

Pharmacologie

Marqueurs pharmacologiques prédictifs de la neutropénie chimioinduite par le cisplatine (CDDP)

par Guillaume Gory-Delabaere^{1,2}, Didier Cupissol^{1,2}, Janine Brès¹, Fabrice Gau^{1,2}, Bénédicte Constans^{1,2} & Janine Nouguier-Soulé³

¹ EA 697 Pharmacocinétique et Pharmacotoxicologie Oncologiques Expérimentales et Cliniques, Faculté de Pharmacie, 34060 Montpellier Cedex 2.

² INSERM, CRLC Val d'Aurelle, 34298 Montpellier Cedex 5.

³ UMR 9921, UMI, MONTPELLIER, 34060 Montpellier Cedex 2.

Reçu le 28 septembre 1998

RÉSUMÉ

Le but de notre étude est de montrer l'intérêt du dosage du platine plasmatique, salivaire et intralymphocytaire pour prédire une toxicité hématologique de grade 4 au cours du même cycle de chimiothérapie. Le CDDP a été administré en perfusion de 2 heures à la dose standard de 100 mg/m². Des prélèvements sanguins ont été effectués, d'une part, chez quatorze patients pour l'évaluation du platine total plasmatique et du platine lié à l'ADN lymphocytaires (adduits) et, d'autre part, chez 3 autres patients pour l'évaluation des concentrations salivaires. Les concentrations au Cmax et 1 heure après la fin de perfusion, sont significativement plus élevées pour les cycles au cours desquels une neutropénie de grade 4 est appa-

rue (10 cycles sur 19) (respectivement 2,60 vs 2,05 et 2,55 vs 2,00 mg/l $p < 0,05$). Les adduits de platine lymphocytaires sont inférieurs à la limite de détection de la méthode de dosage utilisée, l'ICPMS. Des concentrations significatives en platine ont été évaluées dans la salive (0,050-0,080 mg/l) représentant 2 à 3 % des concentrations plasmatiques en platine total aux mêmes temps. Il faudra cependant démontrer la stabilité du rapport salive/plasma avant de proposer la substitution du dosage plasmatique par le dosage salivaire sur un plus grand échantillon de patients. L'ajustement de posologie à partir d'un dosage salivaire présenterait l'avantage d'être moins contraignant pour le patient et plus facile d'accès.

INTRODUCTION

Le cisplatine (CDDP) est un agent anticancéreux connu et utilisé en oncologie depuis de nombreuses années. Le CDDP est particulièrement actif, en association avec d'autres agents anticancéreux, dans de nombreuses localisations tumorales (cancer des voies aéro-digestives supérieures, cancer du poumon, cancer de l'ovaire, cancer du testicule). Cet agent cytotoxique, comme tous les agents anticancéreux, entraîne des effets secondaires aux doses utilisées en clinique. Plus particulièrement, le CDDP induit des effets indésirables immédiats au niveau digestif (nausées, vomissements) et des effets à moyen terme, rénaux et hématologiques (neutropénie, anémie, thrombopénie) (9).

Le but du clinicien est de respecter la dose intensité et d'obtenir le maximum de cytotoxicité sur les cellules

cancéreuses et le minimum sur les cellules saines de l'organisme. Les traitements préventifs et curatifs utilisés pour traiter ces effets secondaires ont une efficacité variable. La néphrotoxicité est moins fréquemment observée depuis l'utilisation systématique d'une hyperhydratation préventive. Une nouvelle classe d'antiémétiques, les sétrons a permis également de prévenir et de traiter les effets secondaires digestifs. La toxicité hématologique induite est relativement fréquente puisqu'elle apparaît chez environ 30 % des patients traités et concerne les trois lignées médullaires (9). Les facteurs de croissance hématopoïétiques — FCH —, permettent d'accélérer la récupération hématologique et plus particulièrement d'augmenter le pourcentage de polynucléaires neutrophiles (PNN). Ceci présente un intérêt majeur dans la mesure où la neutropénie expose les malades à un risque infectieux, ayant pour conséquence une hospitalisation fréquente et un retard dans l'admi-

nistration des cures entraînant une diminution de la dose intensité. Une tolérance hématologique médiocre peut ainsi influencer de façon négative la réponse au traitement par le retard pris dans la réalisation des cures de chimiothérapie et/ou la réduction de doses (4, 11).

Il serait intéressant de disposer, au cours des premiers jours d'un cycle de chimiothérapie, de marqueurs pharmacologiques pour évaluer avec une bonne sensibilité, la probabilité d'une neutropénie survenant au cours du même cycle. Cet événement pourrait également être un facteur de prédiction de l'utilisation des FCH qui ne seraient prescrits qu'aux patients qui en auraient réellement besoin. Jusqu'à présent, les travaux de la littérature visaient à établir une relation entre les paramètres pharmacocinétiques [Cmax, AUC] et la neutropénie (12). Les corrélations sont dans l'ensemble difficiles à obtenir, de nombreux facteurs étant impliqués comme l'élimination du platine. Le CDDP est essentiellement éliminé par voie rénale et une dysfonction rénale peut entraîner une augmentation du temps de circulation du médicament dans l'organisme (18) et par suite, le temps de contact avec les cellules sanguines. D'autres facteurs, non pharmacologiques, ont été étudiés pour apprécier le risque de neutropénie. Ils sont liés au patient (âge, état de dénutrition ou état général) ou hématologiques (présence d'une lymphopénie au 5^e jour) (3, 8). Ainsi, il paraît important d'avoir des paramètres prédictifs obtenus à partir d'un milieu biologique facile d'accès, dans les milieux où les cellules sont en contact direct avec le platine, paramètres reflétant le mieux possible l'activité cytotoxique de ce dernier. Nous avons choisi d'évaluer les quantités de platine dans les lymphocytes. La détermination du platine lié à l'ADN lymphocytaire, constituant ce que l'on appelle les adduits, peut être considérée comme la meilleure approche, la cytotoxicité du CDDP résultant de son interaction avec l'ADN (13, 14, 21, 22). Le dosage en milieu biologique comme le plasma a été largement décrit (5, 6, 10, 15, 30) alors que peu de travaux se sont intéressés à la fraction diffusant dans la salive. Pourtant, il apparaît intéressant de mesurer la concentration salivaire des médicaments anticancéreux dans la mesure où cette méthodologie offre l'avantage d'être peu contraignante pour le patient. De plus, la concentration salivaire est théoriquement le

reflet exact de la fraction libre plasmatique (17, 20, 26) si les échanges plasma-salivaire se font par diffusion passive.

Il s'agit donc de mettre en évidence des facteurs pharmacologiques influençant l'apparition d'une toxicité hématologique après chimiothérapie par le cisplatine. Le but de notre étude est de montrer l'intérêt du dosage du platine plasmatique, salivaire et intralymphocytaire pour prédire une toxicité hématologique de grade 4 au cours du même cycle de chimiothérapie. A travers la recherche de facteurs prédictifs, l'étude des relations entre le compartiment de référence, le plasma, les « tissus » de distribution comme les lymphocytes qui sont le reflet des interactions ADN-cisplatine, et la salive, d'obtention plus facile qui est le reflet des concentrations en platine libre, permettra d'étudier plus précisément la distribution du cisplatine.

MÉTHODOLOGIE

Patients et traitements

ÉTUDE 1

L'évaluation des taux plasmatiques et lymphocytaires a été faite chez quatorze patients, 10 de sexe masculin, dont l'âge médian était de 54,5 ans (extrêmes : 27-72), d'état général de grade OMS supérieur ou égal à 2. Ils présentaient un carcinome épidermoïde localement avancé des voies aéro-digestives supérieures (n = 11), un cancer de l'ovaire (n = 2), ou un choriocarcinome placentaire (n = 1). Seul un patient avait reçu une chimiothérapie au préalable sans cisplatine.

Les protocoles de chimiothérapie délivrés étaient les protocoles standard de chaque pathologie d'organe concernée. Le CDDP à la dose de 100 mg/m² à J1, en perfusion de 2 heures, était associé, selon les cas, soit au 5 fluoro-uracile, soit à l'ifosfamide, soit à la doxorubicine, soit à du cydophosphamide. Les conditions d'administration du cisplatine étaient dans tous les cas standardisées. Le CDDP était administré à la 12^e heure d'une perfusion d'hyperhydratation de soluté glucosé. Cette hyperhydratation était poursuivie durant 36 heures après le début de la cure, de telle sorte qu'il était administré 3 litres de soluté glucosé 5 %. La durée du cycle était de

TABLEAU I. — Fréquence et intensité de la neutropénie en fonction du protocole de chimiothérapie (CDDP 5 FU et autre¹) et en fonction du cycle de chimiothérapie.

Cycle		Nombre de cycles avec neutropénie (fréquence en %)				
		Grade I	Grade II	Grade III	Grade IV	Total
CDDP 5FU	Cycle 1 (n = 8)	—	1 (12,5)	—	3 (37,5)	4 (50,0)
	Cycle 2 (n = 5)	1 (20,0)	1 (20,0)	—	1 (20,0)	3 (60,0)
	Total (n = 13)	1 (7,7)	2 (15,4)	—	4 (30,8)	7 (53,6)
Autre protocole	Cycle 1 (n = 3)	—	—	—	3 (100)	3 (100)
	Cycle 2 (n = 3)	—	—	—	3 (100)	3 (100)
	Total ¹ (n = 6)	—	—	—	6 (100)	6 (100)
Tous protocoles confondus	Cycle 1 (n = 11)	—	1 (9,1)	—	6 (54,5)	7 (63,6)
	Cycle 2 (n = 8)	1 (12,5)	1 (12,5)	—	4 (50,0)	6 (75,0)
	Total (n = 19)	1 (5,3)	2 (10,5)	—	10 (52,6)	13 (68,4)

¹ CDDP avec soit de l'ifosfamide soit du cyclophosphamide soit de l'étoposide.

21 jours et chacun de ces patients était suivi pendant 2 cycles. Les hémogrammes étaient prévus systématiquement 2 fois par semaine pendant les 2 cycles du suivi.

ÉTUDE 2

L'évaluation concomitante des taux salivaires et plasmatiques a été conduite chez 3 autres patients. Ces patients présentaient un mélanome ($n = 1$), un carcinome des voies aéro digestives supérieures ($n = 1$) ou du poumon ($n = 1$). Les doses et les procédures d'administration du CDDP étaient similaires à celles exposées ci-dessus. Les produits associés étaient soit le 5 fluorouracile, soit la vinorelbine, soit la dacarbazine.

Prélèvements

ÉTUDE 1

Les prélèvements pour la pharmacocinétique (plasmatique et lymphocytaire) ont été effectués durant les 2 premiers cycles de chimiothérapie aux temps suivants : avant l'administration de la chimiothérapie, 1 heure après la fin de perfusion, puis 24 et 120 heures après le début de la perfusion puis au début de la cure suivante, soit à J21.

Cinq millilitres de sang ont été recueillis dans un tube hépariné, centrifugés immédiatement à 3 000 t/min pendant 10 minutes. Le plasma a été ensuite séparé et conservé à $+4^{\circ}\text{C}$ jusqu'au moment du dosage.

Les lymphocytes ont été obtenus après extraction par la technique du Ficoll Histopaque. Pour la détermination des adduits, l'extraction de l'ADN a ensuite été réalisée.

ÉTUDE 2

Les prélèvements salivaires ont été effectués sans stimulation des glandes salivaires avant l'administration du cisplatine (T0), à la fin de la perfusion (T2 h), 1 heure (T3 h), 6 heures, 24 heures et 120 heures après la fin de perfusion. Des prélèvements de sang ont été pratiqués aux mêmes temps. Les échantillons ont été conservés à $+4^{\circ}\text{C}$ jusqu'au moment du dosage.

Évaluation de la toxicité

La toxicité hématologique est évaluable pour les quatorze patients de l'étude 1. Le nombre moyen d'hémogrammes par cycle était de 7 (4-11). L'évaluation de la toxicité a été effectuée après chaque cycle, conformément aux critères de l'OMS. La neutropénie est évaluée par le nombre de neutrophiles au nadir. Un taux de PNN inférieur à 500 PNN/ μl correspond à une neutropénie de grade 4. Les patients ont reçu en tout 24 cycles de chimiothérapie, 19 étant évaluable et il n'y a pas eu de réduction des doses.

Dosage des échantillons

Le platine plasmatique total est dosé par Spectrométrie d'Absorption Atomique (SAA) comme décrit précédemment (10, 24).

Le platine salivaire et les adduits sont dosés par Inductively Coupled Plasma Mass Spectroscopy (ICPMS) cou-

plé à un micronébuliseur de type MCN-1 (2). Ce micronébuliseur permet d'effectuer le dosage à partir d'un faible volume d'échantillon (50 μl). La limite de quantification de la méthode de dosage est de l'ordre de 0,1 $\mu\text{g/l}$. La reproductibilité du dosage permet de l'utiliser pour les études pharmacocinétiques.

Analyse des données

Les variations de la concentration en platine dans le plasma ont été analysées à l'aide du logiciel pour la pharmacocinétique MicroPharm-K[®] (28) par estimation bayésienne en utilisant une information de population. L'algorithme de minimisation est celui de Simplex, le modèle de variance $V(Y) = s.s \times Yq$ avec $s = 0,1$ et $q = 2$.

Les caractéristiques statistiques de population utilisées pour cette analyse ont été établies pour un modèle à deux compartiments (2 termes exponentiels) à partir des courbes concentration/temps de 44 patients traités par le CDDP en bolus, en perfusion de 2 h ou en perfusion continue de quatre jours (5).

Les paramètres pharmacocinétiques évalués sont le C_{max} (mg/l), l'ASC (mg/l/j), le volume de distribution à l'équilibre (V_{ss} en litres), la demi-vie ($T_{1/2}$ en jours) ainsi que la clairance plasmatique totale (Cl en litres par jour).

RÉSULTATS

Toxicité hématologique

La Figure 1 représente l'évolution des trois lignées hématologiques en fonction du temps suite à l'adminis-

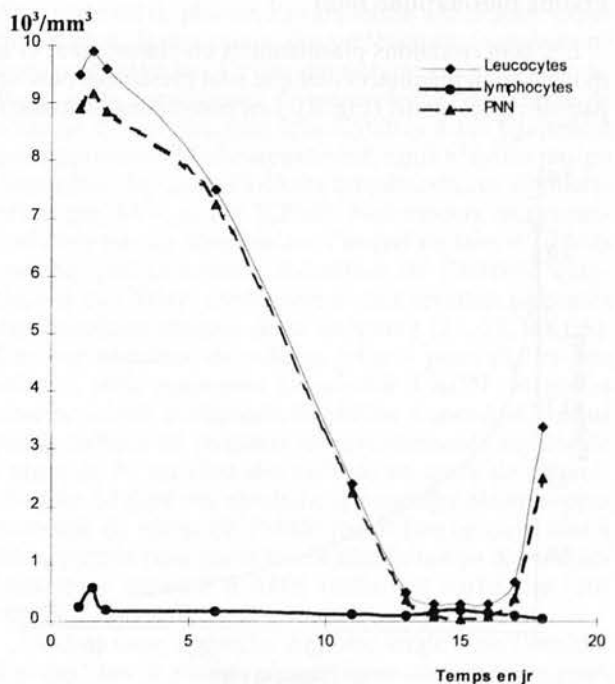


FIG. 1. — Évolution en fonction du temps du nombre de leucocytes, lymphocytes et de polynucléaires neutrophiles après chimiothérapie par CDDP à la dose de 100 mg/m^2 et de 5FU.

TABLEAU II. — Paramètres pharmacocinétiques moyens des 14 patients.

Vc volume du compartiment central, Vss volume de distribution à l'équilibre, ASC aire sous la courbe des concentrations plasmatiques, T1/2 demi-vie et Cmax concentrations maximales observées à la fin de la perfusion.

Cure	Vc l	Vss l	Cl l j ⁻¹	ASC mg l ⁻¹ j	T1/2 j	Cmax mg l ⁻¹
Moyenne cure 1	44,6	88,8	6,7	15,3	10,7	2,20
Écart type	16,5	65,1	2,3	5,8	11,3	0,82
Moyenne cure 2	58,8	66,5	7,1	17,1	7,6	2,59
Écart type	47,1	34,7	1,9	5,1	3,0	0,74
Moyenne cure 1 et 2	48,2	92,6	7,3	15,5	11,1	2,40
Écart type	14,1	53,4	1,9	4,2	9,2	0,63

tration de CDDP à la dose de 100 mg/m² associé à du 5 fluoro-uracile (1 g/m² du J1 au J5). Une neutropénie de grade 4 survient chez 6 des 14 patients traités évaluable (50 %) et au cours des 10 cycles sur les 19 cycles suivis (52,6 %). Pour les cycles avec une neutropénie de grade 4, le nadir médian est de 225 PNN/μl et le jour moyen du nadir est de 16 (13-22 jour). Au total, une neutropénie fébrile est apparue chez 1 patient. Une thrombopénie est observée chez 1 patient au cours du cycle 1.

Adduits lymphocytaires

Pour 18 échantillons sur 20 (90 %) contenant de l'ADN, la valeur médiane des quantités extraites était de 9,9 μg (3,2-27,3 μg). Les quantités de platine lié à l'ADN lymphocytaire sont toutes inférieures à la limite de détection de l'ICPMS, soit à des taux de l'ordre de 1 pg/μg de DNA.

Platine plasmatique total

Les concentrations plasmatiques en platine total et la modélisation pharmacocinétique sont présentées pour un patient représentatif (Fig. 2). Les paramètres pharmaco-

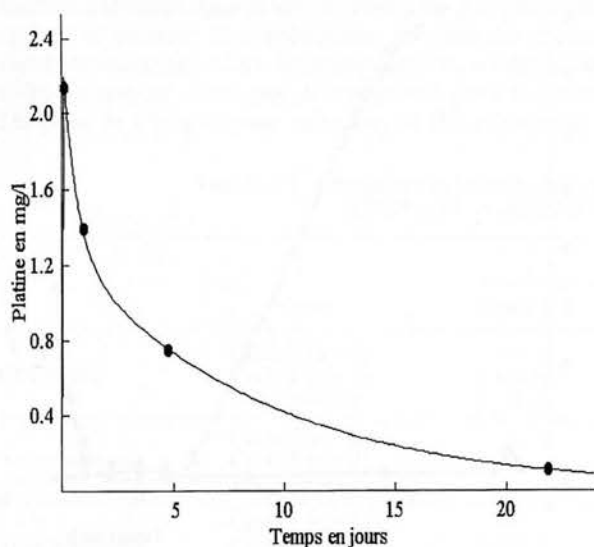


FIG. 2. — Concentrations plasmatiques en platine total et modélisation pharmacocinétique après chimiothérapie par CDDP à la dose de 100 mg/m².

cinétiques obtenus pour 14 patients (24 cycles) sont résumés dans le Tableau II. On note une grande variabilité interindividuelle de la clairance plasmatique totale de la demi-vie, du Cmax ainsi que l'ASC. Le Cmax moyen est de 2,4 mg/l avec un coefficient de variation de l'ordre de 22 %. La clairance présente un coefficient de variation de 25 % pour une valeur moyenne de 7,3 l/j. La valeur moyenne de la demi-vie est de 10,1 avec le patient 7 et de 7,8 sans celui-ci.

Relation pharmacocinétique pharmacodynamique

Les recherches de relations entre les paramètres pharmacocinétiques et les paramètres hématologiques sont présentées dans le Tableau III. La comparaison des différents facteurs entre le groupe de patients ayant présenté une neutropénie de grade 4 et le groupe « absence de neutropénie » met en évidence une différence statistique significative pour les concentrations au Cmax et au Cmax + 1 heure. La neutropénie de grade 4 est reliée aux Cmax ainsi qu'à la concentration en platine total 1 heure après la fin de la perfusion [Cmax + 1 heure], la concentration en platine au Cmax et au Cmax + 1 heure étant signifi-

TABLEAU III. — Comparaison statistique des paramètres pharmacocinétiques [moyenne ± écart type] entre le groupe neutropénie [neutropénie de grade 4] et le groupe absence de neutropénie, [neutropénies de grade 0, 1 et 2].

	Neutropénie (n = 10)	Absence de neutropénie (n = 9)	p
Cmax mg/l	2,59 (0,61)	2,06 (0,29)	< 0,05
Cmax + 1 h mg/l	2,54 (0,61)	1,99 (0,25)	< 0,05
C24 h mg/l	1,61 (0,31)	1,4 (0,35)	NS
Dose totale mg	110,9 (14,3)	102,7 (28,3)	NS
ASC totale mg/l ⁻¹ j	15,77 (3,61)	14,83 (3,2)	NS
Age ans	49,8 (6,8)	57 (17,7)	NS
Poids kg	61,5 (12,34)	65,4 (7,6)	NS
Lymphocytes à J5 10 ³ /mm ³	1,02 (0,74) ¹	1,17 (0,83)	NS

¹ n = 9.

NS : non significatif.

cativement plus élevée dans le groupe « neutropénie de grade 4 » que dans le groupe absence de neutropénie. Il n'y a pas de différence statistique entre les groupes en ce qui concerne la C24 h l'âge, le poids, le sexe ou la dose de chimiothérapie délivrée.

Platine salivaire

Les concentrations en platine salivaire après une dose IV sont présentées Figure 3.

Les concentrations au Cmax sont comprises entre 0,050 et 0,080 µg/l représentant 2 à 3 % du platine total plasmatique. Des taux significatifs de platine sont détectés jusqu'à 120 heures après l'administration du médicament.

DISCUSSION ET CONCLUSIONS

Le but de notre travail était de rechercher des marqueurs pharmacologiques prédictifs de la neutropénie chimioinduite par le CDDP. Pour cela, nous avons choisi d'orienter notre recherche selon 3 axes — au niveau lymphocytaire, au niveau plasmatique et au niveau salivaire. Nous avons ensuite recherché les relations entre les concentrations en platine évaluées pour chacun de ces milieux.

Le premier enseignement de cette étude est qu'il n'a pas été possible de déterminer des taux de platine intralymphocytaires significatifs, les concentrations étant inférieures à la limite de détection de l'ICPMS. Nous ne pouvons donc pas conclure sur l'intérêt du taux d'adduits lymphocytaires comme marqueurs de l'activité neutropénisante du cisplatine. En deuxième lieu, il ressort des résultats plasmatiques que le Cmax et la concentration en platine 1 heure après la fin de perfusion pourraient être des marqueurs de l'intensité de la neutropénie induite par le CDDP. Enfin, nous avons démontré la présence de pla-

tine dans la salive et la faisabilité du dosage par ICPMS.

La chimiothérapie par CDDP a induit, quels que soient les protocoles utilisés, une neutropénie dans les jours suivant l'administration de cette chimiothérapie dans environ 50 % des cas. En effet, le CDDP peut être considéré comme un agent anticancéreux neutropénisant et sa toxicité peut être considérée comme majoritaire par rapport aux produits associés. De plus, les durées, les fréquences et les jours des nadirs des neutropénies sont conformes à celles rapportées dans la littérature. Même si l'échantillon de patients est réduit en nombre, celui-ci est bien représentatif de l'évolution hématologique des patients traités par des agents anticancéreux à base de cisplatine (9).

L'évaluation des adduits de platine lymphocytaires comme marqueurs de la neutropénie était la première approche de notre travail. En effet, il était tentant d'imaginer que ces adduits pouvaient refléter la toxicité hématologique du CDDP. En bonne logique, la concentration intraleucocytaire de platine doit être corrélée à la disparition des globules blancs puisque le platine est l'acteur principal de cette cytolyse. Notre hypothèse de départ est de considérer que les concentrations mesurées dans les premières heures de la chimiothérapie sont en relation avec l'importance de la destruction cellulaire observée les jours suivants. De façon à ne pas être gêné sur le plan expérimental par un trop petit nombre de cellules au moment du nadir, il était préférable de doser la concentration intracellulaire de platine sur les cellules lymphocytaires, dont le nombre reste relativement stable dans le temps. Une approche identique avait été antérieurement réalisée par Allain (1) pour l'évaluation de la toxicité d'un autre sel de platine, l'oxaliplatine. Dans notre expérimentation, la répétitivité des prélèvements sanguins ne nous permettait pas d'avoir des volumes très importants. Par voie de conséquence, la quantité d'ADN extraite de chacune de ces fractions leucocytaires a été également peu importante. Malheureusement, nous n'avons pas pu déterminer des taux d'adduits lymphocytaires significatifs ni par SAA, ni par ICPMS. Nos travaux ne permettent donc pas de conclure sur l'intérêt du taux d'adduits lymphocytaires comme indicateur de l'activité cytotoxique du CDDP, contrairement aux résultats rapportés dans plusieurs travaux de la littérature (21, 22, 23, 25). Une augmentation du volume prélevé pourrait être une solution pour augmenter la quantité d'ADN extraite et ainsi permettre la détection du platine. Cependant, il nous paraît difficile de proposer des prélèvements répétés de l'ordre de 50 ml chez des patients en cours de chimiothérapie. Malgré ces résultats, le couplage plasma-spectrométrie de masse (ICP-MS) paraît être un outil tout à fait approprié pour permettre la détermination des adduits lorsque la quantité d'ADN isolée est suffisante (50-100 µg).

La deuxième approche de notre étude était l'évaluation des taux de platine plasmatiques comme marqueurs de la neutropénie. L'étude pharmacocinétique (AUC, Cmax, Clairance) permet de retrouver des valeurs comparables à celles antérieurement publiées (5, 6, 12). On retrouve, comme décrit précédemment, une grande

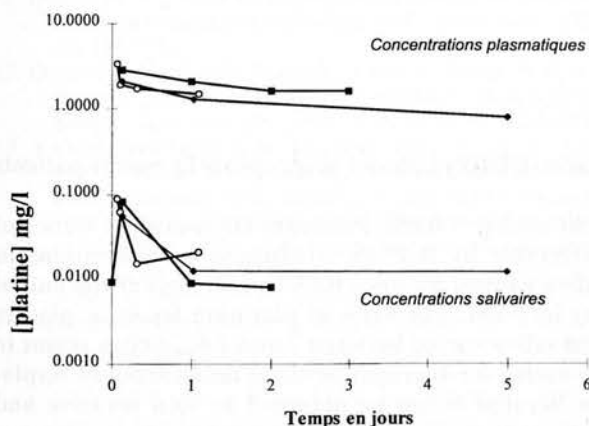


FIG 3. — Évolution en fonction du temps des concentrations en platine total plasmatique et salivaire chez 3 patients traités par du CDDP à la dose de 100 mg/m².

variabilité interindividuelle des paramètres pharmacocinétiques. Le modèle à deux compartiments semble suffisant pour décrire la pharmacocinétique du platine total en perfusion de 2 heures, même si le « vrai » modèle pour décrire la pharmacocinétique du cisplatine est un modèle à trois compartiments (5, 19). Notre population de patients est donc tout à fait valable pour mener à bien la recherche de relations entre les paramètres pharmacocinétiques et pharmacodynamiques. Si la pharmacocinétique du platine a fait l'objet de nombreuses études, peu de ces travaux ont conclu à une relation concentration-neutropénie (12). Or, il ressort de notre série que la concentration en platine total en fin de perfusion est statistiquement corrélée avec le risque de neutropénie. En effet, nous avons mis en évidence une différence significative entre les groupes de patients ayant présenté une neutropénie de grade 4 et le groupe « absence de neutropénie » ($p < 0,05$). Plus la concentration est importante, plus le risque de neutropénie sévère est grand. De plus, l'analyse statistique ne met en évidence aucun autre facteur prédictif de l'apparition d'une neutropénie. Notre étude ne retrouve pas la signification pronostique d'une lymphopénie à J5 pour une neutropénie de grade 4 constatée par Blay *et al.* Il faut rappeler que la série de Blay regroupe des patients de pathologies variées, ayant reçu des chimiothérapies différentes mais plus myélotoxiques, et présentant une incidence élevée de neutropénie fébrile (près de 30 % des patients). Les implications cliniques de ces résultats peuvent être une adaptation individuelle des posologies ou la mise en place de mesures prophylactiques (dès la première cure ?) comme l'administration de FCH. L'important pour le clinicien sera de connaître la probabilité d'avoir une neutropénie de grade 4, risque d'incident fébrile majeur.

A travers le dosage des adduits, le couplage plasmaspectrométrie de masse (ICPMS) est apparu comme un outil analytique performant et sensible. Il nous a permis

d'envisager une troisième approche pour la détermination de marqueurs pharmacocinétiques de la neutropénie chimioinduite par le CDDP : l'évaluation des taux salivaires en platine. Ces dernières années, la salive est apparue comme un outil intéressant pour l'évaluation des concentrations en médicament anticancéreux (16, 26, 27). Cependant, nous n'avons retrouvé aucune étude concernant la diffusion salivaire du cisplatine dans la salive. Il s'agit donc, à notre connaissance, de la première étude quantifiant la distribution salivaire du CDDP. Les concentrations attendues étaient faibles et théoriquement proches de la concentration en platine libre dans le plasma. Ainsi, l'ICPMS, méthode particulièrement sensible, nous semblait être la méthode de choix pour mener à bien la détermination des taux salivaires. Les concentrations retrouvées sont en accord avec les concentrations théoriques, reliées à la concentration plasmatique en platine libre. Ainsi, pour le CDDP, le taux de liaison aux protéines plasmatiques est de l'ordre de 95-98 % et les concentrations salivaires retrouvées dans notre étude représentent 2 à 3 % des concentrations plasmatiques. Cette étude démontre donc la faisabilité de la détermination des taux salivaires en platine après chimiothérapie par CDDP.

En résumé, ce travail permet de tirer deux conclusions. Premièrement, la concentration plasmatique en platine total semble être un marqueur de l'intensité de la neutropénie induite par le CDDP. Une autre étude serait nécessaire pour confirmer, sur une plus grande population de patients, les relations concentrations plasmatiques — neutropénie de grade 4, et définir la valeur prédictive de ce marqueur. Deuxièmement, il faudra aussi vérifier les relations entre les concentrations plasmatiques et salivaires avant de proposer de mesurer, de manière indirecte, les concentrations plasmatiques en platine total par l'intermédiaire de l'évaluation salivaire ; l'approche salivaire présente l'avantage d'être moins contraignante pour le patient et plus facile d'accès.

SUMMARY Predictive pharmacological markers of cisplatin (CDDP) induced neutropenia in cancer patients

The aim of this study was to demonstrate the value of the level of platinum in lymphocytes, plasma and saliva, in order to predict neutropenia during the same cycle after cisplatin chemotherapy. Plasma and lymphocytes samples were obtained from 14 patients receiving 100 mg/m² cisplatin in different combination. Saliva samples were obtained from 3 other patients. We found that platinum plasma concentration at the Cmax and 1 hour after the end of the infusion were significantly higher in the grade 4 neutropenia cycles (respectively 2.60 vs 2.05 and 2.55 vs

2.00 mg/l $p < 0.05$). Platinum DNA-adduct were not detectable by ICPMS. Maximum concentrations in saliva ranged between 0.05 to 0.08 mg/l at the end of the infusion. The ratio of platinum levels in plasma and saliva varied between 2 and 3 %. Saliva seems to be useful for therapeutic drug monitoring of cisplatin because it can be obtained by non invasive and patient-friendly means. However, new studies are required to demonstrate the relationship between these two biological fluids.

BIBLIOGRAPHIE

- Allain P., Berre S., Mauras Y. & Le Bouil A., Evaluation of inductively Coupled Mass Spectrometry for the Determination of Platinum in Plasma *Biological Mass Spectrometry*, 1992, 21, 141-143.
- Allain P., Brienza S., Gamelin E., Taamma A., Krikotian A., Turcan C., Kvitovic E. & Misset J. L., Oxaliplatin induced platinum — DNA adduct in white blood cells of cancer patients. *Abstract, Proceeding of the American Association for Cancer Research*, 1996, 37.
- Blay J. Y., Chauvin F., Le Cesne A. *et al.*, Early lymphopenia after cytotoxic chemotherapy as a risk factor febrile neutropenia *J. Clin. Oncol.*, 1996, 14, 636-643.
- Blay J. Y., Fervers B., Latour J. F., Philip T., Standards, options et recommandations pour l'utilisation des facteurs de croissance hématopoïétique en cancérologie. *Bulletin du cancer*, 1995, 82, suppl. 4, 487s-508s.
- Brès J., Cupissol D., Nougier-Soulé J., Gestin-Boyer C., Bütnner U., Palomba B. & Gory-Delabaere G., Population distribution of platinum pharmacokinetics parameters for dosage recommendations of CDDP and adaptive control during the course of therapy, using different softwares. *Abstract, groupe PAGE Frankfurt*, 1995.
- Bues-Charbit M., Cano J. P., Catalin J., Iliadis A. & Bayssas M., Étude pharmacocinétique du platine total chez des enfants et des adultes après administration du « cis-DichloroDiaminePlatinum » (CDDP) selon différents protocoles. *J. Pharm. clin.*, 1982, 187-201.
- Canal P. & Chatelut E., Optimisation de dose en oncologie clinique. Relation pharmacocinétique-pharmacodynamique. *Bulletin du cancer*, 1996, 83, 256-265.
- Cappelaere P., Fournier C., Rolland, Meeus L. *et al.*, Valeur prédictive de l'hémogramme du 4^e jour pour la myélotoxicité induite par l'association carboplatine-5-fluorouracile. *Bulletin du cancer*, 1996, 83, 559-565.
- Crauste-Manciet S., Faure P., Latour J. F., Madeleine-Chambrin I. & Saulnier R., Standard, options et recommandations pour l'utilisation pratique des anticancéreux. Monographies des médicaments anticancéreux. *Bulletin du cancer*, 1995, 82, suppl. 4, 319s-452s.
- Cupissol D., Brès J., Gestin-Boyer C., Nougier-Soulé J., Vian L., Tep A. & Nougier J., Validation d'un nouveau logiciel interactif intégré à une pompe à débit contrôlé et permettant l'ajustement de posologie du cisplatine en temps réel. *Bulletin du cancer*, 1996, 83, 664-676.
- Delmer A. & Zittoun R., Utilisation des facteurs de croissance hématopoïétiques en cancérologie. *Bulletin du cancer*, 1991, 78, 115-131.
- Desoize B., Dumont P., Manot L., Urien S., Dufour R. & Berthiot G., Comparison of two dose prediction models of cisplatin. *Anticancer Research*, 1994, 14 (6A) : 2285-2290.
- Fichtinger-Schepman A. M., Van Oosterom A. T., Lohman P. H. M. & Berends F., Cis-Diaminedichloroplatinum(II)-induced ADN Adducts in peripheral Leukocytes from seven cancer patients: quantitative immunocytochemical detection of the adduct induction and removal after a single dose of cis-diaminedichloroplatinum (II). *Cancer Research*, Jun 1987, 47, 3000-3004.
- Fichtinger-Schepman A.-M. J., Van Der Velde-Visser S. D., Van Dijk-Knijnenburg H. C. M., Van Oosterom A. T., Baan R. A. & Berends F., Kinetics of the formation and removal of cisplatin-DNA adducts in blood cells and tumor tissue of cancer patients receiving chemotherapy: comparison with *in vitro* adduct formation. *Cancer Research*, 1990, 50, 7887-7894.
- Gamelin E., Allain P., Maillart P., Turcant A., Delva R., Lortholary A. & Lana F., Long term pharmacokinetic behaviour of platinum after capsulation administration. *Cancer Chemother Pharmacol.*, 1995, 37, 97-102.
- Gouyette A., Deniel, Pio J. L., Droz J. P., Baume D., Ostrofonof M., Le Bail N. & Hayat M., Clinical pharmacology of high-dose etoposide associated with cisplatin. Pharmacokinetic and metabolic studies. *Eur. J. Cancer Clin. Oncol.*, 1987 Nov., 23 (11), 1627-1632.
- Haeckel R., Factor influencing the saliva/plasma concentration of drugs. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, sept. 1993, 20, 694 : 128-142.
- Harland J. S., Newell D., Sidpik Z. H. *et al.*, Pharmacokinetics of cis-diamine-1-1, cyclobutane dicarboxylate platinum (II) in patients with normal and impaired renal function. *Cancer Res.*, 1984, 44, 1693-1697.
- Iliadis A., Individualisation de posologie utilisant l'information cinétique de la population : application aux anticancéreux. In: « Intérêt et Limites de la Pharmacocinétique en Recherche et Développement », Troisièmes Journées Méditerranéennes de Pharmacocinétique, Cap d'Agde, 19-21 mai 1988.
- Jusko W. J. & Milsap R. L., Pharmacokinetic principles of drug distribution in saliva. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, sept. 1993, 20, 694 : 36-47.
- Ma J., Verweij J., Planting A. S. Th., Kolker H. J. *et al.*, Docetaxel and paclitaxel inhibit DNA-adduct formation and intracellular accumulation of cisplatin in human leukocytes. *Cancer Chemother. Pharmacol.*, 1996, 37, 382-384.
- Ma J., Verweij J., Planting A. S., De Boer-Dennert M. *et al.*, Current sample handling methods for measurement of platinum-ADN adducts in leucocytes in man lead to discrepant results in ADN adduct levels and ADN repair. *British Journal of Cancer*, March 1995, 71 (3) : 512-517.
- Motzer R. J., Reed E., Perera F., Tang D., Shamkhani H., Poirier M. C., Tsai W. Y., Parker R. J. & Bosl G. J., Platinum-ADN adducts assayed in leukocytes of patients with germ cell tumors measured by atomic absorbance spectrometry and enzyme-linked immunosorbent assay. *Cancer*, Jun 1994, 73 (11), 2843-2852.
- Pujol J. L., Cupissol D., Gestin-Boyer C., Brès J., Serrou B. & Michel F. B., Tumor-tissues and plasma concentrations of platinum during chemotherapy of non-small — cell — lung cancer patients. *Cancer Chemother. Pharmacol.* 1990, 27, 72-75.
- Schellens J. H. M., Ma J., Planting A. S. Th., Van Der Burg M. E. L., Van Meerten E., De Boer-Dennert M., Schimtz P. I. M., Stoter G. & Verweij J., Relationship between the exposure of to cisplatin, ADN-adduct formation in leucocytes and tumor response in patients with solid tumours. *British Journal of Cancer*, 1996, 73, 1569-1575.
- Slavik M. *et al.*, Salivary excretion of anticancer drugs. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1993, Sept. 20, 694, 319-321.
- Takahashi T., Fujiwara Y., Sumiyoshi H., Isobe T., Yamaoka N. & Yamakido, Salivary drug monitoring of irinotecan and its active metabolite in cancer patients. *Cancer Chemother. Pharmacol.*, 1997, 40 (5), 449-452.
- Urien S., MicroPharm-K: a microcomputer interactive program for the analysis and simulation of pharmacokinetics process. *Pharm. Res.*, 1995, 1225-1230.
- Van Warmerdam L. J., van Tellingen O., Ten Bokkel Huinink W. W., Rodenhuis S., Maes R. A. & Bijnen J. H., Monitoring carboplatin concentrations in saliva: a replacement for plasma ultrafiltrate measurements? *Ther. Drug Monit.*, 1995 Oct., 17 (5), 465-470.
- Vermoken J. B., Pharmacokinetics of free and total platinum species after rapid and prolonged infusions of cisplatin. *Clin. Pharmacol. Ther.*, 1986, 39, 16.