

Biocompatibilité des solutions en dialyse péritonéale

Georges Vantard : docteur - ingénieur ; GAMBRO R&D

Parler de la biocompatibilité des fluides en dialyse péritonéale conduit naturellement à aborder la question du glucose et des **produits de dégradation du glucose**... Il est intéressant de se rappeler la très mauvaise expérience des apiculteurs anglais qui dans l'hiver 1962-1963 ont perdu la plupart de leurs colonies d'abeilles ! Les rapports de l'époque démontrent que cette hécatombe n'était pas due à une exceptionnelle froideur de l'hiver mais à la qualité de la nourriture fournie aux ruches : le sucrose habituellement hydrolysé par voie enzymatique avait été hydrolysé par un nouveau procédé par chaleur et acide. Il a été conclu alors, que les abeilles sont mortes à cause de la présence de quelques substances inconnues liées à la décomposition du glucose à la chaleur ! Ce rapport est l'une des nombreuses démonstrations de la toxicité des produits de dégradation des carbohydrates. Cet intérêt sur le sujet a été principalement focalisé sur les problèmes de sécurité dans l'industrie alimentaire et dans certains cas sur les solutions pour injection intraveineuse ; cependant, jusqu'ici, peu d'attention a été apportée au devenir du glucose lors de la stérilisation chaleur des solutions pour dialyse péritonéale.

Un patient en dialyse péritonéale (DP) utilise entre 8 et 20 litres de liquide de dialyse chaque jour selon son régime de traitement. Ceci correspond à la consommation annuelle de 3 à 7 tonnes

de liquide contenant 1.5 - 4 % de glucose (soit 50 - 175 kg de pur glucose). La perspective d'une exposition répétée des cellules de la cavité péritonéale à une telle quantité de fluide doit nous rendre très exigeant sur leur qualité, et très concernés en particulier par les produits de dégradation du glucose.

EFFETS BIOLOGIQUES DES PRODUITS DE DÉGRADATION THERMIQUE DU GLUCOSE

Une expérience simple permet de se convaincre de la **toxicité potentielle de ces sous-produits du glucose** : l'observation in vitro de la croissance de fibroblastes de souris (lignée L 929 mondialement utilisée pour le screening de la **cyto-toxicité** basale des plastiques médicaux et autres produits chimiques) ; si l'on ajoute les liquides habituellement utilisés en dialyse péritonéale dans une culture de L 929, la croissance cellulaire est très fortement inhibée après 3 jours d'exposition ; si au contraire on utilise une solution identique mais stérilisée par filtration (et non par chaleur 1 heure à 121°C) l'effet sur la croissance cellulaire devient négligeable. Des résultats similaires ont été obtenus sur des cultures de cellules humaines comme des lignées de neuroblastomes ou plus proche de notre problème, sur des cellules mésothéliales de patients urémiques. Ces résultats indiquent clairement la responsa-

bilité de la décomposition du glucose à la chaleur.

D'autres évidences ont été accumulées non seulement sur la viabilité mais aussi sur la **fonctionnalité cellulaire** : par exemple la production par stimulation des monocytes humains d'interleukines IL 1 β est significativement réduite si l'on cultive les cellules dans les liquides de DP commerciaux stérilisés chaleur ; ce n'est pas le cas si on utilise un fluide de même composition, stérilisé par filtration. On note de nouveau un effet négatif des produits de dégradation du glucose, cette fois sur la fonctionnalité des cellules impliquées dans la défense de l'organisme.

INDICATION CLINIQUE DE L'EFFET DES PRODUITS DE DÉGRADATION DU GLUCOSE

On peut citer une première étude, publiée en 1985 par Henderson et al, où **la douleur à l'infusion** était reliée à l'âge des liquides de DP ; un liquide plus vieux donnant plus de douleur qu'un liquide fraîchement produit. La conclusion étant que ceci est dû à l'accumulation des produits de dégradation du glucose durant le stockage. Le même groupe a publié qu'un liquide plus vieux conduisait aussi, toute chose égale par ailleurs, à une ultrafiltration plus faible qu'un liquide non vieilli.

QUELS SONT LES PRODUITS DE DÉGRADATION DU GLUCOSE ?

Les liquides standard de DP, conditionnés en sacs plastiques, sont stérilisés à la chaleur dans de grandes autoclaves pour des cycles longs de plusieurs heures. Ceci conduit souvent à un jaunissement des liquides. L'analyse par spectrométrie dans l'ul-

traviolet (UV) permet d'identifier bon nombre des sous-produits formés à la stérilisation ; aux deux longueurs d'onde caractéristiques, 228 et 284 nm, la différence est spectaculaire avec un liquide stérilisé par filtration. Plusieurs tentatives ont été faites pour identifier plus finement la dégradation en utilisant la chromatographie haute performance ; les produits classiquement décrits sont le 5-HMF, 2-furaldéhyde, formaldéhyde, acétaldéhyde, méthylglyoxal et glyoxal. Si l'on exprime certains de ces résidus en **dose annuelle de produit de dégradation de glucose reçue par un patient en DP on obtient : 4 kg de fructose, 150 ml d'acétaldéhyde, 6 ml de formaldéhyde, 10 g de 3-déoxyglucosone (3-DG).**

Notons que la 3-DG est connue pour être l'un des intermédiaires les plus réactifs dans la fameuse réaction de Maillard et un promoteur des produits avancés de la glycation ("AGE-products"). La production de 3-DG démarre du glucose qui forme une base de Schiff avec les groupes amines des protéines ; la prochaine étape dans la réaction de Maillard étant le ré-arrangement en produits d'Amadori qui se coupent enfin pour donner la 3-DG.

COMMENT MINIMISER LA DÉGRADATION DU GLUCOSE ?

Dans les développements futurs des liquides de DP il est très important de limiter la concentration des produits de dégradation du glucose. Ceci peut être envisagé de différentes manières :
1 - Stériliser par filtration au lieu de la chaleur ; le problème est cependant que les autorités pharmaceutiques de la plupart des pays n'ont pas encore accepté cette alternative pour des productions à grande échelle.
2 - Diminuer le temps d'exposition

à la chaleur...

3 - Diminuer le pH des solutions ; à pH 3 au lieu de 5.5 la dégradation thermique du glucose est fortement diminuée ; cependant pour l'injection au patient le pH de la solution devra être augmenté...

4 - Augmenter la concentration du glucose ; la dégradation est inversement proportionnelle à la concentration...

5 - Eliminer les substances qui catalysent la réaction de dégradation comme le lactate ou le calcium...

En produisant le liquide de DP dans une poche à deux compartiments, il est possible de prendre en compte les 3 dernières approches : dans le petit compartiment supérieur, le glucose est conservé à faible pH (3.2), à haute concentration (50 %) et aussi séparé des substances catalysantes. Les autres ingrédients (électrolytes et lactate) sont placés dans le grand compartiment. Juste avant utilisation, les deux compartiments sont mélangés en cassant le connecteur qui les relie ; on obtient ainsi une solution de composition standard de DP, mais dépourvue des produits de dégradation du glucose. C'est le **concept PD-BIO.**

CONCLUSION

Si l'on reprend l'ensemble des investigations réalisées précédemment sur une telle solution on constate que l'objectif est atteint : pas d'inhibition de la croissance cellulaire dans le test classique de cytotoxicité, pas de perte de fonctionnalité cellulaire dans le test de stimulation des monocytes humains ; diminution très significative des quantités de produits répertoriés de dégradation du glucose...

Des études cliniques multicentriques sont en cours, pour documenter l'intérêt de telles solutions de DP, dans le traitement des patients insuffisants rénaux, en comparaison avec les solutions standard.