocytopénie. Elle est observée dans 50% des cas après 300mg/m² et semble liée au déficit en érythropoïétine

synthétisée par le rein. Cette anémie peut justifier un traitement spécifique pour stimuler la production de globules rouges (Product monograph, 2011).

Une **leucopénie**²⁸ et une **thrombopénie**²⁹ s'observent chez 25 à 30 % des patients traités avec le cisplatine généralement vers la 3^{ème} semaine après le traitement. Elles sont plus prononcées à des doses élevées de cisplatine (> 50 mg/m²). La récupération s'effectue au bout de la 4^{ème} ou la 6^{ème} semaine (site internet : agence-prd.ansm.sante.fr , répertoire des spécialités pharmaceutiques, RCP).

5-2-5 Toxicité allergisante

Des réactions anaphylactiques peuvent survenir dans les minutes qui suivent l'injection du produit à type : d'œdème facial, de dyspnée, de tachycardie, d'hypotension (site internet : agence-prd.ansm.sante.fr , répertoire des spécialités pharmaceutiques, RCP).

Ces réactions peuvent être maîtrisées à l'aide d'adrénaline, de corticoïdes ou d'anti-histaminiques par voie IV.

5-2-6 Toxicité hépatique

On peut observer une élévation passagère des enzymes hépatiques et de la bilirubine lors de l'administration de cisplatine aux doses recommandées.

5-2-7 Mutagénèse

Le cisplatine peut s'avérer nocif pour le fœtus lorsqu'il est administré à une femme enceinte. Ce médicament est mutagène chez les bactéries. Il produit des aberrations chromosomiques dans les cellules animales de cultures tissulaires et exerce des effets tératogènes et embryotoxiques chez les souris (Product monograph, 2011).

Si une femme en âge de procréer est mise sous cisplatine, il est nécessaire d'insister sur l'importance et la surveillance de la contraception.

5-3 Précautions d'emploi

Les examens suivants doivent être pratiqués avant le début du traitement et avant chaque cure ultérieure:

– évaluation de la **fonction rénale** (créatininémie et/ou la clairance de la créatinine) avant chaque cure et éventuellement au milieu de l'intercure, il faut rappeler que la créatinine sérique est dépendante de la masse musculaire et de l'âge du sujet, elle ne commence à s'élever que lorsque la fonction rénale est déjà altérée de plus de 40 % ;

- étude de la **fonction hépatique**;
- **numération** et **formule sanguine** hebdomadaire;
- surveillance du **ionogramme**, en particulier calcémie, kaliémie, magnésémie et natrémie.

Un **audiogramme** et un **examen neurologique** doivent être réalisés avant le traitement et répétés périodiquement.

Si le traitement est mis en place chez une femme en âge de procréer, faire un test de grossesse avant la cure et mettre en place une contraception efficace si ce n'est pas encore fait.

- 2ème Partie -

**NGAL : Human Neutrophil Gelatinase
Associated Lipocalin**

1 – NGAL : données fondamentales

1-1 Généralités

1-1-1 Qu'est ce que la NGAL?

La NGAL ou Neutrophil Gelatinase Associated Lipocalin appartient à la famille des lipocalines. Il s'agit d'une protéine de faible poids moléculaire (25kD) liée de façon covalente à la gélatinase des neutrophiles.

La NGAL est un polypeptide qui a été isolé dans le surnageant de polynucléaires activés en 1993 par Kjeldsen L. et ses confrères. Elle a été mise en évidence initialement dans les granules des polynucléaires neutrophiles.

La NGAL est un des biomarqueurs les plus étudiés et les plus prometteurs pour le diagnostic précoce des atteintes rénales (Carillo-Esper R. *et al.* 2011).

Plusieurs études ont montrées son intérêt dans la prédiction de l'insuffisance rénale et son pronostic (Gagneux-Brunon A. *et al.* 2012).

1-1-2 Structure de la NGAL

Les lipocalines sont des protéines à huit feuillets béta anti-parallèles (fig. 18) formant une structure tertiaire en tonneau et contenant un noyau hydrophobe liant des molécules lipophiles telles que des vitamines, des hormones et des agents antigéniques (Carillo-Esper R. *et al.* 2011).

Les ligands majeurs de la NGAL sont les sidérophores³⁰ qui sont des protéines fixant le fer présent notamment dans les bactéries (Flower D.R., 1996).

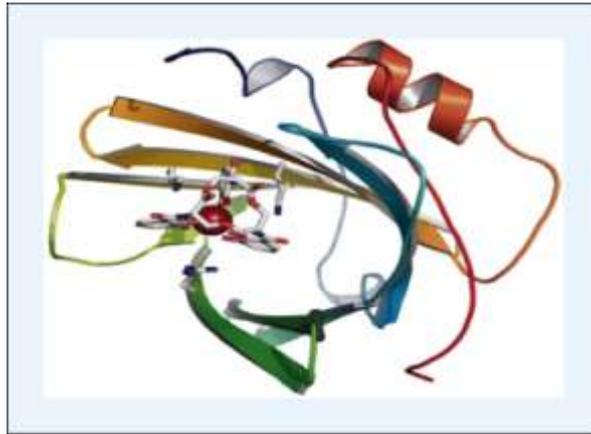


Figure 18 - Structure de la NGAL (Lalanne A. *et al.* 2011)

1-1-3 Synthèse

La NGAL est exprimée et sécrétée par certaines cellules du système immunitaires inné, notamment : les neutrophiles activés. On la retrouve également au niveau de certains épithéliums, comme celui de la partie proximale des tubules rénaux où son excrétion est augmentée en réponse à une attaque ischémique ou néphrotoxique (Fourcade M., 2009). Elle est généralement sécrétée en réponse à une agression, une infection bactérienne ou une atteinte tubulaire rénale (Hamouche EM., 2012).

1-2 Rôles physiologiques de la NGAL

1-2-1 Effets de la NGAL sur les cellules rénales

a - La NGAL favorise la croissance des cellules rénales -

La NGAL joue un rôle de régulateur de croissance cellulaire. En effet, lors de l'insuffisance rénale, la réduction du nombre de néphron stimule la croissance des néphrons restants par différents mécanismes encore mal connus. Les récepteurs EGFR rénaux (Epidermal Groth Factor Receptor) sont activés. Cette activation va enclencher une augmentation de la production de NGAL qui va alors stimuler la prolifération tubulaire et la cytogénèse. Cependant, cette prolifération cellulaire peut être pathologique et provoquer des lésions rénales. La NGAL pourrait contrôler la prolifération des cellules tubulaires par action sur la

division cellulaire et l'inhibition de l'apoptose. Elle a ainsi un rôle crucial de médiateur dans la progression de l'IRC (Viau A. *et al.* 2010).

b - Protection des cellules rénales -

Le trimère NGAL-sidérophore-fer aurait un rôle protecteur limitant l'atteinte rénale en réduisant l'apoptose des cellules rénales, par augmentation de l'expression des E-cadherines³¹. Il favorise également la survie et la prolifération des cellules épithéliales (Hanai J. *et al.*, 2005).

1-2-1 Propriétés anti-inflammatoires

La NGAL joue un rôle anti-inflammatoire en se liant aux lipopolysaccharides³² bactériens. Elle empêche ainsi leurs interactions avec leurs ligands exprimés sur la membrane des macrophages et des polynucléaires neutrophiles. Par ce mécanisme, la NGAL limiterait l'activation de ces cellules et la libération de cytokines³³ pro-inflammatoires (Nielsen B.S. *et al.*, 1996).

1-2-2 Propriétés antibactériennes

La NGAL libre est capable de capturer les sidérophores bactériens, réduisant ainsi la disponibilité du fer qui est nécessaire à la croissance des bactéries (Goetz D.H. *et al.*, 2002).

2 – NGAL : biomarqueur de la néphrotoxicité

L'identification de marqueurs sensibles et spécifiques de la néphrotoxicité médicamenteuse est un enjeu important pour faciliter les études de toxicité des nouvelles thérapeutiques et pour le suivi des patients recevant des agents thérapeutiques néphrotoxiques (Gagneux-Brunon A., *et al.* 2012).

L'absence de biomarqueurs précoces de l'insuffisance rénale empêche une prise en charge médicale rapide du patient qui permettrait ainsi de limiter les risques d'insuffisance rénale chronique voir d'insuffisance rénale terminale.

2-1 Insuffisance rénale

2-1-1 Définition

(site internet de : *Inserm*)

L'insuffisance rénale correspond à une altération du fonctionnement des reins qui ne filtrent plus correctement le sang. La maladie est dite aiguë si le dysfonctionnement est transitoire et réversible et chronique si la destruction est irréversible.

L'insuffisance rénale aiguë est définie par une diminution rapide (quelques heures à quelques jours) du débit de filtration glomérulaire se traduisant par une hausse rapide de la créatinémie. Elle survient le plus souvent après une agression comme par exemple, une baisse brutale et transitoire de la pression artérielle, une hémorragie, une infection générale (septicémie), une intoxication médicamenteuse ou encore en cas d'obstruction des voies urinaires.

C'est une affection fréquente et grave dont le diagnostic repose actuellement sur des biomarqueurs fonctionnels tels que la mesure de la créatinine et le dosage de l'urée.

2-1-2 Biomarqueurs actuels des insuffisances rénales

Les biomarqueurs les plus utilisés actuellement pour l'évaluation de l'insuffisance rénale sont : l'**urémie**, la **créatininémie**/créatininurie ainsi que la **clairance de la créatinine** qui reflète le **débit de filtration glomérulaire**.

Une des premières conséquences de l'insuffisance rénale est la diminution de la filtration glomérulaire qui entraîne une accumulation des déchets du métabolisme d'où une augmentation de l'urémie et de la créatininémie.

a - Biomarqueurs sanguins -

L'urée

En cas d'insuffisance rénale, la concentration sanguine de l'urée dépasse les 5mmol/L. C'est le produit terminal du métabolisme azoté hépatique, sa concentration varie en fonction des apports alimentaires et de l'état des fonctions hépatiques.

La créatinine

La concentration dans le sang en créatinine est supérieure à 110 µmol/L en cas d'insuffisance rénale.

La créatinine est éliminée de façon exclusive par le rein, quasiment sans réabsorption tubulaire, par conséquent, toute augmentation de la créatininémie révèle une diminution du débit de filtration glomérulaire. La créatininémie est stable dans le temps et varie d'un individu à un autre selon la masse musculaire. Les intervalles de référence sont différents selon le sexe.

b - Biomarqueurs urinaire -

Clairance de la créatinine

La clairance de la créatinine permet d'évaluer le débit de filtration glomurélaire puisque la quantité filtrée par les glomérules se retrouve intégralement dans les urines. La clairance mesurée nécessite un échantillon urinaire provenant d'un recueil exhaustif des urines sur 24h, un échantillon plasmatique ainsi qu'une mesure de la diurèse des 24h. Le principal écueil de ce calcul de la clairance est le recueil des urines sur 24h.

Elle est déterminée selon la formule :

$\text{Clairance créatinine en mL/min} = \text{diurèse} \times \text{créatininurie/créatininémie}$
--

Il a donc été développé des formules de calcul d'estimation de la clairance de la créatinine (correspondant au débit de filtration glomérulaire) basée sur un seul paramètre sanguin, la créatininémie.

Les 2 principales formules sont :

- Formule de Cockroft et Gault : principalement retrouvée dans les indications du Vidal

$$\text{Clairance créatinine} = (140 - \text{âge}) \times \text{Poids} \times K / \text{créatininémie } (\mu\text{mol/l})$$

K = 1,24 pour l'homme ou 1,04 pour la femme

Poids en kg

- Formule MDRD

$$\text{Clairance créatinine} = 186.3 \times (\text{Créatininémie } (\mu\text{mol/L}) / 88.4)^{-1.154} \times \hat{\text{Age}}^{-0.203}$$

A multiplier par 0.742 pour une femme et par 1.21 pour un sujet d'origine africaine.

Le résultat de la clairance de la créatinine permet de diagnostiquer une insuffisance rénale et d'évaluer le stade de l'insuffisance rénale chez les patients insuffisants rénaux chroniques (Tableau 1).

Stades de l'IRC	Définition	DFG (mL/min/1.73m ²)
1	Pas d'insuffisance rénale chronique	≥90
2	Insuffisance rénale chronique légère	60-89
3	Insuffisance rénale chronique modérée	30-59
4	Insuffisance rénale chronique sévère	15-29
5	Insuffisance rénale chronique terminale	<15

Tableau 1 - Classification du stade de l'insuffisance rénale chronique en fonction du DFG (débit de filtration glomérulaire)

La β 2-microglobuline

La β 2-microglobuline est un petit polypeptide de 11.8 kD découvert en 1964 par Berggård. Elle est synthétisée par toutes les cellules nucléées de l'organisme.

Elle est totalement filtrée par le glomérule rénal, réabsorbée à 99,9% par le tube contourné proximal et possède une demi-vie de 1h. Son dosage urinaire permet donc d'apprécier la fonction rénale tubulaire du patient. Elle est sensible au pH acide.

La β 2-microglobuline est augmentée dans les pathologies rénales plus particulièrement dans les dysfonctionnements de la réabsorption tubulaire pouvant être d'origine (John G.T. *et al*, 2003) :

- infectieuse
- toxique : cadmiun, mercure...
- médicamenteuse : cisplatine, aminosides...
- suite à une transplantation rénale.

Les valeurs urinaires normales de β 2-microglobuline sont inférieures à 400 μ g/24h, soit inférieures à 300 μ g/L.

α 1-microglobuline

L' α 1-microglobuline est une petite protéine de 30 kDa.

Elle est filtrée par le glomérule rénal, puis complètement réabsorbée par le tubule proximal où elle est dégradée (Everaert K. *et al.*, 1998). L'augmentation de son taux urinaire est donc le résultat d'une atteinte tubulaire. Son dosage permet un diagnostic précoce et un suivi des lésions tubulaires qui apparaissent après l'administration de certains médicaments ou à la suite d'une transplantation rénale.

Les valeurs normales urinaires sont inférieures à 20 mg/24h, soit inférieures à 12 mg/L.

C'est un marqueur stable (même à pH acide) et surtout sensible.

c - Limites de ces biomarqueurs dans l'insuffisance rénale -

En situation d'urgence : la *clairance* ne reflète pas une altération rapide de la fonction rénale, on ne constate une augmentation significative que 48 heures après l'atteinte rénale.

La *créatininémie* est un indicateur tardif et peu sensible pour détecter une IRA précoce chez un patient ayant une fonction rénale de base normale, elle devient un bon marqueur de l'insuffisance rénale uniquement après une dégradation de plus de 50 % de la fonction rénale.

De plus, la créatininémie et la clairance de la créatinine reflètent uniquement une atteinte de la fonction de filtration glomérulaire du rein.

L'urée et la créatinine plasmatique sont les biomarqueurs les plus utilisés actuellement, mais ils sont peu sensibles et non spécifiques de l'atteinte rénale aiguë.

2-1-3 Classification des insuffisances rénales

Le score de « RIFLE » est apprécié grâce au débit de filtration glomérulaire, à la clairance de la créatinine et à la diurèse des patients.

Il permet de détecter les patients en phase précoce de défaillance rénale.

	DEBIT DE FILTRATION GLOMERULAIRE (DFG)	DIURESE
Risk (Risque d'insuffisance rénale aiguë)	Créatininémie × 1.5 Ou Réduction du DFG de 25%	< 0.5mL/kg.h
Injury (Lésion rénale)	Créatininémie × 2 Ou Réduction du DFG > 50%	< 0.5mL/kg.h En 12h
Failure (Défaillance rénale)	Créatininémie × 3 Ou Réduction du DFG > 75%	< 0.3mL/kg.h En 24h Ou anurie > 12h
Loss (Perte de fonction rénale)	Insuffisance rénale aiguë persistante = absence de fonction rénale pendant plus de 4 semaines, mise en place d'EER*	
ESKD (Dysfonction rénale au stade terminal)	Insuffisance rénale au stade terminal (>3 mois), nécessitant une EER*	

* : Epuration extra-rénale, c'est-à-dire, mise sous dialyse

Tableau 2 - Score de "RIFLE" (D'après Journois D., 2007)

2-2 Qu'est ce qu'un biomarqueur idéal ?

Un biomarqueur est une substance trouvée dans le sang, les sécrétions ou les tissus qui fournit une mesure de l'état biologique normal, pathologique ou une réponse à un médicament ou une substance étrangère (Guegen Y. *et al.*, 2012).

Le biomarqueur idéal de l'insuffisance rénale aiguë doit :

- être **déTECTABLE précocement** c'est-à-dire s'élève rapidement après l'agression,
- être **sensible**, c'est à dire capable de donner un résultat positif quand le diagnostic est vérifié,
- être **spécifique**, c'est-à-dire capable de donner un résultat négatif quand le diagnostic n'est pas vérifié,
- pouvoir donner un **diagnostic étiologique**, c'est-à-dire connaître la cause de cette insuffisance rénale. Savoir si c'est une insuffisance rénale fonctionnelle (atteinte pré-rénale), organique (atteinte rénale) ou obstructive (atteinte post-rénale),
- permettre de **dater** et de **classifier** l'atteinte,
- permettre d'évaluer le **pronostic** de l'IR et l'efficacité de la réponse au traitement,
- pouvoir être obtenu par des **techniques non-invasives**, standardisées, rapides et performantes,

2-3 Caractéristiques de la NGAL comme biomarqueur

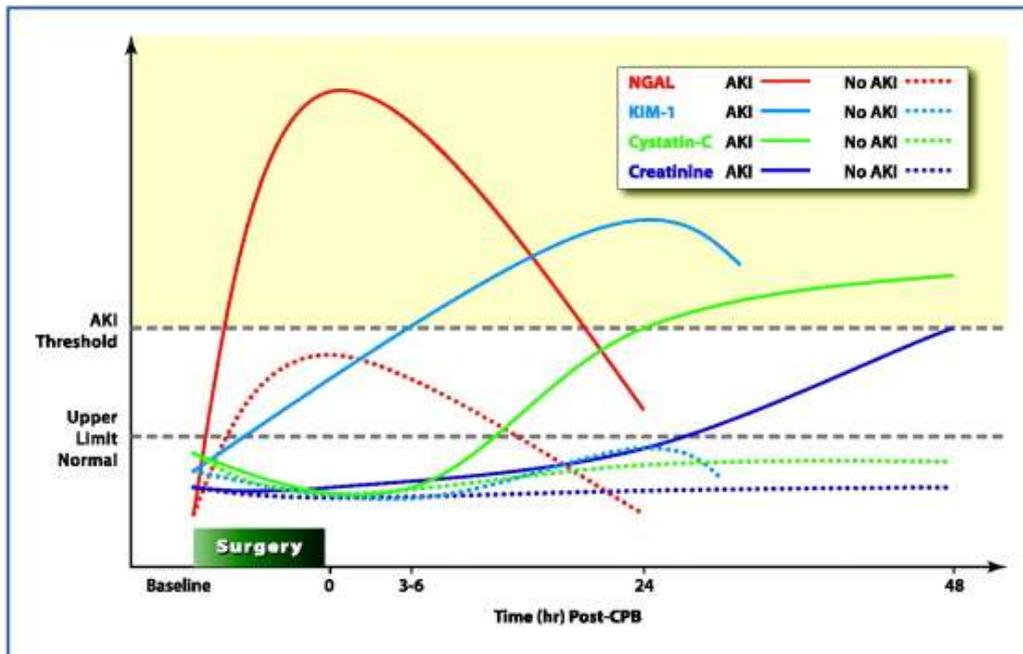
La NGAL est le marqueur de l'insuffisance rénale aiguë le plus prometteur.

Les études récentes montrent que la NGAL est un excellent biomarqueur pour le diagnostic précoce des insuffisances rénales aiguës. Elle pourrait être utilisée comme signal déclencheur pour initier et suivre la prise en charge d'insuffisances rénales aiguës, et comme biomarqueur de sécurité lors de l'utilisation d'agents néphrotoxiques (Devarajan P., 2010).

2-3-1 Précocité de détection des différents biomarqueurs rénaux

La NGAL apparaît dans les urines 2 à 4 h après une atteinte rénale aiguë soit bien plus précocement que la créatinine.

Elle augmente dans le sérum et dans les urines, 48 h avant l'augmentation de la créatinine (Carillo-Esper R., *et al.* 2011).



AKI = Acute Kidney Injury

Figure 19 - Représentation schématique de la cinétique de détection sanguine et urinaire de différents biomarqueurs pour une insuffisance rénale aiguë après chirurgie cardiaque chez l'adulte (McIlroy^a D., *et al.* 2010), KIM-1 et NGAL urinaire; Créatinine et cystatine-C sanguine.

La cystatine-C et KIM-1 sont également des biomarqueurs de l'atteinte rénale en cours d'étude.

La **cystatine-C** est un marqueur précoce qui apparaît 8 à 12 heures après une agression rénale. On la détecte dans le sang et dans les urines. Elle permet de prédire une insuffisance rénale 24 à 48h avant l'augmentation de la créatinine.

Sa concentration urinaire est multipliée par 200 par rapport à la normale en cas de dysfonction rénale. Seul point négatif, elle ne permet pas un diagnostic étiologique de l'atteinte rénale (Guegen Y., *et al.* 2012).

KIM-1 est détecté uniquement dans les urines, on observe une augmentation de 5 fois la normale dès le 1^{er} jour de lésions toxiques ou ischémiques au niveau du tubule.

C'est un mauvais marqueur pronostic et il a une mauvaise sensibilité (Ariarajah N., *et al.* 2011).

2-3-2 Augmentation significative

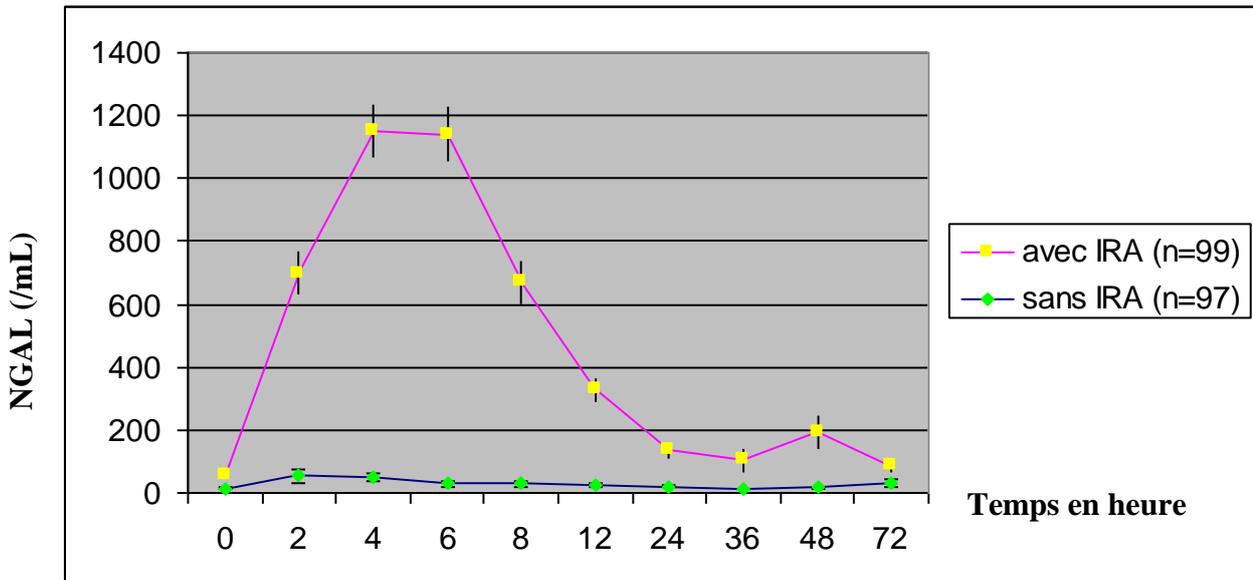


Figure 20 – Taux de la NGAL urinaire obtenu par chimiluminescence en fonction du temps (D’après Bennett M., et al. 2008)

En cas d’insuffisance rénale aiguë, le taux de NGAL peut atteindre 10 à 20 fois le taux de NGAL d’un patient sain en 24h (Rimmelé T., *et al.* 2013).

On constate un pic urinaire de NGAL entre 4 et 6 heures après l’agression, mais la détection peut se faire dès 2 heures.

Le délai entre l’agression et le dosage influence la performance diagnostique de la NGAL, la performance étant maximale lorsque le dosage est réalisé 12 h après l’événement déclencheur (Endre ZH., *et al.* 2011).

La performance diagnostique de la NGAL dépend de plusieurs facteurs dont, la pré-existence d’une maladie rénale et du niveau antérieur de filtration glomérulaire (McIlroy DR., *et al.* 2010).

2-3-3 Localisation de la lésion et étiologie

Pour déterminer si la NGAL est un bon biomarqueur du diagnostic étiologique des atteintes rénales, une enquête a été menée sur 161 patients présentant une insuffisance rénale. Après l’exclusion des insuffisances rénales d’origine obstructive, Singer E. et ses confrères ont

constatés que le taux de NGAL était significativement plus élevé chez les patients atteints d'insuffisance rénale de cause organique (Singer E. *et al.*, 2011).

D'autres études mises en place sur des souris, ont démontrées qu'en cas d'atteinte rénale fonctionnelle, aucune expression de la NGAL n'est observée au niveau rénal.

Ils ont également montré que la synthèse de la NGAL est proportionnelle à l'importance de la lésion (Paragas N. *et al.*, 2011).

2-3-4 Sensibilité et spécificité de la NGAL

Une étude regroupant 635 patients a montré qu'en prenant une valeur cut-off de 130µg/g de créatinine, la sensibilité et la spécificité de la NGAL urinaire pour détecter une lésion rénale aiguë était respectivement de 90 % et de 99.5 % (Nickolas TL. *et al.*, 2008).

2-4 Remarques : NGAL comme biomarqueur de l'insuffisance rénale

Toutes les études mises en place ont pour but de montrer que la NGAL est le biomarqueur idéal de l'insuffisance rénale aiguë. Actuellement, la NGAL répond à tous les critères du « biomarqueur rénale idéal » cités ci-dessus.

Le dosage pourrait être utilisé dans le suivi de chirurgie cardiaque, ou d'intervention coronarienne, chez les patients présentant un tableau clinique critique aux urgences et en réanimation (Insuffisance cardiaque, sepsis...). Mais également pendant les transplantations rénales, chez les patients sous traitement néphrotoxique ou encore chez les patients souffrant d'insuffisance rénale chronique (Fourcade M., 2009).

Toutes les études menées ont également montrées que la NGAL est un bon marqueur diagnostique et pronostique de l'insuffisance rénale aiguë, encore davantage chez l'enfant que chez l'adulte (Haasse M. *et al.*, 2009).

3- Méthodes de dosage de la NGAL

Il existe actuellement quatre méthodes de dosage pour la NGAL : une technique *enzyme linked immunosorbent assay* (Elisa), la chimiluminescence, l'immunoturbidimétrie utilisés pour des dosages sanguins et urinaires. La méthode d'immunofluorescence rapide est réservée au dosage sur sang total.

D'après le laboratoire *BioPorto®Diagnostics*, la concentration moyenne de NGAL dans les échantillons venant de donneurs sains est de 63 ng/mL dans le plasma et de 5.3 ng/mL dans les urines.

3-1 Dosage de la NGAL plasmatique

La source de la NGAL sérique n'est pas nécessairement rénale, de nombreux organes en produisent en cas d'agressions. L'insuffisance rénale aiguë réduit la filtration de la NGAL produite physiologiquement par les autres organes (estomac, sein, prostate, foie, intestin grêle...), entraînant ainsi une augmentation de sa concentration sanguine.

Le dosage dans le sang est possible mais moins sensible et moins spécifique que dans les urines.

Lors d'une insuffisance rénale, la production rénale de NGAL augmente de façon significative, la NGAL est excrétée à la fois dans l'urine et dans le plasma (Bangert K. *et al.*, 2006).

3-2 Dosage de la NGAL urinaire

Sur le plan analytique, les techniques de dosage de la NGAL urinaire sont actuellement plus fiables que celles du dosage plasmatique (Gagneux-Brunon A., *et al.* 2012).

3-2-1 Test ELISA

Définition

Le test ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) est une méthode immuno-enzymatique qui permet de doser la NGAL grâce à une réaction colorée dont l'intensité est mesurée.

En pratique

Les échantillons d'urine vont être déposés sur des microplaques dont les puits ont été au préalable recouverts d'un anticorps monoclonal anti-NGAL.

Au cours de la réaction, la NGAL sera prise en « sandwich » entre l'anticorps anti-NGAL fixé et un anticorps monoclonal HRP (*horseradish peroxidase*) conjugué à la peroxydase de Raifort.

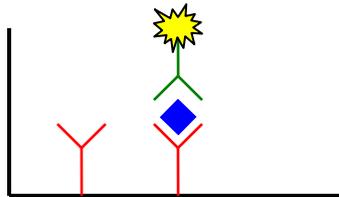
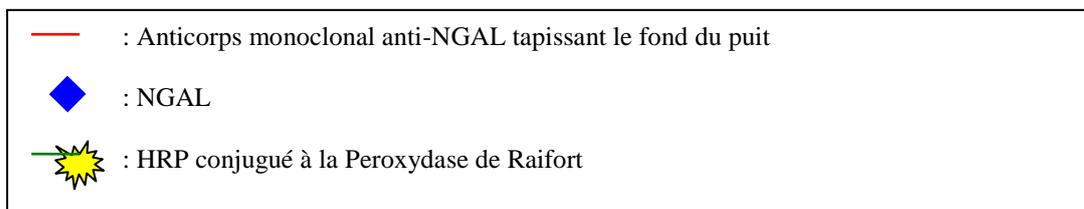


Figure 21 - Dosage de la NGAL par test ELISA



Le dosage se fait en plusieurs étapes :

- 1 - Dépôt des échantillons d'urine, des calibrateurs et des contrôles dans les puits contenant les anticorps monoclonal anti-NGAL déjà fixés.
- 2 - Rinçage

3 - Ajout du HRP conjugué à la peroxydase, formation de complexe, la NGAL à doser est liée aux anticorps de revêtement et aux anticorps de détection. (fig. 21)

4 - Rinçage de la plaque

5 - Ajout du substrat chromogène de la peroxydase contenant de la tétraméthylbenzidine dans chaque puits. La HRP liée à l'anticorps de détection réagit avec le substrat pour former un produit coloré.

5 - Après 15 minutes, arrêter la réaction chimiquement, l'intensité de la coloration est alors mesurée à 450 nm grâce à un lecteur d'absorbance³⁴.

L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration en NGAL présente dans le puits.

Grâce aux calibrateurs, on trace une courbe d'étalonnage qui par la suite va permettre de lire la concentration en NGAL de l'échantillon.

Le test ELISA permet une détection sensible et spécifique de la NGAL dans les urines.

3-2-2 Chimiluminescence

Définition

La chimiluminescence est un dosage immunologique fondé sur une réaction chimique émettant de l'énergie sous forme de lumière. La lumière émise traduit la quantité de l'analyte, présente dans l'échantillon.

En pratique

La NGAL présente dans l'échantillon, va être prise en « sandwich » entre : des anticorps liés à des microparticules et des anticorps monoclonaux anti-NGAL couplés à du carboxamide d'acridinium.

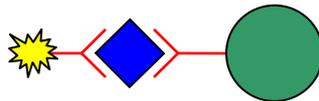


Figure 22 - Dosage de la NGAL par chimiluminescence

	: Microparticules paramagnétiques recouvertes d'oxyde métallique et d'une couche de polymère
	: Anticorps anti-NGAL
	: NGAL
	: Carboxamide d'acridinium

L'analyse se fait en plusieurs étapes :

1 - Ajout des anticorps anti-NGAL liés aux microparticules et ceux couplés à du carboxamide d'acridinium dans l'échantillon. Les anticorps fixent la NGAL et forment ainsi des complexes « sandwich ». (fig. 22) Avec cette méthode de dosage, l'échantillon ne subit aucun traitement au préalable.

2 - Exposition de la cuvette contenant l'échantillon à un champ magnétique. Grâce à un aimant, les complexes sont attirés le long des parois de la cuvette. Les résidus de l'échantillon et les réactifs non liés aux microparticules sont éliminés par lavage.

3 - Alcalinisation du milieu, l'ester d'acridinium s'oxyde, ce qui produit une émission lumineuse intense : « un flash lumineux ».

L'émission de la lumière est proportionnelle à la quantité de NGAL présent dans l'échantillon, elle est mesurée en unité de lumière relative (RLU).

L'émission de cette lumière confère à cette méthode de dosage, une sensibilité élevée.

3-2-3 Le test immunoturbidimétrique

(Site internet de Bioporto@Diagnostics)

Définition

L'immunoturbidimétrie est une méthode de dosage immunologique qui permet de déterminer la quantité de NGAL grâce à une réaction de précipitation en milieu liquide. En fin de réaction, l'intensité du trouble générée par la précipitation est déterminée grâce à la mesure de l'absorbance.

En pratique

La NGAL présente dans l'échantillon provoque la précipitation des anticorps monoclonaux de souris anti-NGAL.

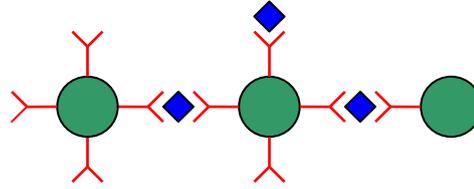
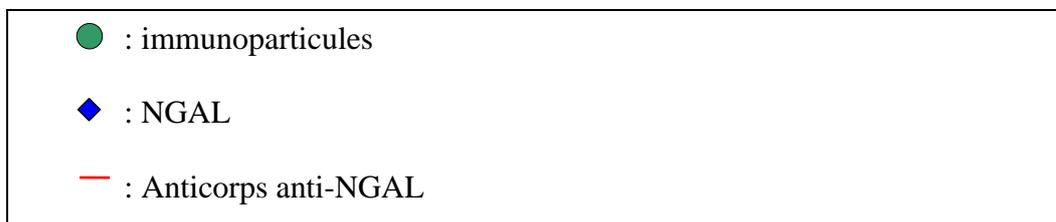


Figure 23 - Immunoprécipitation de microparticules en phase liquide



Le dosage se fait en plusieurs étapes :

- 1 - Incubation de l'échantillon, des calibrateurs et des contrôles avec la solution tampon de réaction pendant 5 minutes.
- 2 - On ajoute la suspension d'immunoparticules (microparticules de polystyrène recouvertes d'anticorps monoclonaux de souris anti-NGAL) ce qui déclenche une réaction d'immunoprécipitation entre les anticorps et la NGAL présente dans l'échantillon (fig. 23).
- 3 - Après 5 minutes, lire la variation de l'absorbance à 570 nm.

On détermine la concentration de NGAL grâce à la courbe d'étalonnage tracée avec les valeurs d'absorbance données par les calibrateurs de concentrations connues.

L'intervalle de mesure avec ce test varie de 25 à 5000 ng/mL. La concentration de NGAL dans un échantillon isolé doit dépasser 250 ng/mL pour indiquer une atteinte rénale.

4 – Conclusion sur la NGAL

Les données retrouvées dans différents articles démontrent que la NGAL est un bon biomarqueur de l'insuffisance rénale aiguë, de part toutes ses propriétés.

Les études cliniques montrent un véritable intérêt à la NGAL qu'elle soit dosée dans le plasma ou dans les urines, pour le diagnostic précoce des insuffisances rénales aiguës.

Toutefois, actuellement, la performance analytique des kits commerciaux paraît meilleure dans les urines que dans le sang (Gagneux-Brunon A. *et al.* 2012).

- 3ème Partie -

**Dosage de la NGAL urinaire chez des
patients traités par cisplatine**

1 – Objectifs

L'objectif étant d'évaluer la précocité de détection de la NGAL dans les urines de patients soumis à un traitement néphrotoxique : le cisplatine.

En fonction des résultats, les médecins pourraient adapter le traitement au cisplatine chez les patients montrant une augmentation de la NGAL, limitant ainsi le risque d'entraîner une atteinte rénale irréversible.

2 – Patients et méthode

2-1 Mise en place de l'étude

Afin de valider l'intérêt du dosage de la NGAL urinaire pour la détection précoce des atteintes rénales tubulaires, un recueil d'urine a été fait sur une population ciblée.

2-1-1 Lieu et durée de l'étude

La collecte des échantillons a été effectuée au sein du Centre René Gauducheau (CRLCC), Institut de Cancérologie de l'Ouest, implanté sur le site de l'Hôpital Nord Laënnec à Saint Herblain (44800).

Les prélèvements ont été effectués dans les services d'hospitalisation des patients en médecine conventionnelle ainsi qu'en hôpital de semaine.

Les échantillons d'urine ont été recueillis sur une période de 2 mois, d'Avril 2013 à Mai 2013.

2-1-2 Critères d'inclusion et d'exclusion

Seuls les patients hospitalisés recevant une chimiothérapie à base de cisplatine ont fait l'objet de la collecte urinaire.

Avant de prélever leurs urines, les patients ont du signer un consentement écrit.

2-2 Description de la population

2-2-1 Généralités

a - Données démographiques -

Au total, la collecte a recruté 44 patients de 19 à 74 ans avec une moyenne d'âge de 53 ans. La grande majorité des patients sont des hommes : 36 hommes pour 8 femmes, soit 82% d'hommes.

b - Données étiologiques -

Le cisplatine est un anticancéreux indiqué dans plusieurs types de cancers. Dans la population étudiée, on retrouve 5 localisations préférentielles (tableau 3).

LOCALISATION DES CANCERS DE LA POPULATION		NOMBRE DE PATIENTS ATTEINTS	TOTAL
VADS (Voies Aéro-Digestives Supérieures)	Rhinopharynx	2	28
	Oropharynx	7	
	Hypopharynx	3	
	Larynx	7	
	Bouche	1	
	Langue	1	
	Gencive	1	
	Amygdale	1	
	Sinus	5	
Digestif	Œsophage	1	3
	Estomac	2	
Poumons et bronches		3	3
Appareil génital masculin	Testicule	3	4
	Verge	1	
Urinaire	Vessie	3	3
Autres		3	3
			44

Tableau 3 - Localisation des différents cancers chez les patients

Les patients atteints de carcinomes des voies aéro-digestives supérieures sont largement représentés (63%). (fig. 24)

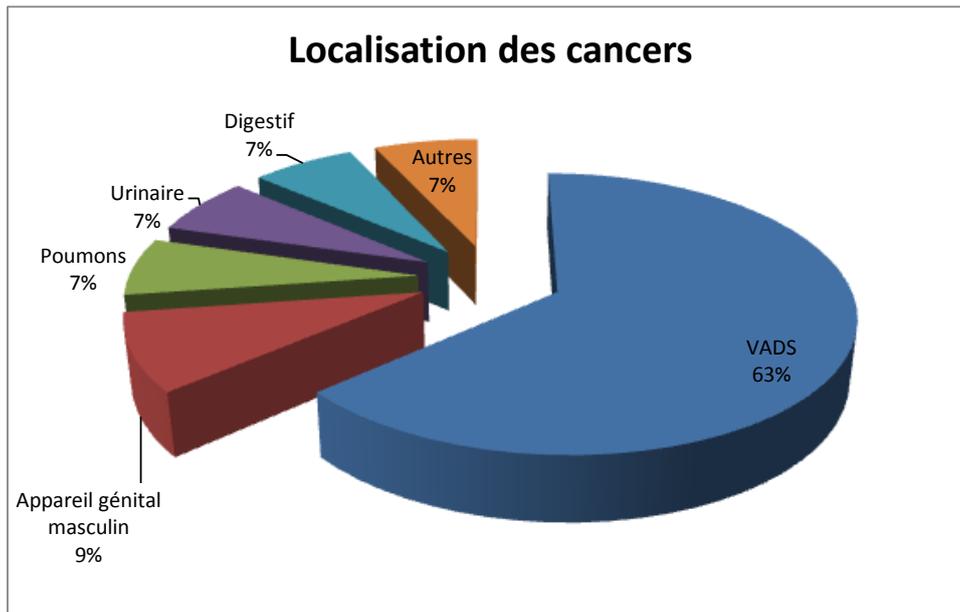


Figure 24 - Représentation de la localisation des cancers chez les patients de l'étude

2-3 Recueil des données clinico-biologique

En plus des données démographiques et étiologiques précisées ci-dessus, nous avons collecté des informations nécessaires à l'étude de la fonction rénale des patients.

Sur les 44 patients faisant l'objet de l'étude, 28 sont sous polychimiothérapie et 16 sous radiochimiothérapie concomitante post-opératoire.

2-3-1 Doses de cisplatine

Grâce aux données récoltées (voir Annexe 2), on a pu comparer les doses de platine reçues par patient : à la 1^{ère} cure, à la seconde cure puis pour les patients venant pour des cures au-delà du 1^{er} cycle de chimiothérapie (n cure) (fig. 25). Les doses augmentent avec le nombre de cures comme attendue, variant de 102.5 mg à 924 mg. Les quantités administrées sont fonction du type de cancer et de la surface corporelle.

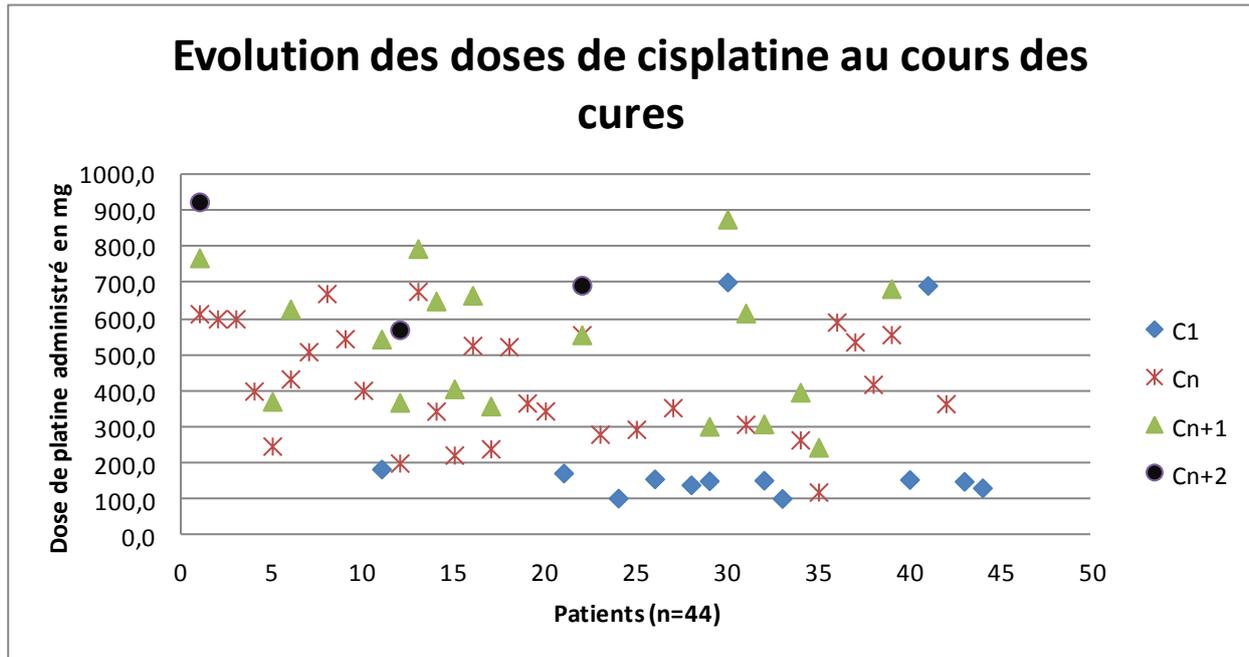


Figure 25 - évolution des doses de cisplatine en fonction des cures

C1 correspond aux patients suivant leur toute 1^{ère} cure

Cn regroupe les patients subissant une n cure

Cn+1 représentent les patients venant pour leur 2^{ème} cure ou la cure suivante des n cures

Cn+2 regroupe les patients suivant leur 3^{ème} cure ou une autre cure

2-3-2 Créatininémies

Les mesures de la créatininémie, ont également été recueillies juste avant l'administration de la chimiothérapie. Sur toutes les valeurs données, aucune ne dépasse les valeurs seuils normales de la créatinémie qui sont :

Pour une femme : 50-100 $\mu\text{mol/L}$

Pour un homme : 60-120 $\mu\text{mol/L}$

En représentant les valeurs de créatininémie (Annexe 3) au cours des différentes cures sur un graphique, on observe qu'il n'y a pas beaucoup de fluctuation de la concentration de créatinine dans le sang d'une cure à une autre (fig. 26).

La majorité des valeurs sont concentrées entre 40 et 100 $\mu\text{mol/L}$. Les patients subissant leur n cure de cisplatine n'ont pas une créatininémie significativement plus élevée que ceux n'ayant jamais reçu de cisplatine.

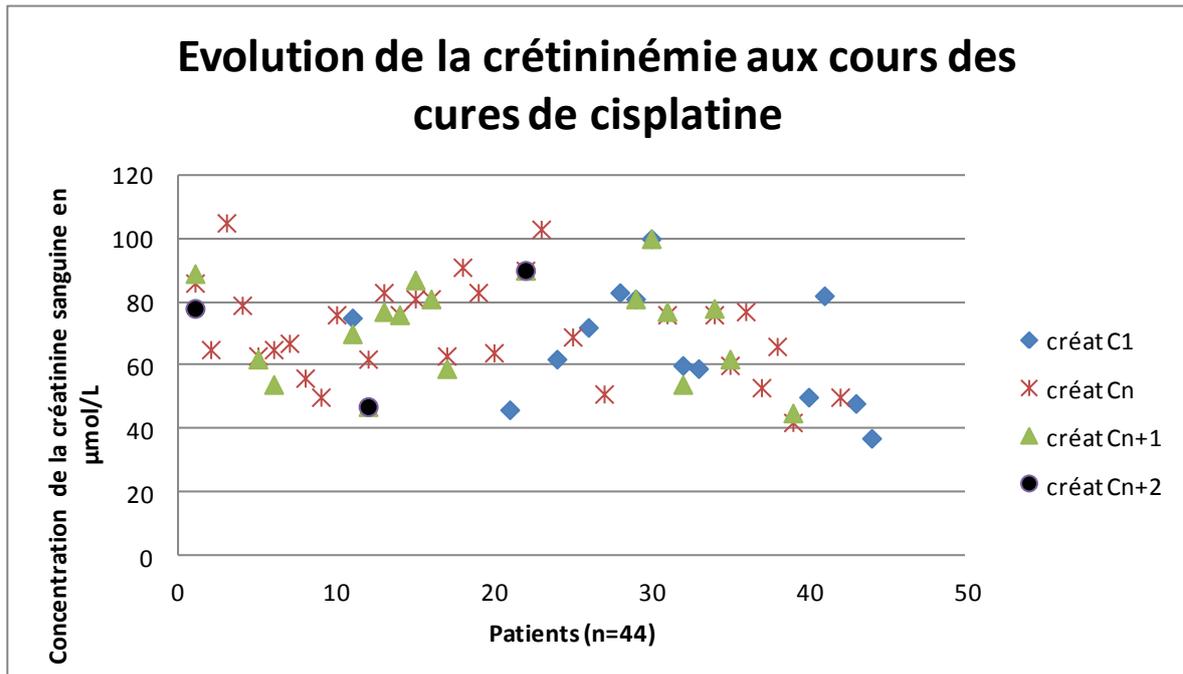


Figure 26 - Evolution de la créatininémie des patients au cours des cures

Les 2 valeurs de créatininémie les plus élevés > à 100 µmol/L, sont les créatininémies de patients de sexe masculin.

2-3-3 Médicaments concomitants à la chimiothérapie

Le recueil des informations pharmacologiques a permis de constater que sur nos 44 patients entrant dans l'étude, 20 prennent des médicaments de façon concomitante à la chimiothérapie ce qui représente 45 % de notre population.

Les médicaments sont classés par catégories (tableau 4). La majorité des traitements sont administrés pour des troubles cardio-vasculaire (42%) (fig. 27).

Médicaments Cardio-vasculaires	Cardiologie	B-bloquant	4		38
			IEC*	3	

	Anti-hypertenseur	Sartans	8	
		Inhibiteur calcique	2	
		Diurétique	1	
	Hématologie	Anti-ischémique	1	
		Anticoagulant	1	
		Antiagrégant plaquettaire	9	
Antiarythmiques	1			
Dyslipidémie	8			
Antalgique	Palier I	4	12	
	Palier II	2		
	Palier III	5		
	AINS	1		
Système nerveux central	Antiépileptique	2	12	
	Psychotrope	10		
Diabète	Insulinothérapie	1	6	
	Antidiabétiques oraux	5		
Gastro-entérologie	IPP**	5	5	
Antibiothérapie		2	2	
Hormones thyroïdienne		2	2	
Pneumologie		7	7	
Autres		6	6	

* : Inhibiteur de l'enzyme de conversion.

** : Inhibiteur de pompes à protons

Tableau 4 - Classification des médicaments pris par les patients simultanément à la chimiothérapie

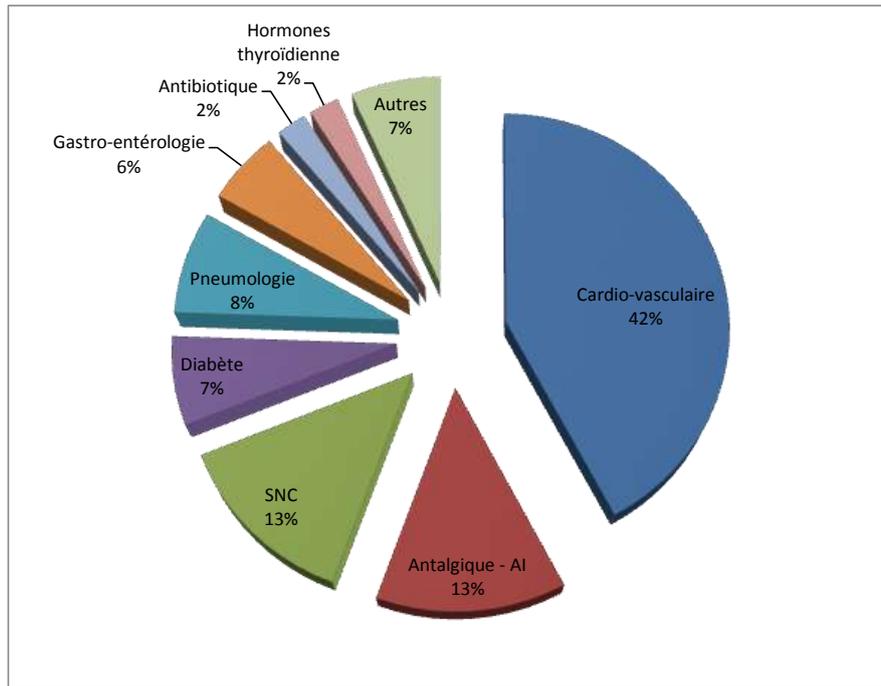


Figure 27 - Représentation des médicaments pris par les patients

Pour les 20 patients sous traitements médicamenteux, 12 d'entre eux prennent au moins un médicament pouvant modifier la fonction rénale (Annexe 4). Les patients les plus vulnérables étant les personnes âgées et les patients présentant une hypovolémie pouvant être induite par des diurétiques, un régime hyposodé, un problème de vomissements ou encore de diarrhées.

Les médicaments pouvant entraîner des troubles rénaux sont représentés par la famille des sartans, des IEC et des AINS.

Cependant, en analysant les résultats, on s'aperçoit que les créatininémies des patients sous traitement aux sartans ou aux IEC sont dans les normes c'est-à-dire entre 20 et 100 $\mu\text{mol/L}$ (fig. 28).

Un seul patient est sous AINS, il présente une créatininémie de 63 $\mu\text{mol/L}$ donc inférieure à 110 $\mu\text{mol/L}$. Ce patient n'a pas été retenu pour la suite de l'étude.

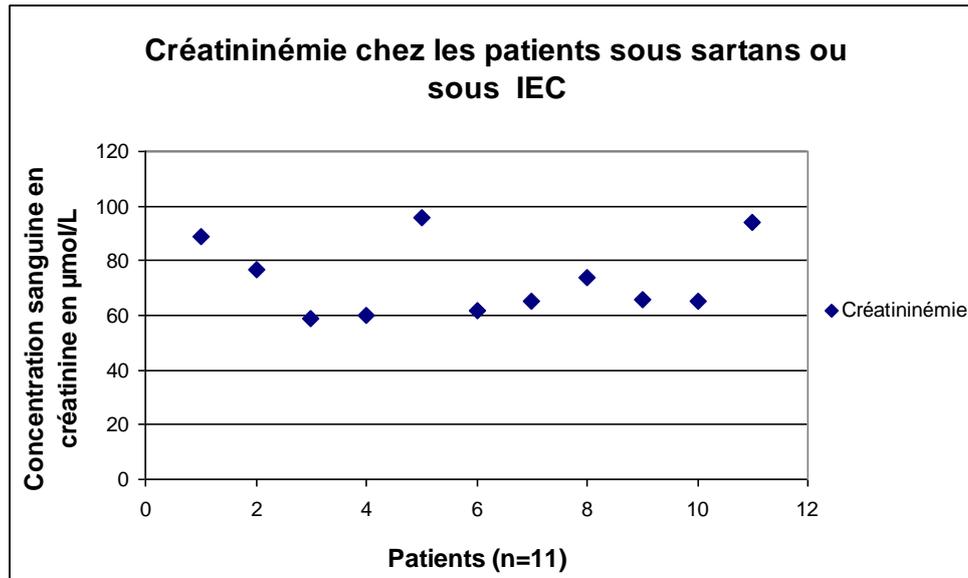


Figure 28 - Créatininémie chez les patients traités par sartans ou IEC

Les patients sous sartans ou IEC avant leur 1^{ère} administration de cisplatine (C1) présentent une créatininémie normale (Annexe 3).

2-4 Prélèvements

2-4-1 Recueil

La collecte des urines a lieu à chaque cure de cisplatine, et 2 séries de prélèvements sont effectuées. La première (J0) avant l'administration du cisplatine, c'est à dire pendant la diurèse forcée qui a lieu la veille de la cure et la deuxième après le traitement (J1).

Les prélèvements sont récoltés dans des flacons de 100mL puis aliquotés dans des tubes de polypropylène de 5 ml.

Une fois centralisées au laboratoire, les urines sont centrifugées et le surnageant est récupéré dans des tubes de polypropylène de 2 mL étiquetés.

2-2-2 Conservation

Les échantillons sont stockés dans des boîtes conservées à - 80°C

3 – Résultats

Sur les 44 patients inclus dans l'étude, seuls les échantillons urinaires de 13 patients ont été analysés dans un premier temps.

Ainsi, tous les patients se présentant pour leur 1^{ère} cure de cisplatine ont été retenus (9 patients). Parmi ces 13 patients, 4 venaient pour une n cure.

Tous les patients pour lesquels on a recueilli un échantillon « J0 » et « J1 » sur une cure sont inclus.

Ces 2 critères de sélection ont été choisis pour permettre d'observer l'évolution de la concentration de la NGAL chez un même patient entre « J0 » et « J1 ». Tous les patients subissant leur 1^{ère} cure de cisplatine ont été retenus pour comparer la concentration en NGAL avant traitement et après administration du cisplatine.

3-1 Description de la population inclus dans l'étude (voir Annexe 5)

Les 13 patients retenus sont représentés par 1 femme et 12 hommes, allant de 37 à 60 ans.

Les pathologies cancéreuses touchent à 69% les voies aéro-digestives supérieures (fig.29).

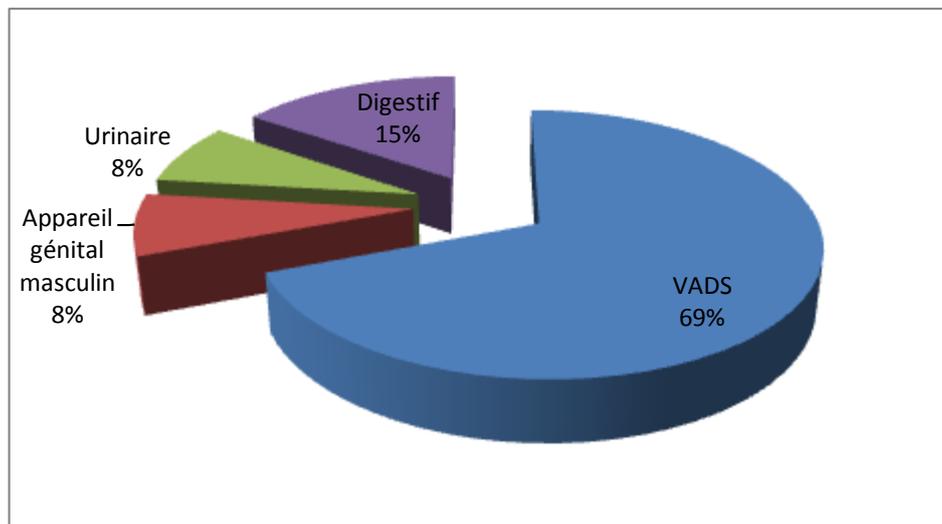


Figure 29 - Localisations des pathologies cancéreuses chez les patients inclus dans l'étude

Après analyse des données pharmacologiques, on constate que 7 de ces patients prennent des médicaments simultanément du traitement par cisplatine. Sur ces 7 patients, seulement 3 sont concernés par la prise de médicaments pouvant provoquer des troubles de la fonction rénale. Cependant, au vue des résultats des dosages de la créatininémie (fig. 28), aucun trouble de leur fonction rénale n'a été détecté chez ces patients.

3-2 Dosage des biomarqueurs urinaires

Les 13 patients retenus pour l'étude nous ont permis de collecter 32 échantillons d'urines (Annexe 6).

3-2-1 La NGAL

La concentration moyenne de NGAL dans les urines d'un patient sain est de 5.3 ng/mL.

Le laboratoire des kits utilisés a établi que la concentration de NGAL dans les urines doit dépasser 250 ng/mL pour indiquer la présence de troubles rénaux. La valeur limite de détection a été estimée à 12 ng/mL et le domaine de mesure est compris entre 25 et 5000 ng/mL.

Par analyse immunoturbidimétrique, nous avons montré que les concentrations de NGAL urinaire étaient comprises entre 1.7 et 138.6 ng/mL, avec une moyenne de 30.3 ± 108.3 ng/mL, regroupant ainsi tous les patients à tous les stades de cures (tableau 5).

N° Dossier	NGAL en ng/mL chez les patients en cure C1		NGAL en ng/mL chez les patients en cure Cn		NGAL en ng/mL chez les patients en cure Cn+1		NGAL en ng/mL chez les patients en cure Cn+2	
	J0	J1	J0	J1	J0	J1	J0	J1
201301511	7.8				18.2			
201301755	28.5							
201207084			12.1		17.3	15.6	29.4	
201301845			17.3	16.4				
201302543	14.7	6.9						
201302772	19	22.5						
201302609	26.8	1.7						
201203700	121.8	133			39.7			
201302561			38.9	25.1	138.6	51.7		

201302565	6.1	14.7			10.4			
201206342			49.1	11.2		6.1		
201303217	10.4	23.3						
201303179	20.8	15.6						

Tableau 5 - Dosage de la NGAL en ng/mL chez des patients sous cisplatine

Sur toutes les valeurs recueillies, 8 sont en dessous de la limite de détection (< à 12 ng/mL). Au vue des valeurs affichées par le laboratoire pour indiquer la présence de troubles rénaux, on peut estimer que nos patients sont dépourvus d'atteinte rénale. La valeur maximale de NGAL ne dépassant pas 138.6 ng/mL.

a - Evolution de la concentration de la NGAL des échantillons à J0

A J0 c'est-à-dire avant l'administration du cisplatine, les patients sont sous diurèse forcée. On constate une augmentation de la concentration de NGAL entre 2 cures pour 4 de nos patients sur 5 (fig.30) pour lesquels nous avons des échantillons à chaque J0 de chaque cure.

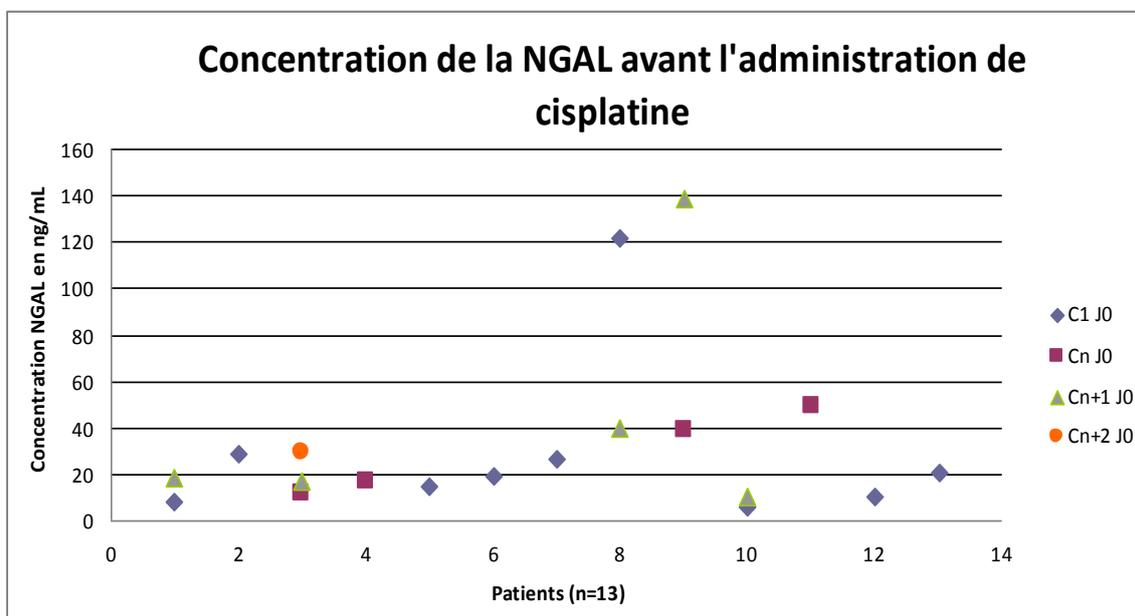


Figure 30 - Concentration de la NGAL dosée chez les patients avant administration de cisplatine à chaque cure

- Patients subissant leur toute 1^{ère} cure -

Sur les 13 patients représentant notre population, 9 viennent pour leur 1^{ère} cure de cisplatine. A J0, leurs concentrations en NGAL varient de 6.1 à 121.8 ng/mL avec une moyenne à 28.5 ± 93.3 ng/mL.

- NGAL chez les patients en Cn -

On remarque que la valeur de la NGAL dosée est supérieure chez les patients subissant leurs n cures, comparée à celle des patients en 1^{ère} cure (fig. 30).

Les concentrations sont comprises entre 12.1 et 49.1 ng/mL avec une moyenne de 29.35 ± 19.75 ng/mL.

b - Evolution de la concentration de la NGAL des échantillons entre les J0 et les J1

J1 représente l'échantillon prélevé après l'administration du cisplatine. A ce stade, les patients sont toujours sous hydratation mais moins importante qu'à J0.

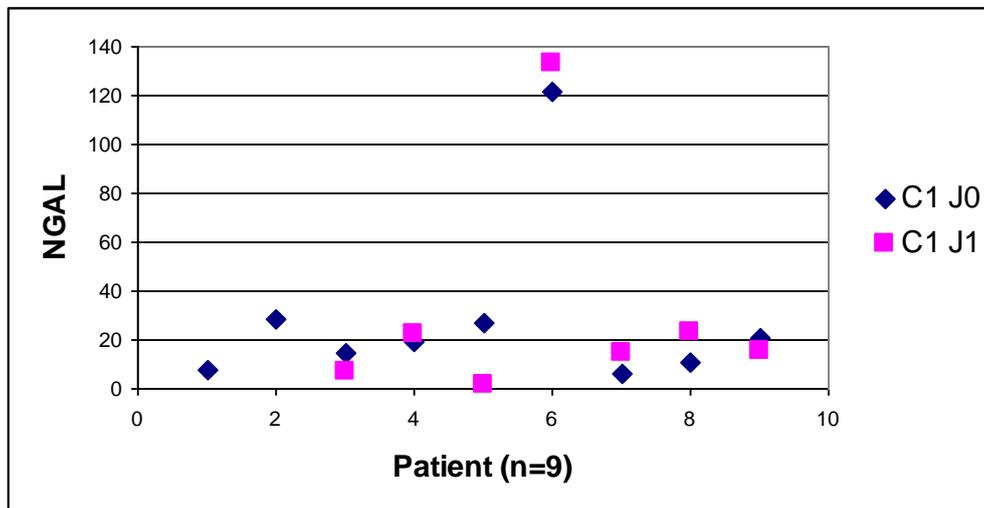


Figure 31 - NGAL en ng/mL à J0 et J1 chez des patients en cure C1

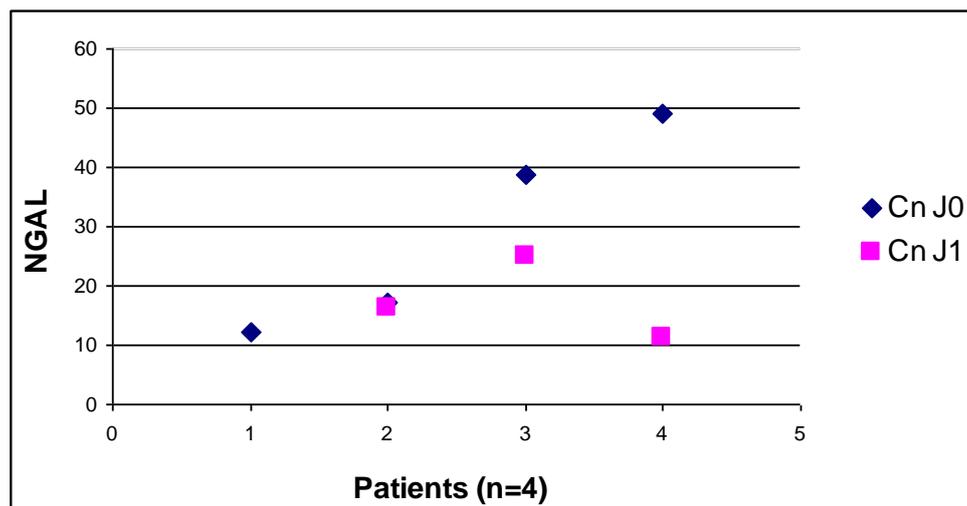


Figure 32 - NGAL en ng/mL à J0 et J1 chez des patients en cure Cn

On observe pas d'augmentation significative entre les valeurs «J0 » et « J1 » qui auraient pu témoigner d'une atteinte rénale aiguë sur 24 h.

3-2-2 La créatininurie³⁵

N° Dossier	Créatininurie chez les patients en cure C1		Créatininurie chez les patients en cure Cn		Créatininurie chez les patients en cure Cn+1		Créatininurie chez les patients en cure Cn+2	
	J0	J1	J0	J1	J0	J1	J0	J1
201301511	15.78				5.34			
201301755	8.07							
201207084			9		5.70	2.57	19.50	
201301845			4.36	8.81				
201302543	11.90	3.75						
201302772	10.38	4.70						
201302609	10.15	4.23						
201203700	6.38	3.76			4.92			
201302561			3.89	4.63	4.56	2.63		
201302565	5.39	1.99			12.75			
201206342			5.96	3.63		1.74		
201303217	2.36	1.72						
201303179	5.14	2.79						

Tableau 6 - Dosage de la créatininurie chez des patients sous cisplatine

Au moment du prélèvement J0, les patients sont sous diurèse forcée, ce qui explique que la créatininurie est en moyenne 2.2 plus importante en J0 qu'en J1 pour les patients venant effectuer leur 1^{ère} cure.

3-3 Analyse des résultats

La moyenne du rapport NGAL/Créatininurie (Annexe 7) à J0 chez les patients subissant leur 1^{ère} cure est de 6.90 ± 12.19 , alors que le même rapport chez les patients en n cure est de 6.53 ± 3.47 (fig.33).

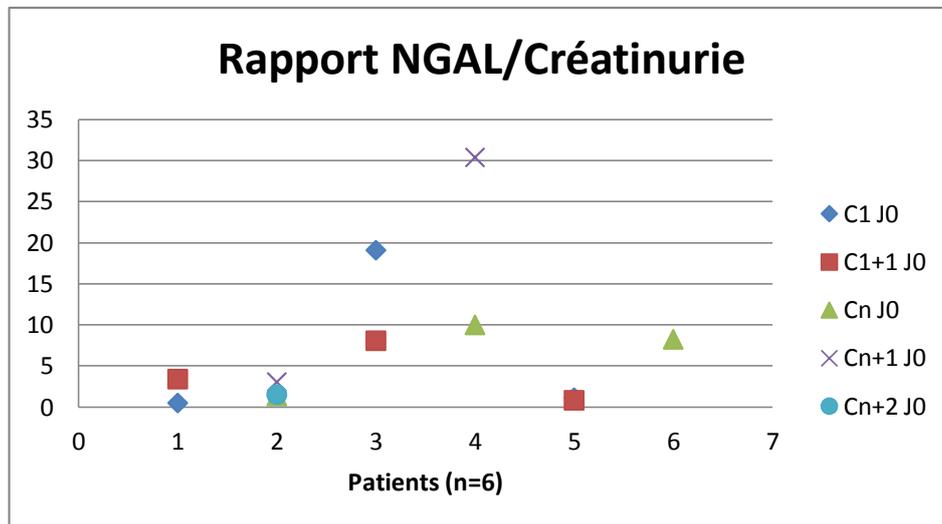


Figure 33 - Rapport NGAL/Créatininurie

4 – Discussion

Cette étude, a été mise en place afin d'évaluer l'utilisation de la NGAL comme marqueur d'atteinte rénale chez des patients traités par cisplatine. Des échantillons urinaires de 44 patients traités par cisplatine ont été recueillis. Seuls les échantillons de 13 patients ont été analysés dans le cadre de cette étude préliminaire. Aucun des 13 patients inclus n'a présenté de signe clinique ou biologique d'atteinte rénale, en privilégiant les cinétiques J0 à J1 quelques soient les cycles de chimiothérapie. Les concentrations de NGAL urinaire sont restées inférieures à 250 ng/mL (tableau 5), valeur seuil permettant de diagnostiquer une atteinte de la fonction rénale, dans tous les échantillons analysés, ce qui est en faveur de l'absence d'atteinte rénale. Les concentrations de NGAL les plus élevées (J0: 121.8 et J1: 133 ng/mL) ont été retrouvées chez le patient le plus âgé de notre étude (74 ans). Il peut être évoqué une susceptibilité accrue de ce patient au traitement ou un terrain sous-jacent. Ainsi la prévalence de l'IRA liée au cisplatine n'a pas pu être vérifiée puisque, sur les 13 patients retenus pour l'étude, aucun n'a présenté d'insuffisance rénale ou de début d'insuffisance rénale.

Le recueil systématique des traitements intercurrents a permis de mettre en évidence la prise de médicaments potentiellement néphrotoxiques chez 12 patients. Les dosages de NGAL urinaire initiaux pour 3 d'entre eux, n'ont montré aucune augmentation significative.

Le critère de faisabilité des dosages urinaires dans ce contexte était un des objectifs de cette étude préliminaire. La diurèse forcée, dont bénéficient tous les patients traités par cisplatine, pouvait théoriquement entraîner une dilution des concentrations de NGAL rendant toute évaluation impossible. Nous avons donc mis en évidence que la NGAL pouvait être quantifiée dans ces urines diluées

8 à 12 h avant l'administration du cisplatine c'est-à-dire à J0, les patients sont mis sous diurèse forcée. Sur tous les échantillons recueillis, seuls 8 présentent des concentrations de NGAL en dessous du seuil de détection établi à 12 ng/mL pour la technique utilisée (tableau 5).

La NGAL est un marqueur dont les concentrations peuvent être augmentées en cas d'infections ou d'agressions de l'organisme. La plupart des patients atteints de cancer, a fortiori à un stade avancé, constitue une population soumis à une inflammation chronique. La présence de médiateurs de l'inflammation peut être responsable d'effets locaux rénaux.

Effectivement les concentrations en NGAL de nos patients sont comprises entre 1.7 et 138.6 ng/mL avec seulement une seule valeur inférieure à 5.3ng/mL qui correspond à la moyenne de la concentration en NGAL chez des patients sains. Il est vraisemblable que les taux de bases des patients atteints de cancer puissent être plus élevés que dans une population saine de référence.

La NGAL est détectable dans les urines 2 à 4h après une atteinte rénale aiguë. Les données recueillies pour l'étude, ne nous précise pas l'heure à laquelle les prélèvements urinaires J1 ont été effectués, par rapport au début de l'injection de cisplatine. De fait, si des prélèvements urinaires ont été réalisés moins de 2 h après l'administration du cisplatine, la présence de NGAL ne saurait être une conséquence de la néphrotoxicité de celui-ci.

Il apparaît que la NGAL peut être utilisée dans ce contexte, cependant les dosages doivent être conduits sur plus de patients et sur plus de cycles de chimiothérapies afin de détecter des augmentations de NGAL urinaire en lien avec la néphrotoxicité rénale du cisplatine.

Pour améliorer le protocole et l'interprétation des résultats, il serait intéressant de connaître les valeurs des diurèses. En effet, ces données n'étant pas maîtrisées, la comparaison des résultats intercycles intrapatiens ou interpatients apparaît complexe. La connaissance de la diurèse permettrait de connaître la quantité réelle de NGAL excrétée par le rein chez ces patients soumis à une diurèse forcée.

Conclusion

La néphrotoxicité du cisplatine est encore trop souvent constatée (28-36%) chez les patients. Actuellement, des mesures préventives sont mises en place, pour limiter cette toxicité rénale. Mais ce n'est pas suffisant, l'idéal étant de pouvoir détecter les atteintes rénales précocement pour que les médecins puissent adapter le traitement et surtout limiter l'incidence et les risques d'une insuffisance rénale aiguë.

La NGAL a donné des résultats positifs et encourageants comme biomarqueur des atteintes de la fonction rénale dans beaucoup de domaines : en chirurgie cardiaque, dans les transplantations rénales, aux services des urgences... La NGAL est un marqueur très prometteur, précoce, sensible, spécifique qui va permettre aux médecins d'adapter le traitement de façon précoce dès que les patients auront une augmentation de la NGAL, ce qui permettrait de diminuer l'incidence et la gravité des insuffisances rénales aiguës.

Ici on a pu montrer que la NGAL urinaire était un biomarqueur pouvant être détecté chez tous les patients même en cas de dilutions importantes des urines.

Les résultats de l'étude mise en place sont encourageants. L'étude devrait être poursuivie en continuant le recrutement des patients.

- LEXIQUE -

1 : Antinéoplasique : médicaments visant à bloquer la mitose, c'est-à-dire la division cellulaire. Ils sont le plus souvent employés en thérapeutique anticancéreuse.

2 : Diurèse : La diurèse est l'élimination urinaire dans son ensemble, c'est le volume d'urine qui est sécrété par les reins, durant une période de temps donné.

3 : Dépression médullaire : Ou dépression de la moelle osseuse ; ralentissement, voire blocage, des fonctions de la moelle osseuse. La dépression de la moelle osseuse peut entraîner des infections, une anémie ou des problèmes de coagulation, étant donné son rôle d'usine pour les globules sanguins.

4 : Cytostatique : Se dit des substances ayant la propriété de bloquer la synthèse, le fonctionnement ou la multiplication cellulaires.

5 : Alkylants : Agents anticancéreux qui agissent en créant des liaisons entre 2 brins d'ADN ou au sein du même brin, ce qui empêche la transcription et la réplication de l'ADN.

6 : Transcription : un processus biologique ubiquitaire qui consiste, au niveau de la cellule, en la copie des régions dites codantes de l'ADN en molécules d'ARN. Ce sont les molécules d'ARN qui sont reconnues par la machinerie de traduction en séquences protéiques.

7 : Réplication de l'ADN : processus au cours duquel l'ADN est synthétisé grâce à l'ADN polymérase. Ce mécanisme permet d'obtenir, à partir d'une molécule d'ADN, deux molécules identiques à la molécule initiale.

8 : ADN- polymérase : complexe enzymatique intervenant dans la réplication de l'ADN au cours du cycle cellulaire, mais aussi dans des processus de réparation et de recombinaison de l'ADN

9 : Apoptose : ou mort cellulaire programmée, processus par lequel des cellules déclenchent leur auto-destruction en réponse à un signal.

10 : ARN-polymérase : enzyme qui synthétise des molécules d'ARN par copie de l'ADN ou par copie de l'ARN.

11 : Mitose : processus de division cellulaire qui permet d'obtenir deux cellules filles identiques à partir d'une cellule mère.

12 : Platine totale : platine ultrafiltrable et platine liés aux protéines plasmatique

13 : Platine ultrafiltrable : platine libre, c'est-à-dire non-liée aux protéines plasmatiques

14 : Filtration glomérulaire : filtration du sang par le glomérule du rein, menant à la formation d'urine primitive. Processus unidirectionnel, passif et non sélectif sous l'effet de la pression glomérulaire.

15 : Sécrétion tubulaire : transport de substances du liquide péritubulaire vers la lumière tubulaire. Il faut rappeler que le liquide péritubulaire est constitué par du sang qui a déjà été filtré au niveau du glomérule où il s'est appauvri en diverses substances de faible poids moléculaire. Processus actif qui nécessite le fonctionnement cellulaire normal pour apporter l'énergie nécessaire.

16 : Clairance : capacité d'un tissu, organe ou organisme à éliminer un fluide (le sang, la lymphe, etc.). La clairance d'une substance est le volume de solution totalement épuré par unité de temps.

17 : Incidence : mesure du risque pour un individu de contracter une pathologie pendant une période donnée. Le *taux d'incidence* est le nombre de nouveaux cas observés dans une population donnée, divisé par la taille de cette population et la durée de la période d'observation.

18 : Exérèse : opération chirurgicale par laquelle on enlève un organe, une tumeur ou un corps étranger inutile ou malade. L'exérèse est pratiquée par un médecin spécialiste ou dans un bloc opératoire, suivant la nature du corps à enlever. Elle est en général accompagnée d'une anesthésie locale ou générale.

19 : Nécrose : forme de dégât cellulaire qui mène à la mort prématurée et non programmée des cellules dans le tissu vivant, arrêt pathologique (anormal, dû à une maladie) du fonctionnement d'une cellule.

20 : Hypokaliémie : concentration plasmatique de potassium inférieure à 3,5 mmol/L. Il s'agit donc d'un désordre hydro-électrolytique pouvant menacer le pronostic vital par la survenue de troubles du rythme cardiaque.

21 : Hypomagnésémie : déficit réel en magnésium, magnésémie normale : 1,7 – 2,3 mg/dl (1,4 – 2,1 mEq/l)

22 : Hyponatrémie : situation pathologique qui se caractérise par un déficit de sodium dans le sang. Elle apparaît lorsque les taux descendent en-deçà de 130 mmol/L. L'hyponatrémie peut alors causer des troubles neurologiques pouvant conduire à la perte de conscience ou au coma dans les cas les plus graves.

23 : Hypocalcémie : état caractérisé par un taux de calcium dans le sang (calcémie) anormalement bas, indépendamment des autres constantes biologiques. La calcémie est basse en dessous de 2,20 mmol/L².

24 : Hypophosphatémie : diminution des phosphates contenus dans le plasma.

25 : Hyperuricémie : Augmentation de l'acide urique dans le sang

26 : Aprépitant : Médicament utilisé contre les nausées provoquées par la chimiothérapie

27 : Anémie : carence de globules rouges ou d'hémoglobine dans le sang. Elle a pour origine différentes pathologies plus ou moins graves.

- Globules rouges : cellules sanguines qui assurent le transport de l'oxygène,
- Hémoglobine : protéine riche en fer qui est le principal constituant des globules rouges.

28 : Leucopénie : ou leucocytopenie, diminution du nombre de leucocytes dans le sang à moins de 4.000 globules blancs par mm² de sang.

29 : Thrombocytopenie : chute du taux de plaquettes sanguines à moins de 150.000 par mm² de sang. En fonction de sa gravité, la thrombopénie peut être le signe de l'aggravation d'une pathologie, au point de mettre en jeu le pronostic vital.

30 : Sidérophores : sont des chélateurs de fer synthétisés et sécrétés notamment par les micro-organismes pour leur permettre de puiser le fer essentiel à leur développement. Ce sont des molécules de faibles poids moléculaires ayant une très forte affinité pour l'ion Fe³⁺. Les sidérophores sont des peptides capables de former des complexes [sidérophores Fe³⁺] qui permettront d'internaliser le fer nécessaire au fonctionnement de la cellule.

31 : Cadherine-E : glycoprotéines qui s'expriment à la surface cellulaire. Elles jouent des rôles importants dans l'adhésion cellulaire ce qui fait qu'elles assurent la liaison intercellulaire au sein des tissus. Leur fonctionnement dépend des ions calcium (Ca²⁺), d'où leur nom.

32 : Lipopolysaccharides : composant essentiel de la membrane externe des bactéries à Gram négatif.

33 : Cytokines : substances solubles de signalisation cellulaire synthétisées par les cellules du système immunitaire (les lymphocytes T) ou par d'autres cellules et/ou tissus, agissant à distance sur d'autres cellules pour en réguler l'activité et la fonction. Ces molécules sont essentielles à la communication de nos cellules.

34 : Absorbance : l'absorbance mesure la capacité d'un milieu à absorber la lumière qui le traverse

35 : Créatinurie : Créatinine urinaire

- Bibliographie -

- Alderden R., Hall M.D., Hambley T.W. 2006.
The discovery and development of cisplatin.
Journal of chemical Education. Vol. 83, 5 May 2006
- Andrieu J.M., Colonna P. 1997.
Cancers : évaluation, traitement et surveillance.
Ed. ESTEM, Paris 1997
- ANSM. Résumé des caractéristiques du produit.
- Ariarajah N., Gerstel E., Ponte B., Martin P-Y. 2011
Biomarqueurs de l'insuffisance rénale aiguë.
Revue Medicale Suisse ; 7 : 490-494
- Bangert K., Heslet L., Ghiglione M., Uttenthal LO. 2006
NGAL is a significantly increased in urine and plasma in acute renal failure.
Intensive Care Med 32 (Suppl 1) : S10
- Belot A., Grosclaude P., Bossard N., Jouglà E., Benhamou E., Delafosse P., et al. 2005.
Estimation de l'incidence et de la mortalité par cancer en France de 1980 à 2005. In VS
- Bennett M., Dent CL., MA Q., Dastrala S., Grenier F., Workman R., Syed H., Ali S., Barasch J., Devarajan P. 2008
Urine NGAL predicts severity of acute kidney injury after cardiac surgery : a prospective study.
Clinical journal of the American Society of Nephrology. 2008 May; 3: 665-73
- Boisdron-Celle M., Lebouil A., Allain P., Gamelin G. 2001.
Pharmacocinétique clinique comparative des dérivés du platine.
Bulletin du cancer. Volume 88, 14-9. Numéro spécial, Aout 2001.
- Carillo-Esper R., Castillo-Albaran FM., Perez-Jauregui J. 2011
Neutrophil gelatinase-associated lipocalin): a novel biomarker in acute kidney injury.
Cirugia y cirujanos. 2011 Nov-Dec; 79 (6) : 577-81
- De La Motte Rouge T., Pautier P., Hamy A.S., Duvillard P., Bruna A. et al. 2006.
Traitement médical des cancers du col utérin métastatiques ou récidivants.
Bulletin du cancer. Volume 93. Numéro 3, 263-70. Mars 2006.
- Devarajan P. 2010
NGAL: Neutrophil Gelatinase Associated Lipocalin : « La troponine du rein ».
Nephrology (Carlton). 2010 Jun ; 15 : 419-28
- Dhooge I., Dhooge C., Geukens S., De Clerck B., De Vel E., Vinck M. 2006

Distortion product otoacoustic emissions : An objective technique for the screening of hearing loss in children treated with platin derivatives.
International journal of audiology; jun 2006; 45: 337-43

Eastman^b A. 1995.
The discovery and development of cisplatin

Eastman^a A. 1999.
The mechanism of action of cisplatin: From adducts to apoptosis.
In: Lippert B, editor. Cisplatin: Chemistry and Biochemistry of a Leading Anticancer Drug. 111–135.

Ekborn A., Laurell G., Anderson A., Wallin I., Eksborg S., Ehrsson H. 2000.
Cisplatin-induced hearing loss: influence of the mode of drug administration in the guinea pig
140 (1-2): 38-44

Endre ZH., Pickering JW., Walker RJ., Devarajan P., Edelstein CL., Bonveentre JV., et al. 2011
Improved performance of urinary biomarkers of acute kidney injury in the critically ill by stratification for injury duration and baseline renal function.
Kidney International. 2011; 79: 1119-30

Everaert K., Delanghe J., Vande Wiele C., Hoebeke P., Dierckx R.A., Clarysse B., Lameire N., Oosterlinck W. 1998.
Urinary α 1-microglobulin detects uropathy. A prospective study in 483 urological patient.
Clinical chemistry and laboratory medicine. Volume 36; 3615 : 309-315

Flower DR. 1996.
The lipocalin protein family : structure and function
The Biochemical journal, 1996 August. 15; 318, 1-14

Fourcade M. 2009.
Dosage urinaire de la NGAL. Un test de détection très précoce de l'insuffisance rénale aiguë.
Le quotidien du médecin. Paris, 22 juin 2009.

Gagneux-Brunon A., Delanaye P., Legrand D., Cavalier E., Mariat C. 2012.
NGAL, biomarker of acute kidney injury in 2012.
Néphrologie et thérapeutique. Décembre (2012); 8 (7): 508-15

Gamelin E., Allain P., Maillart P., Turcant A., Delva R., Lortholary A., Larra F. 1995.
Long-term pharmacokinetics behaviour of platinum after cisplatin administration.
Cancer chemotherapy and pharmacology. 1995; 37 (1-2): 97-102

Goetz D.H., Holmes M.A., Borregaard N., Bluhm M.E., Raymond K.N., Strong R.H. 2002.
The neutrophil lipocalin NGAL is a bacteriostatic agent that interferes with siderophore-mediated iron acquisition.
Molecular cellular, November 2002; 10(5): 1033-43

Gueguen Y., Rouas C. et Leblond F. 2012.
Kidney injury biomarkers.

Néphrologie et thérapeutique. Juin 2012, 8 (3); 146-55

Hamouche EM. 2012

Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL): A review.
Immuno-analyse et biologie spécialisée (2012) 27; 149-152.

Hanai J., Mammoto T., Seth P., Mori K., KARumanchi S.A., Barash J. et al. 2005.

Lipocalin 2 diminishes invasiveness and metastasis of Ras-transformed cells.
The Journal of biological chemistry, 8 April 2005; 280 (14): 13641-7

Haase M., Bellomo R., Devarajan P. et al. 2009

Accuracy of neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) in diagnosis and prognosis in acute kidney injury : A system review and meta-analysis.
American journal of kidney diseases. December 2009; Volume 54; issue 6: 1012-1024

Hill JM., Loeb E., MacLellan A., Hill NO., Khan A., King JJ. 1975.

Clinical studies of platinum coordination compounds in the treatment of various malignant diseases.
Cancer Chemother Rep. May-Jun; 647-59

Heudi O., Cailleux A., Allain P. 1998.

Kinetic studies of the reactivity between cisplatin and its monoquo species with L-méthionine.
Journal of Inorganic Biochemistry ; Volume 71 : 61-9

Institut national du cancer, 2012.

Référentiels du bon usage hors GHS, Cancers gynécologiques.

John G.T., Fleming J.J., Talaulikar G.S., Selvakuman R., Thomas P.P. 2003.

Measurement of renal function in kidney donors using serum cystatin C and β 2-microglobulin.
Annals of Clinical Biochemistry 2003; 40 : 656-658

Journois D., 2007

Conséquence de la défaillance rénale sur le devenir des patients.
Congrès national d'anesthésie et de réanimation 2007, Congrès d'actualisation ; 173-190

Jouzani E., Deggouj N., Gersdorff M. et Ninane J. 1999.

Ototoxicité du cisplatine chez l'enfant traité pour affection oncologique.

Kjeldsen L., Johnsen AH., Sengelov H., Borregaard N. 1993.

Isolation and primary structure of NGAL, a novel protein associated with human neutrophil gelatinase.
The journal of biological chemistry. 15 May 1993; 268 (14): 10425-32

Lajer H., Daugaard G. 1999

Cisplatin and hypomagnesemia.
Cancer treatment reviews, February 1999; 25(1): 47-58

Lalanne A., Beaudoux J-L., Bernard M-A. 2011

NGAL : a biomarker of acute and chronic renal dysfunction.
Annales de biologie Clinique. Volume 69. Number 6, 629-36

Landi B., Lecomte T. 2004.
Chemotherapy in esophageal cancer.

Lebret T., Méjean A. 2008.
Les métastases des cancers urothéliaux : place de la chimiothérapie.
Progrès en urologie. Volume 18, supplément 7, November 2008 ; 261-276

Lepre CA., Lippard SJ. 1990
Interaction of platinum antitumor compounds with DNA.
Nucleic acids and molecular biology, Volume 4; 9-38

Les traitements des cancers du poumon, Avril 2010.
Institut national du cancer.

McIlroy^a DR., Wagener G., Lee HT., 2010
Neutrophil gelatinase-associated lipocalin and acute kidney injury after cardiac surgery: the effect of baseline renal function on diagnostic performance.
Clinical journal of the American Society of Nephrology. February 2010; 5 (2): 211-9

McIlroy^b DR., Wagener G., Lee HT., 2010
Biomarkers of acute kidney injury.
Anesthesiology. April 2010; 112 (4): 998-1004

Manaka R., Wolf W. 1978.
Distribution of cis-platin in blood.
Chemico-Biological Interactions. September 1978; Volume 22 : 353-358

Miller RP., Tadagavadi RK., Ramesh G., Reeves WB. 2010
Mechanism of Cisplatin Nephrotoxicity.
Toxins 2010; 2 (11): 2490-2518

Momburg R., Bourdeaux M., Sarrazin M., Roux F., Briand C. 1985.
In vitro plasma binding of some second generation antitumor platinum complexes.
European journal of drug metabolism Pharmacokinetics. January-March 1985; Volume 10 : 77-83.

Natale D., Mareque-Rivas J.C. 2008.
The combination of transition metal ions and hydrogen-bonding interaction.
Chem. Commun, 425-437

Nickolas TL., O'Rourke MJ., Yang J., Sise ME., Canetta PA., Barash N., et al. 2008
Sensitivity and specificity of a single emergency department measurement of urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin for diagnosing acute kidney injury.
Annals of internal medicine. Jun 2008; 148 (11): 810-9

Nielsen B.S., Borregaard N., Bundgaard J.R., Timshel S., Sehested M., Fjeldsen L. 1996.
Induction of NGAL synthesis in epithelial cells of human colorectal neoplasia and
inflammatory bowel disease.
Gut. March 1996; 38 (3): 414-20

Nuhrich A. 2008.
Médicaments anti-tumoraux dérivés du platine

Paragas N., Qiu A., Zhang Q., Samstein B., Deng S-G., Schmidt-Ott KM., et al. 2011
The Ngal reporter mouse detects the response of the kidney to injury in real time.
Nature medicine. February 2011; 17 (2): 216-22

Product Monograph, 2011
Cisplatin Injection BP – Accord Healthcare Inc Canada

Purdue MP, Devesa SS, Sigurdson AJ, McGlynn KA. 2005.
International patterns and trends in testis cancer incidence.
International journal of Cancer. July 2005; 115(5): 822-7

Reece P.A., Stafford I., Russel J., Gill P.G. 1986.
Reduced ability to clear ultrafiltrable platinum with repeated courses of cisplatin.
Journal clinical of oncology. 1986 ; 4 :1392-8

Réseau Francim. 2007.
Survie des patients atteints de cancer en France, étude des registres de cancers du réseau
Francim. Paris Springer-Verlag

Rimmelé T., Fichet J. 2013
NGAL et insuffisance rénale aiguë.
Annales françaises d'anesthésie et de réanimation ; 31 : 5-7

Rosenberg^a B., Camp LV., Krigas T. 1965.
Inhibition of cell division of Escherichia coli by electrolysis products from platinum
electrode.
Nature; 205: 698-699

Rosenberg^b B., Van Camp L., Trosko J. E., Mansour V. H. 1969
Platinum compounds : a new class of potent antitumor agents.
Nature; 222 : 385–387

Singer E., Elger A., Elitok S., Kettritz R., Nickolas TL. et Barash J. 2011.
Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin distinguishes pre-renal from intrinsic renal
failure and predicts outcomes
Kidney international. August 2011; 80 (4): 405-14

Tosetti F., Rocco M., Fulco R.A., Chiara S., Bruzzone M., Campora E. et al. 1988.
Serial determination of platinum, protein content and free sulfhydryl levels in plasma of
patients treated with cisplatin or carboplatin.
Anticancer Research. May-Jun 1988; 8 (3): 381-6

Urien S., Lokiec F. 2004

Population pharmacokinetics of total and unbound plasma cisplatin in adult patient.
British journal of clinical pharmacology, 1365-2125, 2004

Vermoken J.B., Van der Vijgh W.J.F., Klein I., Gall H.E., Groeningen C.J., Hart A.A.M. et al. 1986.

Pharmacokinetics of free and total platinum species after rapid and prolonged infusions of cisplatin.

Clinical pharmacology and therapeutics. February 1986; 39 (2): 136-44

Viau A., El Karoui K., Laouari D., et al. 2010

Lipocalin 2 is essential for chronic kidney disease progression in mice and humans.

The Journal of Clinical Investigation, volume 120, N°11, 4065-4076, Octobre 2010

Yao X., Panichpisal K., Kurtzman N., Nugent K. 2007

Cisplatin Nephrotoxicity: A Review.

The American journal of the Medical Sciences. August 2007, volume 334, numéro 2

Zwelling L.A., Kolm K.W. 1979.

Mechanism of action of cis-dichlorodiamino-platinum (II)

Cancer treatment repertory. 1979; 63: 1439-44

ANNEXE -1-

Nouveaux cas, rang d'incidence et décès causés par des cancers en France en 2012 en fonction de leur localisation.

Données extraites de « *l'Estimation Nationale de l'incidence et de la mortalité par cancer en France* » publié en juillet 2013,

LOCALISATION	RANG D'INCIDENCE	NOMBRE DE NOUVEAUX CAS EN 2012	NOMBRE DE DECES EN 2012
VADS*	8 ^{ème}	11316	3192
Œsophage	15 ^{ème}	4632	3444
Estomac	13 ^{ème}	6556	4411
Colon-rectum	3 ^{ème}	42152	17722
Foie	10 ^{ème}	8723	NR**
Pancréas	6 ^{ème}	11662	NR**
Larynx	17 ^{ème}	3322	906
Poumon	4 ^{ème}	39495	29949
Mélanome de la peau	9 ^{ème}	11176	1672
Sein	2 ^{ème}	48763	11886
Col de l'utérus	18 ^{ème}	3028	1102
Corps de l'utérus	12 ^{ème}	7275	2025
Ovaire	16 ^{ème}	4615	3140
Prostate	1 ^{er}	53465	8950
Testicule	19 ^{ème}	2317	85
Vessie	5 ^{ème}	11965	4772
Rein	7 ^{ème}	11573	3957
Système nerveux central	14 ^{ème}	4999	3052
Thyroïde	11 ^{ème}	8211	375

* : Voies aéro-digestives supérieures : lèvres, bouche, pharynx

** : Non Renseigné

ANNEXE - 2 -

Dose de platine au cours des cures

Patient	N° Cure	C1 dose Pt mg	Cn dose Pt mg	Cn+1 dose Pt mg	Cn+2 dose Pt mg
1	4/6		614	769	924
2	3/3		600		
3	3/3		600		
4	2/3		400		
5	2/3		247,6	371,4	
6	3/3		433,5	627,5	
7	3/3		509		
8	5/6		670		
9	3/3		545		
10	2/3		402		
11	1/3	184,0		544	
12	2/4		200,6	368,6	569,8
13	5/6		676,2	794,6	
14	3/3		344,4	649,4	
15	2/3		222,8	406,2	
16	4/6		526,4	665,2	
17	2/3		240,1	358,6	
18	3/3		523		
19	2/3		367		
20	2/3		345		
21	1/3	173,0			
22	4/6		555,8	555,8	693,1
23	3/6		280,5		
24	1/4	103,5			
25	3/4		294		
26	1/3	156,8			
27	2/6		354		
28	1/3	140,3			
29	1/3	151,5		302,3	
30	1/1	702,0		876	
31	2/6		308	616	
32	1/3	153,0		309	
33	1/3	102,5			
34	2/4		264,8	396,8	
35	1/6		120,4	244,3	
36	3/3		591		
37	3/3		536		
38	3/3		418,6		
39	5/6		556,4	683,7	

40	1/3	155,0			
41	1/3	692,5			
42	2/6		365		
43	1/3	150,0			
44	1/3	132,0			

ANNEXE - 3 -

Créatininémie en $\mu\text{mol/L}$ des patients au cours des cures de cisplatine

Patient	N° Cure	C1	Cn	Cn+1	Cn+2
1	4/6		86	89	78
2	3/3		65		
3	3/3		105		
4	2/3		79		
5	2/3		63	62	
6	3/3		65	54	
7	3/3		67		
8	5/6		56		
9	3/3		50		
10	2/3		76		
11	1/3	75		70	
12	2/4		62	47	47
13	5/6		83	77	
14	3/3		76	76	
15	2/3		81	87	
16	4/6		81	81	
17	2/3		63	59	
18	3/3		91		
19	2/3		83		
20	2/3		64		
21	1/3	46			
22	4/6		90	90	90
23	3/6		103		
24	1/4	62			
25	3/4		69		
26	1/3	72			
27	2/6		51		
28	1/3	83			
29	1/3	81		81	
30	1/1	100		100	
31	2/6		76	77	
32	1/3	60		54	
33	1/3	59			
34	2/4		76	78	
35	1/6		60	62	
36	3/3		77		
37	3/3		53		
38	3/3		66		
39	5/6		42	45	

40	1/3	50			
41	1/3	82			
42	2/6		50		
43	1/3	48			
44	1/3	37			

En bleu : patients sous sartans

ANNEXE - 4 -

Liste des médicaments pris par les patients subissant une cure de chimiothérapie à base de cisplatine.

PATIENT	MÉDICAMENTS	NOMBRE DE MÉDICAMENTS
201301001	SKENAN, DOLIPRANE, SERESTA 50, TERCIAN, THERALENE, NOCTAMIDE, GLUCOPHAGE, TAHOR, KARDEGIC, PLAVIX, INEXIUM	11
201300973	APROVEL , EUPANTOL, CRESTOR, ZYLORIC	4
201301342	CARDENSIEL, LASILIX 40, COVERSYL , TAHOR 80	4
201301594	LEVOTHYROX, OLMETEC , SOLUPRED	3
201301050	TEGRETOL, DUROGESIC 25, OXYNORMORO 5	3
201301637	KARDEGIC 75, ISOPTINE, COVERSYL , LESCOL, SPIRIVA, QVAR, VENTOLINE	7
201301791	SPIRIVA, INNOVAIR	2
201301755	EFFERALGAN	1
201301845	SERESTA 50, LOXEN 20, ACEBUTOLOL, ALTEIS , KARDEGIC 75, CURACNE	6
201302543	INSULINE, METFORMINE, CO-APROVEL , PARIET, KARDEGIC	5
201302772	KARDEGIC 75, RAMPRIL 5 , ACEBUTOLOL 200, COZAAR 50 , SERESTA 10, TRANXENE 5, LAROXYL, EFFERALGAN CODEINE, INIPOMP 40, ELUDRIL, AUGMENTIN	12
200906684	SIMVASTATINE, BISOPROLOL, COZAAR 100 , PLAVIX 75, METFORMINE, BUFLOMEDIL	6
201302609	SYMBICORT, VENTOLINE	2
201302357	PREVISCAN, FLECAINE, CRESTOR, EFFERALGAN CODEINE	4
201302561	STAGID, KARDEGIC, VASTEN	3
201302565	LEVOTHYROX 75, CALCIDOSE 500, ZINNAT 250, PARACETAMOL,	4
201303008	HEMIDAONIL, ZOXAN,	2
201303041	OXYCONTIN 30, OXYNORM 5, LYRICA 150, PARACETAMOL, INEXIUM, TRANSIPEG, LOSARTAN , TETRAZEPAM, PAROXETINE 20, DIFFU-K	10
201301731	APROVEL , LIPANTHYL	2
199903208	KARDEGIC	1

En **rouge**, les médicaments néphrotoxiques appartenant à la famille des sartans et des IEC (inhibiteurs de l'enzyme de conversion).

ANNEXE - 5 -

Caractéristiques cliniques des patients inclus dans l'étude

N° Dossier	Sexe	Age	Poids en kg	N° Cure	Localisation du cancer	Nombre de médicaments
201301511	M	54	67	1/3	VADS - Oropharynx	0
201301755	M	54	67	1/3	VADS - Hypopharynx	1
201207084	M	59	67	4/6	VADS - Sinus piriforme	0
201301845	M	47	77	3/6	Digestif - Oesophage	6
201302543	M	57		1/4	Digestif - Estomac	5
201302772	M	56		1/3	VADS - Larynx	12
201302609	M	37		1/3	VADS - Sinus de la face	2
201203700	M	74		1/1	VADS - Larynx	0
201302561	M	60	111	2/6	Urinaire - Vessie	3
201302565	M	48	52	1/3	VADS - Larynx	4
201206342	M	56	64	5/6	Génital masculin - Verge	0
201303217	F	51	50	1/3	VADS - Gencive	0
201303179	M	52	63	1/3	VADS - Larynx	0

ANNEXE - 6 -

Tableau récapitulatif de la collecte des échantillons

N° DOSSIER	C1		CN		CN+1		CN+2	
	J0	J1	J0	J1	J0	J1	J0	J1
201301511	Oui				oui			
201301755	Oui							
201207084			oui		oui	oui	oui	
201301845			oui	oui				
201302543	Oui	oui						
201302772	Oui	oui						
201302609	Oui	oui						
201203700	Oui	oui			oui			
201302561			oui	oui	oui	oui		
201302565	Oui	oui			oui			
201206342			oui	oui		oui		
201303217	Oui	oui						
201303179	Oui	oui						

C1 : correspond à une toute première cure de cisplatine

Cn : correspond à une n cure

Cn+1 : correspond à une 2^{ème} cure ou à une cure suivante

J0 : échantillon prélevé la veille de l'administration de la cure de cisplatine chez des patients en diurèse forcée

J1 : échantillon prélevé après l'administration de la cure de cisplatine

ANNEXE - 7 -

N° Dossier	Cures et Prélèvements		NGAL en ng/mL	Créatinurie	NGAL/Créatinurie
201301511	C1	J0	7.8	15.78	0.49
		J1			
	C1+1	J0	18.2	5.34	3.40
		J1			
201301755	C1	J0	28.5	8.07	3.53
		J1			
201207084	Cn	J0	12.1	9	1.34
		J1			
	Cn+1	J0	17.3	5.70	3.04
		J1	15.6	2.57	6.07
	Cn+2	J0	29.4	19.50	1.51
		J1			
201301845	Cn	J0	17.3	4.36	3.97
		J1	16.4	8.81	1.86
201302543	C1	J0	14.7	11.90	1.24
		J1	6.9	3.75	1.84
201302772	C1	J0	19	10.38	1.83
		J1	22.5	4.70	4.78
201302609	C1	J0	26.8	10.15	2.64
		J1	1.7	4.23	0.40
201203700	C1	J0	121.8	6.38	19.09
		J1	133	3.76	35.37
	C1+1	J0	39.7	4.92	8.07
		J1			
201302561	Cn	J0	38.9	3.89	10.00
		J1	25.1	4.63	5.42
	Cn+1	J0	138.6	4.56	30.39
		J1	51.7	2.63	19.66
201302565	C1	J0	6.1	5.39	1.13
		J1	14.7	1.99	7.39
	C1+1	J0	10.4	12.75	0.82
		J1			
201206342	Cn	J0	49.1	5.96	8.24
		J1	11.2	3.63	3.09
	Cn+1	J0			
		J1	6.1	1.74	3.51
201303217	C1	J0	10.4	2.36	4.41
		J1	23.3	1.72	13.55
201303179	C1	J0	20.8	5.14	4.05
		J1	15.6	2.79	5.59

COSSADE Sabine, Valérie, Noëlle

**Titre : EVALUATION DE LA NGAL COMME BIOMARQUEUR
D'ATTEINTE RÉNALE CHEZ DES PATIENTS TRAITÉS
PAR CISPLATINE**

RÉSUMÉ :

Le cisplatine est un agent chimiothérapeutique puissant utilisé dans le traitement des tumeurs solides résistantes. Actuellement, il fait partie des agents le plus couramment utilisés dans les chimiothérapies cancéreuses. Son efficacité et son administration sont limitées par sa néphrotoxicité, constatée chez 28 à 36 % des patients sous cisplatine.

La NGAL est un marqueur d'intérêt dans la détection d'une atteinte rénale aiguë, puisque son augmentation est très précoce, précédant d'environ 48 heures celle de la créatininémie, marqueur classique d'apparition d'une altération des fonctions rénales.

Pour évaluer l'intérêt de ce marqueur dans la détection précoce d'une IR chez des patients traités par cisplatine, nous avons réalisé une collection d'échantillons urinaires chez 44 patients pris en charge au Centre René Gauducheau (CRLCC). Ces échantillons urinaires étaient prélevés avant et après cure pendant la diurèse forcée sur un premier ou « n » ème cycle de chimiothérapie.

Pour l'étude de faisabilité, une sélection d'échantillons provenant de 13 patients a été analysée par immunoturbidimétrie sur cobas8000 par le kit ST001CA. Malgré l'hyperhydratation, la NGAL est quantifiable dans 75% des 32 échantillons analysés. Il semble que les niveaux de NGAL de base des patients soient plus élevés que pour une population saine de référence. Aucun des patients analysés, n'a présenté d'augmentation de la créatininémie en intra ou intercure. L'effectif trop faible n'a donc pas permis de tester l'hypothèse d'une augmentation précoce de la NGAL dans l'IRA induite par le cisplatine. L'étude devrait être poursuivie en continuant le recrutement et en relevant systématiquement les volumes de la diurèse ce qui facilitera l'interprétation des résultats de NGAL urinaire.

MOTS-CLÉS :

NGAL – CISPLATINE – INSUFFISANCE RÉNALE

JURY

Président : M. Jean-Marie BARD, Professeur de Biochimie
UFR de Pharmacie de Nantes

Assesseurs : Mme Kalyane BACH-NGOHOU, Maître de conférence et praticien hospitalier
en Biochimie
UFR de Médecine de Nantes et Service de Biochimie, CHU Nantes

M. Thomas DEJOIE, Praticien Hospitalier en Biochimie
UFR de Pharmacie de Nantes et Service d Biochimie, CHU Nantes (Directeur
de thèse)

Adresse de l'auteur : 44420 LA TURBALLE