

UNIVERSITE SIDI MOHAMMED BEN ABDELLAH
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE

FES



Année 2011

Thèse N° 117/11

**CARACTERISATION DE L'IMPACT DE LA BIOCOMPATIBILITE
DES MEMBRANES D'HEMODIALYSE ET LEUR CHANGEMENT
SUR LE STRESS OXYDANT :
ETUDES BIOLOGIQUE ET PAR IRMF-BOLD**

THESE

PRESENTEE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 30/06/2011

PAR

Mlle. BATTI FATIMA ZAHRA

Née le 29 Octobre 1983 à Oujda

POUR L'OBTENTION DU DOCTORAT EN MEDECINE

MOTS-CLES :

Stress oxydant - Membrane d'hémodialyse - Biocompatible - Sérologie - IRMF-BOLD

JURY

M. FARIH MOULAY HASSAN.....	PRESIDENT
Professeur d'Urologie	
M. BOUJRAF SAID.....	RAPPORTEUR
Professeur habilité de Biophysique	
M. SQALLI HOUSSAINI TARIQ.....	CO-RAPPORTEUR
Professeur agrégé de Néphrologie	
Mme. TIZNITI SIHAM.....	} JUGES
Professeur de Radiologie	
M. ER-RASFA MOURAD.....	
Professeur habilité de Pharmacologie	
M. BENZAGMOUT MOHAMMED.....	
Professeur agrégé de Neurochirurgie	

SOMMAIRE

ABREVIATIONS.....	4
INTRODUCTION.....	5
I. LES MEMBRANES D'HEMODIALYSE.....	8
A. CLASSIFICATION DES MEMBRANES DE DIALYSE.....	9
B. NATURE BIOCHIMIQUES DES MEMBRANES D'HEMODIALYSE.....	9
1. LES MEMBRANES CELLULOSIQUES.....	10
2. LES MEMBRANES CELLULOSIQUES MODIFIEES.....	11
3. LES MEMBRANES SYNTHETIQUES.....	11
C. NANOTECHNOLOGIE DU POLYSULFONE AU HELIXONE.....	11
1. MEMBRANES EN POLYSULFONE.....	12
2. MEMBRANES EN HELIXONE.....	12
II. STRESS OXYDANT EN HEMODIALYSE.....	15
A. DEFINITION.....	15
B. FORMES REACTIVES DE L'OXYGENE ET SYSTEME DE DEFENSE.....	15
1. TYPES ET REACTIVITE DES FRO.....	15
2. GENERATION DES FRO.....	17
3. TOXICITE DES FRO.....	17
4. SYSTEME DE DEFENSE ANTIOXYDANTE.....	19
a. ANTIOXYDANTS ENZYMATIQUES.....	19
b. ANTIOXYDANTS DEPOURVUS D'ACTIVITE ENZYMATIQUE.....	19
5. METHODES DE MESURES DE L'ACTIVITE DES RADICAUX LIBRES.....	20
C. STRESS OXYDANT CHEZ LE PATIENT HEMODIALYSE.....	21
1. PRODUCTION ACCRUE D'OXYDANTS.....	21
2. DEFICIT CHRONIQUE EN DEFENSE ANTIOXYDANTE.....	21
3. AUTRES FACTEURS.....	22
D. IMPLICATIONS CLINIQUES DU STRESS OXYDANT CHEZ L'HEMODIALYSE.....	22
1. ATHEROSCLEROSE ET COMPLICATIONS.....	23
2. MALNUTRITION.....	23
3. AMYLOSE A β 2MICROGLOBULINE.....	23
4. ANEMIE.....	24
III. Imagerie par résonance magnétique fonctionnelle : effet Bold.....	25
A. INTRODUCTION A L'IRM.....	25
B. PHENOMENE BOLD.....	27
OBJECTIFS DU TRAVAIL.....	30

PATIENTS, MATERIELS ET METHODES	32
I. TYPE DE L'ETUDE	33
II. PATIENTS ET MODALITES D'HEMODIALYSE	33
III. DESCRIPTION DE L'ETUDE	34
IV. MATERIELS ET METHODES	35
A. ETUDE BIOLOGIQUE	35
B. ETUDE RADIOLOGIQUE	36
C. ANALYSE STATISTIQUE	41
RESULTATS	42
I. CARACTERES GENERAUX DE LA POPULATION DE L'ETUDE	43
II. RESULTAT DE L'ETUDE BIOLOGIQUE	44
A. BILAN TRIMESTRIEL	44
B. PARAMETRES DU STRESS OXYDANT	47
III. RESULTATS DE L'ETUDE RADIOLOGIQUE	50
A. SOUS MEMBRANE EN POLYSULFONE	51
B. SOUS MEMBRANE EN HELIXONE	61
C. COMPARAISON ENTRE LES DEUX TYPES MEMBRANAIRES	69
DISCUSSION	70
Conclusion	76
Résumé s	78
Annexe	84
Bibliographie	96

ABREVIATIONS

Kuf	: Coefficient d'ultrafiltration
RL	: Radicaux libres
FRO	: Formes réactives de l'oxygène
O ₂	: Oxygène
H ₂ O ₂	: Peroxyde d'hydrogène
SOD	: Superoxyde dismutase
SO	: Stress oxidant
AGPI	: Acides gras polyinsaturés
GHS-Px	: Glutathion peroxydase
Fe ²⁺	: Fer ferreux
GHS	: Glutathion
MDA	: Malondialdéhyde
PNN	: Polynucléaires neutrophiles
NO	: Monoxyde d'azote
HD	: Hémodialyse
LDL	: Low density lipoprotein
HDL	: High density lipoprotein
MIA	: Malnutrition inflammation anémie syndrome
IRMf	: Imagerie par résonance magnétique fonctionnelle
OxyHb	: Oxyhémoglobine
DésoxyHb	: Désoxyhémoglobine
CRP	: Protéine C réactive
AAOT	: Activité antioxydante totale
DO	: Densité optique
SNP	: Système nerveux périphérique
SNC	: Système nerveux central

INTRODUCTION

L'insuffisance rénale chronique est la résultante de la perte progressive des fonctions du rein. Elle se traduit par un ensemble d'altérations biologiques, regroupées sous le terme d'urémie chronique.

Depuis l'application des techniques extra-rénales par R.Scribner en 1960, l'hémodialyse périodique est devenue le principal mode d'épuration chez les patients en insuffisance rénale chronique terminale. Elle représente un ensemble d'échange au travers d'une membrane semi-perméable, et qui a pour objectif de rétablir l'équilibre du milieu intérieur grâce à un traitement discontinu (en général trois séances de quatre à cinq heures par semaines).

Les méthodes de dialyse ont permis non seulement de prolonger significativement la durée de vie des patients, mais aussi avec une qualité de vie meilleure. Cependant le contact du sang avec la membrane de dialyse n'est pas inerte, il entraîne des interactions avec les composants solubles ou cellulaires du sang, des phénomènes d'adsorption des protéines, d'adhésion et d'activation cellulaire, conduisant (entre autres activations enzymatiques), à la génération de formes réactives de l'oxygène, responsables d'altérations cliniques.

L'intérêt que nous avons porté à l'analyse du stress oxydant en hémodialyse est lié au fait que celui-ci semble fortement impliqué dans les complications observées au long cours chez le sujet dialysé. Parmi ces complications, quatre dominant par leur gravité et l'handicap dont elles sont responsables et doivent être prévenues ou retardées : l'amylose à β_2 microglobuline, la dénutrition, l'anémie et le développement d'une athérosclérose aggravée par des dépôts calciques. Les maladies cardiovasculaires constituant la cause majeure de morbi-mortalité chez cette population.

Ces complications conduisent au tableau « du vieux dialysé » et grèvent le pronostic fonctionnel des patients. Les mécanismes physiologiques de ce syndrome sont encore mal connus. Certains aspects sont liés à l'urémie et à sa correction

imparfaite, d'autres sont liés à la procédure dialytique elle-même. On sait en effet que la dialyse est un état pro-inflammatoire de part les interactions répétées du sang avec les composants du circuit extracorporel et la présence d'éventuel contaminants dans le dialysat. De tels phénomènes sont regroupés sous le terme biocompatibilité.

Un des objectifs majeurs en hémodialyse est l'amélioration de la biocompatibilité des membranes d'hémodialyse pour limiter les manifestations cliniques associées au stress oxydant. L'hémodialyse doit donc être en perpétuelle évolution afin d'améliorer la qualité des séances et le pronostic à long terme.

Cette évolution nécessite la collaboration de disciplines de plus en plus nombreuses :

- Les mathématiques et les nouvelles technologies qui permettent une meilleure quantification de la dialyse pouvant amener une personnalisation des programmes,
- Les biomatériaux dont la nature détermine leur biocompatibilité,
- L'immunologie et la biochimie qui étudient les phénomènes de biocompatibilité,
- Les disciplines bactériologiques qui analysent la pureté du dialysat,

La nécessité de créer des interfaces de plus en plus étroites entre les néphrologues et l'ensemble de ces disciplines et donc actuellement un atout majeur pour assurer une dialyse adéquate aux patients.

Actuellement, il a été démontré que la nature de la membrane de dialyse influence significativement le stress oxydant chez les hémodialysés chroniques.

Dans ce travail, nous nous sommes intéressés à démontrer l'existence du stress oxydant chez les patients en hémodialyse chronique, ainsi que préciser l'impact du changement de la membrane de dialyse sur les paramètres du stress oxydant.

I. Les membranes d'hémodialyse :

Lors de la première dialyse réalisée avec succès en 1945, Kolff et Berk avaient utilisé un simple tube de cellophane comme membrane de dialyse pour leur générateur « le tambour rotatif » [1]. Depuis cette époque, le développement des membranes de dialyse a connu d'énormes progrès. Actuellement hautement biocompatibles, elles sont mieux adaptées au remplacement à long terme de la fonction excrétrice du rein.

La membrane de dialyse est un film mince séparant deux milieux d'échanges : sang et dialysat. C'est une sorte de barrière semi-perméable qui est conçue pour reproduire au plus près possible les caractéristiques de perméabilité de la membrane basale glomérulaire.

Une membrane de dialyse va répondre à un certains nombre de critères :

- Une clairance élevée des toxines urémiques de faible et moyen poids moléculaire ;
- Une perte négligeable de solutés vitaux comme les protéines de poids moléculaire moyen et les acides aminés ;
- Une ultrafiltration adéquate avec un minimum de rétro filtration à taux d'ultrafiltration bas ;
- Une faible contenance du compartiment sanguin ;
- Une biocompatibilité optimale ;
- Faite de matériaux non toxiques et non thrombogénique ;
- Un faible coût.
-

A. Classification des membranes de dialyse :

Du point de vue clinique, il convient de classer les membranes de dialyse en fonction de leurs perméabilités et biocompatibilités. Plusieurs classifications ont été proposées mettant l'accent sur les performances de la membrane de dialyse.

Le tableau 1, est une approche simplifiée basée sur le flux hydraulique des membranes ainsi que la perméabilité aux protéines de grand poids moléculaire notamment la β 2microglobuline [2].

Tableau 1 : Classification des dialyseurs en fonction de la perméabilité de leurs membranes

	Bas-flux	Moyen-flux	Haut-flux	Super-flux
Coefficient d'ultrafiltration				
KUF (ml/h/mm Hg)	<10	10-20	>20	>20
Clairance de la β 2				
microglobuline plasmatique	<10	10-20	>20	>20
(ml/min)				
Perte d'albumine par 4h de				
dialyse (g)	0	0	<2	>2
Modalité thérapeutique				
préférée	HD	HD (HDF)	HD, HF, HDF	HD

HD : Hémodialyse; HF : Hémofiltration; HDF : Hémodiafiltration

B. Nature biochimique des membranes d'hémodialyse :

Une membrane de dialyse est conçue à partir de polymères qui peuvent être soit naturels ou synthétiques (Tableau 2) [3].

Tableau 2 : Classification des membranes de dialyse en se basant sur leurs natures

chimiques

Celluloses	Synthétiques
Cellulose	<ul style="list-style-type: none"> • Polyméthylméthacrylate (PMMA)
<ul style="list-style-type: none"> • Cuprophan 	<ul style="list-style-type: none"> • Acrylonitrile sodium méthallyl sulfonate (AN 69)
Cellulose régénérée	<ul style="list-style-type: none"> • Poly acrylonitrile (PAN)
<ul style="list-style-type: none"> • Hemophan 	<ul style="list-style-type: none"> • Polysulfone (PS)
<ul style="list-style-type: none"> • Diaphan 	<ul style="list-style-type: none"> • Ethyle vinyle alcool (EVAL)
Cellulose modifiée	<ul style="list-style-type: none"> • Polyamide (Polyamide)
<ul style="list-style-type: none"> • Cellulose acétate 	<ul style="list-style-type: none"> • Polycarbonate (Gambrane)
<ul style="list-style-type: none"> • Cellulose di-acétate 	
<ul style="list-style-type: none"> • Cellulose tri-acétate 	

1. Les membranes cellulosiques :

Depuis le début de l'hémodialyse et jusqu'aux années 1990, la cellulose représentait le polymère de choix utilisé dans la fabrication des membranes de dialyse. Membranes offrant une excellente clairance diffusible pour les solutés de petite taille, et presque totalement imperméables à des molécules dont le poids moléculaire est supérieur à 5000 Da (disponibles seulement sous forme de dialyseurs de faible flux).

Les membranes cellulosiques renferment de multiples groupements hydroxyle libres, à forte réactivité chimique, ce qui les classe comme membranes bio-incompatibles.

2. Les membranes cellulósiques modifiées :

Les membranes cellulósiques modifiées, appelées encore membranes semi-synthétiques, se distinguent par la substitution des groupes hydroxyles libres par d'autres molécules. La biocompatibilité membranaire est alors améliorée, toute en conservant les qualités diffusives et de résistance de la membrane [4].

3. Les membranes synthétiques :

Les membranes synthétiques sont des membranes dont les composants dérivent de la pétrochimie ; caractérisées par leur paroi épaisse, elles représentent les membranes les plus biocompatibles. Le polymère membranaire constituera la base de la membrane, et c'est lui qui va déterminer la morphologie des pores, leur taille et leur distribution. Depuis l'apparition de la première membrane synthétique nommée la RP69 (Rhône-Poulenc) [5], plusieurs membranes se sont apparues (tableau 1).

Il existe actuellement un grand nombre de membranes, une des plus couramment utilisée est la membrane Polysulfone® qui est devenue aujourd'hui une référence en hémodialyse. De nombreuses publications scientifiques ainsi que des millions de traitements dans le monde confirment l'intérêt thérapeutique de cette membrane.

C. Nanotechnologie, du Polysulfone® au Helixone® :

Les nanosciences et nanotechnologies (NST) peuvent être définies comme l'ensemble des études et des procédés de fabrication et de manipulation de structures, de dispositifs et de systèmes matériels à l'échelle du nanomètre (nm).

En hémodialyse : La nanotechnologie permet l'augmentation de la densité des pores par unité d'espace, entraînant une calibration plus régulière des pores de la membrane. Ainsi les dépenses énergétiques nécessaires au passage transmembranaire des solutés sont réduites [6]. Il a été démontré que même avec

une modification minime de la structure des pores, les transports sont considérablement modifiés.

1. Membranes en Polysulfone® :

Membrane synthétique disponible sous toutes les formes de flux connues. Elle offre une large gamme de produits (de 0,8 à 2,2 m²). Sa stérilisation se fait à la vapeur [7]. In vivo la membrane offre une biocompatibilité satisfaisante du fait d'une faible:

- Activation du complément ;
- Thrombogénicité ;
- Leucopénie ;
- Activation cellulaire par une libération minimale des cytokines.

La membrane en Polysulfone® permet aussi une épuration significative de la β 2microglobuline avec une meilleure rétention des endotoxines (tableau 3) [8].

2. Membranes en Helixone® :

Fresenius Medical Care a mis au point la membrane Helixone®, à partir de la membrane Fresenius Polysulfone®, exploitant ainsi un procédé de fabrication par la technologie Nano Controlled Spinning (NCS™). Cette technologie permet de créer une structure pure, bien définie et un profil de distribution des pores de la couche interne de la membrane en fonction de l'application requise.

Le nouveau bas flux Helixone® offre les avantages suivants :

- Ø Une taille de pore à 1.8 nm ;
- Ø Une meilleure distribution des pores ;
- Ø Une répartition homogène par unité de superficie.

L'augmentation de la taille moyenne des pores de 0,2 nm permet d'augmenter le Kuf, et l'élimination de la β 2microglobuline est améliorée du fait de l'augmentation du nombre des pores ; ce qui permet d'améliorer le coefficient de tamisage (tableau 4) [8].

Tableau 3 : Performances de la membrane de Polysulfone® In vitro

	F4HPS	F5HPS	F6HPS	F7HPS	F8HPS	F10HPS
Ultrafiltration coeff (ml/h×mmHg)	8	10	13	16	18	21
Clearance (mL/min)	200					
Urea	170	179	186	188	190	192
Creatinine	149	162	173	175	177	180
Phosphate	123	139	148	155	159	168
Vitamin B ₁₂	75	84	92	102	106	116
Clearance 300(mL/min)						
Urea	210	227	243	247	252	259
Creatinine	176	196	215	220	224	230
Phosphate	140	162	175	186	193	208
Vitamin B ₁₂	80	91	100	113	118	131
In vitro performance: Q _D =500mL/min, Q _F =0mL/min, T=37°C (EN 1283).						
Ultrafiltration coefficients: human blood, Hct 32%, protein content 6%.						
Effective surface(m ²)	0.8	1.0	1.3	1.6	1.8	2.2
Wall thickness(µm)	40/200	40/200	40/200	40/200	40/200	40/200
Priming vol.(mL)	51	63	78	96	113	132
Membrane material	Fresenius Polysulfone					
Housing material	Polypropylene					
Potting compound	Polyurethana					
Sterilisation method	INLINE Steam					
Units per box	12	12	12	12	12	12
Art.-NO.	500 704 1	500 705 1	500 706 1	500 707 1	500 708 1	500 720 1

Tableau 4 : Performances de la membrane de Helixone® : In vitro

	FX 5	FX 8	FX 10
Ultrafiltration coeff (ml/h×mmHg)	8	12	14
Clearance 200 (mL/min)			
Urea	180	191	193
Creatinine	165	178	181
Phosphate	141	160	170
Vitamin B ₁₂	88	107	121
Clearance 300(mL/min)			
Urea	228	254	261
Creatinine	200	225	231
Phosphate	164	194	210
Vitamin B ₁₂	94	120	138
In vitro performance: Q _D =500mL/min, Q _F =0mL/min, T=37°C (EN 1283).			
Ultrafiltration coefficients: human blood, Hct 32%, protein content 6%.			
Effective surface(m ²)	1.0	1.4	1.8
Wall thickness(µm)	35/185	35/185	35/185
Priming vol.(mL)	54	74	95
Membrane material	Helixone		
Housing material	Polypropylene		
Potting compound	Polyurethana		
Sterilisation method	INLINE Steam		
Form of treatment	HD		
Units per box	20	20	20
Art.-NO.	500 483 1	500 473 1	500 474 1

II. STRESS OXYDANT EN HEMODIALYSE :

A. Définition :

Décrit pour la première fois en 1985 par Seis, le terme de stress oxydant regroupe l'ensemble des altérations moléculaires et des manifestations pathologiques induites au sein d'un même organisme suite à une production accrue de radicaux libres et non contrecarrées par les systèmes de défense anti-oxydantes. Il résulte donc d'un déséquilibre entre la production des oxydants et les mécanismes de défense [9].

Dans les conditions physiologiques, la réactivité des oxydants est limitée par les défenses antioxydantes assurant ainsi le contrôle des radicaux libres, via un mécanisme de capture ou de détoxification. La toxicité des radicaux libres ne se manifeste que lors de la rupture de cet équilibre : génération excessive et/ou déficit en antioxydants. L'affinité des radicaux libres pour la plupart des structures moléculaires, leur confère une activité délétère participant ainsi à la physiopathologie de la majorité des complications à long terme du dialysé.

B. Formes réactives de l'oxygène et systèmes de défense:

1. Types et réactivité des FRO :

L'oxygène constitue une origine prépondérante de RL et se comporte comme un oxydant face à un large spectre de biomolécules, sa toxicité et celle de ses dérivés ne peut apparaître qu'en cas de concentration excessive d'oxygène moléculaire dépassant 21%.

Les principales FRO sont :

- Radicaux superoxyde $O_2^{\cdot-}$ et peroxyde d'hydrogène H_2O_2 :

Lorsque l' O_2 accepte un seul électron, il est converti en $O_2^{\cdot-}$ ou en sa forme protonée : le radical perhydroxyle (HO_2^{\cdot}). L'interaction de ces deux formes dans une réaction de dismutation catalysée par la superoxyde dismutase (SOD) entraîne la formation de peroxyde d'hydrogène H_2O_2 . Alors que l' $O_2^{\cdot-}$ peut être oxydant ou réducteur, l' H_2O_2 se comporte comme un oxydant relativement stable.

- Radicaux hydroxyles OH^{\cdot} :

A son tour, l' H_2O_2 peut être réduit en présence d'un métal pour former un radical hydroxyle OH^{\cdot} qui est un oxydant particulièrement puissant.

- L'oxygène singulet : 1O_2 .

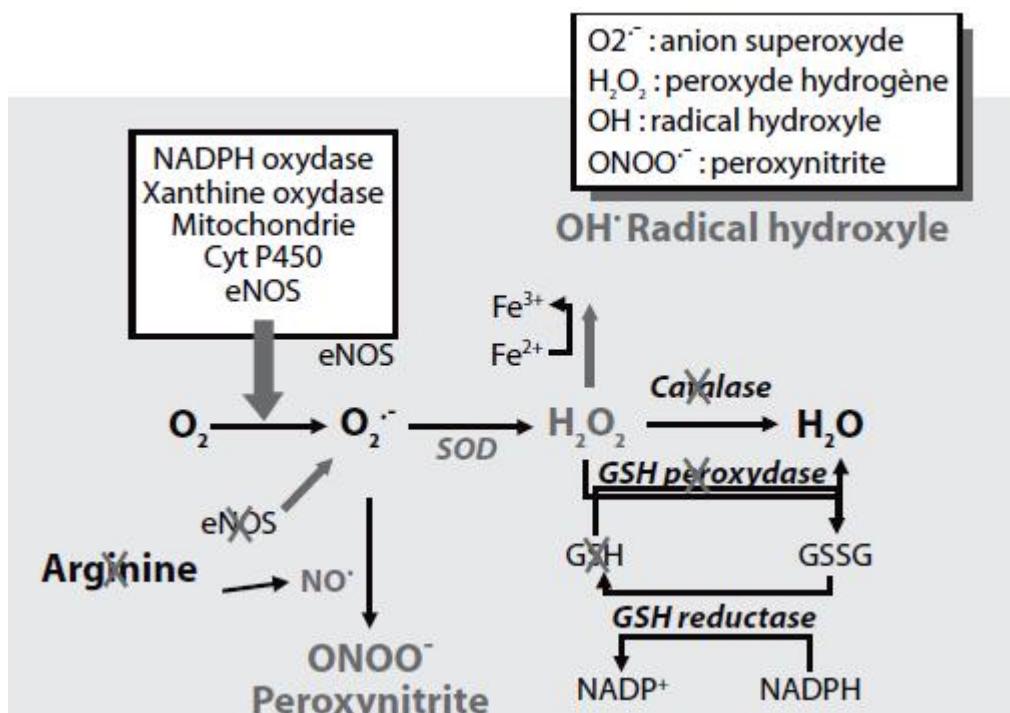


Figure 1 : Mécanismes de génération du stress oxydant (hyperproduction des FRO et déficit en mécanismes antioxydants)

2. Génération des FRO :

- Respiration cellulaire, réaction de détoxification :

Les voies de production d'O₂⁻ sont essentiellement la réduction monovalente de l'O₂ dans les mitochondries au cours de la respiration cellulaire (voie de la xanthine déshydrogénase, de la prostaglandine synthétase et de la lipoxigénase) ou des réactions de toxification des xénobiotiques (enzymes de la famille des cytochromes P450). Ces différentes voies génèrent des quantités modérées de FRO.

- Explosion métabolique des cellules phagocytaires :

L'activation métabolique oxydative ou « explosion respiratoire » (respiratory burst) des cellules phagocytaires peut conduire à une génération massive d'O₂⁻ et de ses dérivés. En effet, et pour remplir leurs fonctions essentielles dans la défense de l'organisme, les cellules phagocytaires sont douées de propriétés de migration, d'adhésion de phagocytose et de bactéricidie, et qui sont assurées par la production de FRO.

Les cellules phagocytaires utilisent la voie de la NADPH-oxydase, plusieurs sous unités du système sont membranaires et cytosoliques, et lors de l'activation cellulaire par différents agents, l'ensemble des sous unités interagissent entre elles pour produire le radical O₂⁻ . Les cellules phagocytaires ont aussi la faculté de générer des oxydants chlorés.

3. Toxicité des FRO :

La formation des FRO peut conduire à des lésions tissulaires par modification de molécules telles que les protéines, les lipides, les glucides et même le matériel génétique. Cependant il est bien admis que les lipides et en particuliers les acides gras polyinsaturés (AGPI) réalisent une cible privilégiée du stress oxydant.

- Peroxydation lipidique :

Elle représente l'événement majeur associé au SO. L'auto-oxydation des AGPI se décompose en trois étapes : l'initiation, la propagation et la terminaison [10].

Le radical hydroxyle initie la peroxydation lipidique par réaction avec les acides gras polyinsaturés des phospholipides. Le radical lipidique formé réagit avec l'O₂ pour générer un radical peroxyde ROO°, qui assure la propagation au sein des phospholipides jusqu'à terminaison de la réaction. Associée à l'atteinte des cellules endothéliales par les FRO, la peroxydation des lipoprotéines est l'un des événements clé dans l'initiation de la plaque d'athérome [11].

- Toxicité sur les protéines :

Les modifications oxydatives des protéines par les FRO peuvent être à type de :

- Formation de ponts disulfures intra ou intermoléculaires ;
- Modification de la charge électrique ;
- Perte de tryptophane ;
- Formation de di-tyrosines ;
- Formation de groupement carbonyles.

Les modifications sont irréversibles et peuvent ainsi désactiver de nombreuses protéines ce qui facilitera leurs fragmentation et leurs protéolyse.

- Toxicité sur l'ADN :

Tous les composants de l'ADN peuvent être une cible des radicaux hydroxyles. Les FRO provoquent ainsi, lorsque les mécanismes de défense de l'ADN sont débordés, de graves altérations du matériel génétique, dont des mutations qui pourraient être à l'origine de certaines pathologies tumorales.

4. Systèmes de défense antioxydante :

Un antioxydant peut se définir comme une substance présente à faibles concentrations par rapport à un substrat oxydable, permettant de retarder ou d'empêcher son oxydation (Sen, C. 1995). Les antioxydants ont la possibilité de protéger l'organisme en :

- Prévenant la formation de d'autres radicaux libres ;
- Interceptant les FRO lors de leurs attaques radicalaires ;
- Interrompant la transformation de radicaux initiaux en d'autres radicaux beaucoup plus agressifs ;
- Offrant des conditions favorables à l'activité de d'autres antioxydants.

a. Antioxydants enzymatiques :

- La superoxyde dismutase :

Elle constitue la première ligne de défense enzymatique contre l'agression oxydante en accélérant la vitesse de dismutation d'O₂⁻ en H₂O₂ [12]. La SOD limite l'accumulation d'O₂⁻ mais génère H₂O₂ et fait ainsi intervenir deux types d'enzyme : la catalase et la glutathion peroxydase (GSH-Px).

- Les catalases et glutathion peroxydase (GSH-Px) :

Principalement localisées dans les peroxysomes, les catalases sont à l'origine de la dismutation de l'H₂O₂ en H₂O et O₂.

La GSH-Px, localisée dans le cytosol et les mitochondries, réduit l'H₂O₂ (et tous les hydroperoxydes lipidiques) [13].

b. Antioxydants dépourvus d'activité enzymatique :

De nombreux antioxydants sont présents dans les membranes cellulaires (α -tocophérol ; rétinol ; ubiquinol ; carotène) et dans le cytosol (ascorbate et glutathion).

La vitamine E ou α -tocophérol est un agent antioxydant très puissant, présent dans les membranes cellulaires où elle inhibe essentiellement la propagation de la

peroxydation lipidique membranaire [14]. L' α -tocophérol se comporte comme un antioxydant tant que son radical tocophéryl est réduit par l'ascorbate ou par l'ubiquinol à l'intérieur de la membrane. En revanche lors d'un déficit en ces cofacteurs antioxydants, l' α -tocophérol se comporte comme un pro-oxydant et initie la peroxydation lipidique [15].

La vitamine C est un puissant antioxydant hydrosoluble, qui piège directement les FRO [16]. L'ascorbate peut aussi développer une activité pro-oxydante en absence de concentrations suffisantes d' α -tocophérol et/ou en présence de concentrations augmentées en ions métalliques tels que le fer ferreux Fe^{2+} [17].

Le glutathion (GSH), présent dans tous les types de cellules, est un piègeur d' H_2O_2 , OH^\bullet , O_2 et des oxydants chlorés, en formant des ponts disulfures. Le rôle protecteur de GSH dépend de la détoxification d' $O_2^{\bullet-}$ (assurée par SOD, catalase, GSH-Px) et de la régénération de glutathion oxydée (GSSG) en GSH (sous l'action de la glutathion réductase) [18].

Enfin, la cystéine, la taurine et la méthionine sont des piègeurs sélectifs de l'acide hypochloreux et des chloramines. La bilirubine, l'acide urique, le glucose et le mannitol ont la capacité de neutraliser certains oxydants.

5. Méthodes de mesure de l'activité des radicaux libres :

La détection des formes réactives de l'oxygène est très délicate en raison de leur instabilité et leur faible concentration. C'est pourquoi la plupart de travaux se réfère à des indices indirects. Néanmoins, des méthodes comme la radiolyse pulsée, par spectroscopie électronique de spin ou par chimioluminescence permettant leur détection directe. Dans les milieux biologiques on ne peut qu'évaluer l'effet oxydatif des radicaux libres sur les molécules, notamment sur les acides gras polyinsaturés.

Les méthodes de mesure indirecte les plus fréquemment utilisées prennent en compte :

- La rupture des acides gras insaturés.
- Les produits primaires de la lipoperoxydation tels que les aldéhydes (notamment le malondialdéhyde MDA), le 4-hydroxynonéal, les hydrocarbonés volatiles (éthane, pentane et éthylène), et les carbonyles.
- L'activité des enzymes antioxydantes (SOD, catalase et GSH-Px).
- La diminution des substances antioxydantes, tels les antilipoperoxydants (vitamine A, C et E), et l'oxydation du glutathion.

C. Stress oxydant chez le patient hémodialysé :

Les conditions de survenue d'un stress oxydant se trouvent pleinement réunies chez le patient urémique chronique traité par hémodialyse itérative.

1. Production accrue d'oxydants :

Le phénomène principalement décrit est la production accrue de FRO observée après activation des leucocytes au contact de la membrane de dialyse [19], mais d'autres mécanismes peuvent être associés :

- L'hémodialyse ne permet pas d'éliminer les toxines urémiques à activité pro-oxydante, qui s'accumulent dans l'organisme.
- L'accumulation d'homocystéine, dont le métabolisme entraîne la génération de H₂O₂.
- L'activation cellulaire et la forte mortalité cellulaire qui en découle entraînent la libération de métaux de transition et d'enzymes favorisant l'activité des FRO [20].

2. Déficit chronique en défense anti-oxydante :

Les patients hémodialysés présentent des concentrations en vitamines E, C et GSH diminuées [21, 22]. La vitamine C est effectivement dialysée et son élimination doit être compensée par supplémentation alimentaire. Les activités diminuées de la

vitamine E et du GSH sont expliqués par la forte concentration d'oxydants qui épuise les capacités antioxydantes de l'organisme.

3. Autres facteurs :

- Certains traitements adjuvants à l'hémodialyse pourraient favoriser le SO ; on peut citer en particulier le traitement par érythropoïétine qui a été suspectée d'aggraver l'état pro-oxydant des hémodialysés du fait d'une stimulation accrue des PNN, ou encore par le fer pouvant favoriser la formation de radical hydroxyle par la réaction de Fenton.
- Il existe aussi une production accrue de NO au cours de l'HD, à proximité du radical superoxyde, le NO peut être à l'origine de la formation du peroxy-nitrite ; puissant agent oxydant.

D. Implications cliniques du stress oxydant chez l'hémodialysé :

En agissant en synergie avec l'inflammation, le SO paraît être impliqué dans le développement des mêmes complications à long terme, y compris la malnutrition, l'amylose, l'anémie, l'athérosclérose et les complications ostéo-articulaires. Actuellement, on parle de *syndrome de stress oxydant des hémodialysés chroniques*.

1. Athérosclérose et complications :

Les complications cardio-vasculaires représentent la principale cause de morbi-mortalité chez le dialysé chronique. En effet, le taux de mortalité de cause cardio-vasculaire est 10 à 20 fois supérieur de celui de la population générale [23]. Actuellement, il a été démontré que les LDL seront oxydés par la myeloperoxydase leucocytaires, les HDL, qui doivent normalement servir comme facteur réducteur,

deviennent dysfonctionnels suite au remplacement de l'apoA1 par du sérum amyloïde A ; Ainsi les LDL oxydées deviennent athérogènes.

Plusieurs études suggèrent une relation étroite entre l'épaisseur de l'intima carotidienne et les taux plasmatiques des marqueurs du SO [24]. Les fonctions cellulaires vitales sont modulées sous l'influence du stress oxydant, entraînant ainsi une altération de l'endothélium vasculaire et pouvant expliquer la fréquence des complications cardio-vasculaires chez les hémodialysés chroniques [25].

2. Malnutrition :

La membrane de dialyse est directement impliquée dans un catabolisme protidique accéléré, durant les jours d'hémodialyse : la mesure d'acides aminés libérés au contact de la membrane, a montré une libération équivalente à la dégradation de 12 à 20 g de protéines musculaires durant 150 minutes de dialyse. Cette dégradation serait favorisée par l'activation des monocytes et la sécrétion de cytokines pro inflammatoires. Les principaux marqueurs de la dénutrition sont l'albumine, la pré albumine, le taux de l'urée et de la créatinine pré dialytiques. Yeun et al, suggèrent l'hypo albuminémie comme un puissant facteur de mortalité chez les hémodialysé chronique [26]. Le stress oxydatif pourrait ainsi jouer un rôle dans la malnutrition tel que rapporté dans le MIA syndrome [25].

3. Amylose à β 2microglobuline :

L'amylose à β 2microglobuline, ou amylose dialytique, est une des complications les plus invalidantes de la dialyse à long terme. L'accumulation et la polymérisation de cette molécule sont liées à un ensemble de circonstances particulières rencontrées lors de l'hémodialyse :

- Son métabolisme exclusivement rénal est diminué ;

- L'accumulation s'effectue tout au long de la période d'insuffisance rénale, puis durant l'hémodialyse du fait de la faible clairance dialytique de cette molécule ;
- Sa synthèse est stimulée par l'état inflammatoire persistant que provoquent l'urémie chronique et la bio-incompatibilité membranaire.
- La polymérisation de la β 2microglobuline est favorisée par la forte concentration en protéases et du fait d'une dénaturation de la protéine suite à la formation des AGEs, et dont la présence au niveau des dépôts amyloïdes a été démontré par Miyata et collègues [25].

Senji Okuno et al, ont démontré que le taux sérique de la β 2microglobuline est un facteur prédictif de mortalité chez les dialysés chroniques [25].

4. Anémie :

L'anémie est une complication assez fréquente chez les hémodialysés chroniques. En plus du déficit en érythropoïétine, par perte du principal organe de biosynthèse, le stress oxydant peut contribuer à l'aggravation de l'anémie chez ces patients ; plusieurs mécanismes sont suggérés [25]:

- Le stress oxydant raccourcie la survie des globules rouges chez les hémodialysés chroniques ; l'élévation des taux du MDA dans les érythrocytes des patients est couplée à une faible teneur des cellules en vitamine E.
- Perte des résistances mécaniques et osmotiques des érythrocytes par oxydation des lipides membranaire.
- La surcharge cellulaire en fer qui est fréquemment associée est à l'origine d'un état de pro-oxydation délétère pour les cellules [27].

III. Imagerie par résonance magnétique fonctionnelle : effet Bold

A. Introduction à l'IRM :

L'imagerie par résonance magnétique est une technique d'exploration non invasive d'imagerie médicale d'apparition relativement récente (début des années 1980) permettant d'obtenir des vues 2D ou 3D du corps vivant.

Cette technique d'imagerie se base sur le phénomène de résonance magnétique nucléaire qui comporte trois étapes: l'aimantation de l'échantillon, la résonance et la relaxation.

Il s'agit de s'intéresser au magnétisme du noyau d'hydrogène que l'on peut assimiler à des aiguilles de boussole ; celui-ci n'est constitué que d'un proton qui tourne sur lui-même et de ce fait induit un petit moment magnétique élémentaire μ . Mais, en l'absence de champ magnétique extérieur, tous ces petits moments magnétiques des protons sont orientés au hasard et leur résultante M est nulle [28].

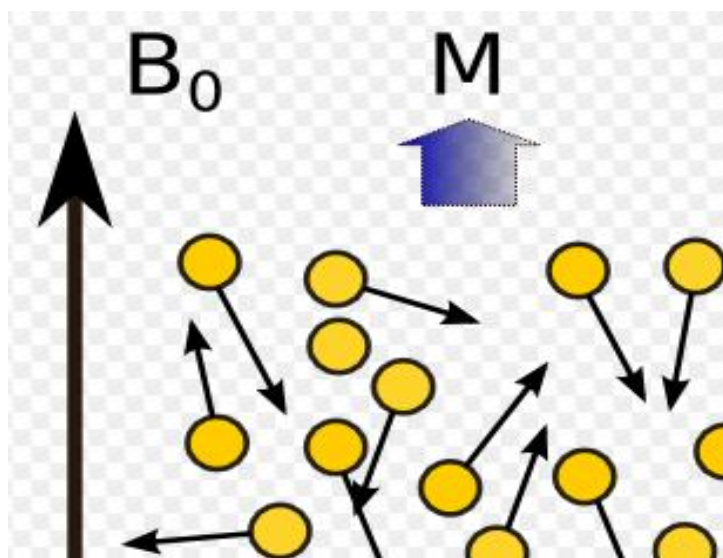


Figure 2 : Le paramagnétisme nucléaire (il provient de la polarisation M apparaissant progressivement lorsque l'échantillon est placé dans un champ magnétique).

Pour mettre en évidence les propriétés magnétiques des tissus biologiques, il est donc nécessaire de placer l'échantillon à étudier dans un champ magnétique extérieur intense et uniforme, noté B_0 . Le tissu acquiert alors, une aimantation nucléaire totale non nulle [29].

À l'équilibre, l'aimantation nucléaire totale est constante au cours du temps et sa valeur est beaucoup trop faible pour pouvoir être mesurée. On utilise donc un mécanisme de résonance pour l'amplifier.

Après l'arrêt de l'impulsion radio, l'aimantation nucléaire retourne spontanément et progressivement à sa position d'équilibre stable, parallèle à B_0 . Ce retour à l'équilibre est appelé « relaxation » [29].

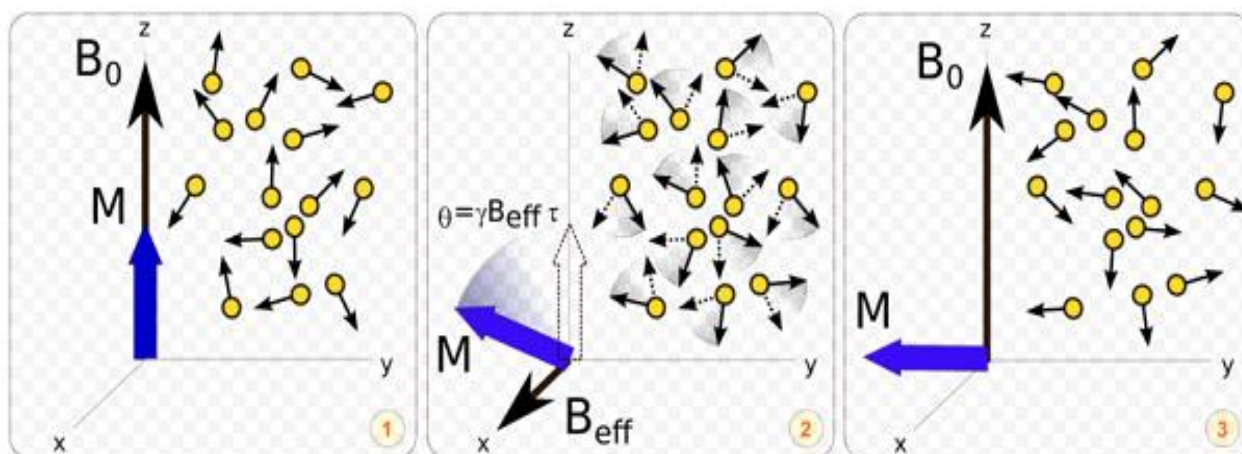


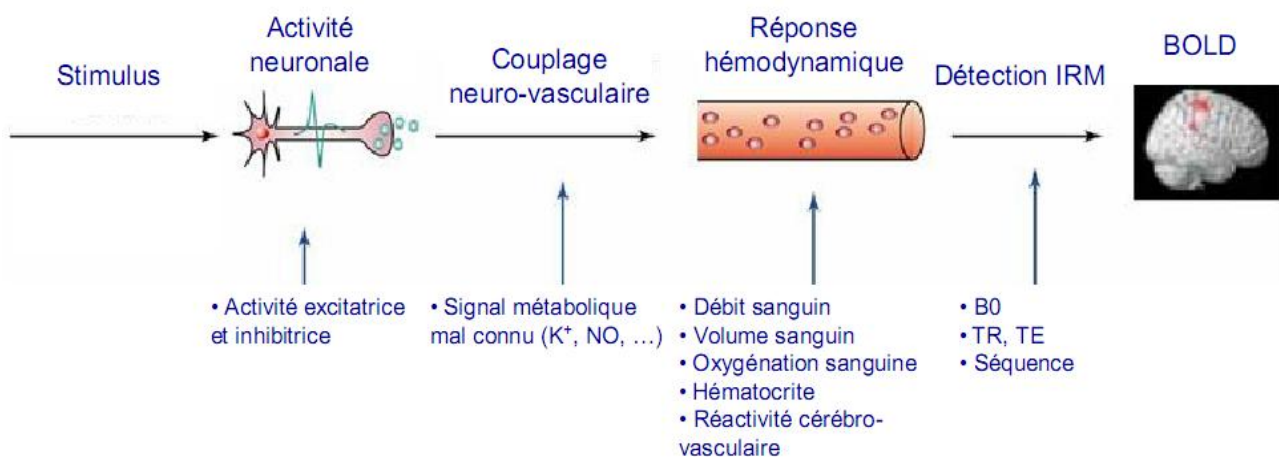
Figure 3 : Application d'une impulsion de durée t à la résonance, vue dans le référentiel tournant: 1) avant l'impulsion ($\tau = 0$); 2) impulsion de durée τ ; 3) Arrêt de l'impulsion de durée τ telle que l'aimantation a basculé de 90° .

L'analyse du signal ne peut être obtenue qu'en effectuant un « traitement de signal ». Celui-ci consiste à étudier le signal, non plus en fonction du temps mais en fonction de la fréquence, par l'intermédiaire d'une opération mathématique appelée « transformation de Fourier » qui permet d'obtenir le « spectre » du signal, c'est-à-dire

l'ensemble des fréquences du signal ; ainsi on obtient une image interprétable qui contient l'information anatomique et physiologique [28].

B. Phénomène BOLD :

En utilisant le contraste BOLD (blood oxygenation level dependent), l'IRMf permet de suivre les modifications hémodynamiques induites par l'activité neuronale lors de la réalisation de tâches cognitives ; elle présente l'avantage d'être sensible à de très faibles variations locales de la concentration sanguine en oxygène, d'être non invasive et d'avoir une bonne résolution spatiotemporelle [30].



D'après *Arthurs & Boniface. Tren Neurosci 2002*

Figure 4 : Schéma général des différents processus physiologiques impliqués dans l'IRMf BOLD

L'activité neuronale entraîne une augmentation du métabolisme cérébral et de la consommation d'oxygène (afin d'adapter les besoins accrus en glucose et en oxygène du cortex activé). Cela conduit à une diminution précoce de la

concentration en oxyhémoglobine et à une augmentation de la déoxyhémoglobine : c'est le couplage neuro-vasculaire [31].

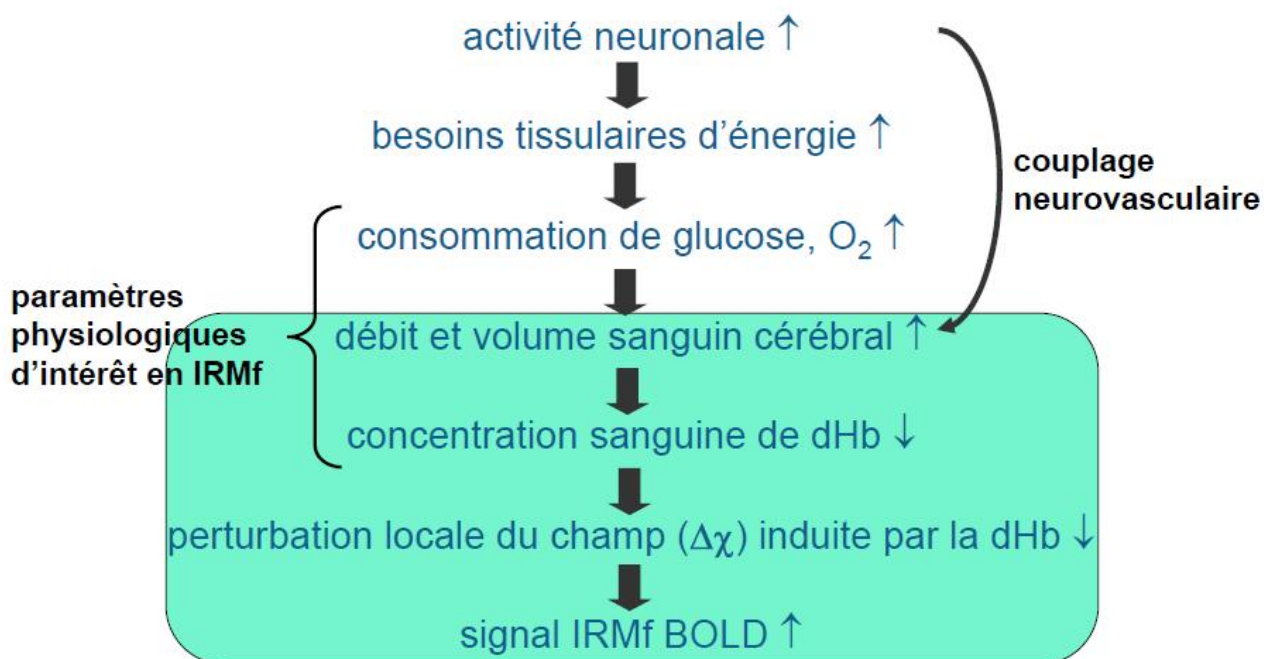


Figure 5 : Schéma explicatif du couplage neurovasculaire à l'origine du signal BOLD en IRMf

L'IRMf utilise comme agent de contraste une substance endogène qui est l'hémoglobine contenue dans les érythrocytes. Cette hémoglobine constitue un marqueur intrinsèque de l'oxygénation. Soumise à un champ magnétique statique, l'hémoglobine présente des propriétés magnétiques qui diffèrent selon qu'elle est liée ou non à l'oxygène moléculaire :

- O₂ lié au Fe²⁺ (oxyHb) : tous les électrons du Fe sont appariés et il n'y a pas de perturbation du champ magnétique environnant (hème diamagnétique).
- Absence d'O₂ (désoxyHb) : les quatre électrons du Fe sont non appariés et il y aura une génération d'un champ magnétique supplémentaire par ces électrons (hème paramagnétique).

La réponse précoce de l'activité neuronale est rapidement masquée par l'augmentation du débit sanguin cérébral, qui induit un apport exagéré en oxyhémoglobine. Comme l'augmentation de l'oxyhémoglobine surpasse l'augmentation de la concentration en déoxyhémoglobine, le rapport oxyhémoglobine/déoxyhémoglobine se modifie et augmente légèrement. Or, la déoxyhémoglobine se comporte comme un agent paramagnétique. En modifiant l'homogénéité du champ magnétique intra et périvasculaire, la déoxyhémoglobine diminue le signal de précession émis (principalement T2) et constitue un véritable agent de contraste endogène. Ainsi, en réponse à l'activité neuronale, la diminution de la concentration en déoxyhémoglobine s'accompagne d'une augmentation de signal [32].

OBJECTIFS DU TRAVAIL

Notre étude s'est intéressée aux 86 patients hémodialysés chroniques du centre d'hémodialyse du CHU Hassan II de Fès.

L'objectif du travail est de :

- Confirmer l'existence d'un stress oxydant induit par l'hémodialyse chronique influencé par la biocompatibilité membranaire.
- Etudier l'impact du changement de la membrane d'hémodialyse sur les paramètres du stress oxydant, en comparant deux types de membranes : Polysulfone® versus Hélixone® en se basant sur des paramètres biologiques et radiologiques.
- Etablir une corrélation entre les résultats biologiques et IRMf-BOLD dans l'évaluation du stress oxydant chez la population des hémodialysés chroniques.

PATIENTS, MATÉRIELS ET MÉTHODES

I. Types de l'étude

Il s'agit d'une étude prospective qui a concerné 86 patients hémodialysés chroniques du centre d'hémodialyse du CHU Hassan II de Fès (entre Octobre 2009 et Février 2010).

II. Patients et modalités d'hémodialyse

Dans notre étude, ont été inclus les patients hémodialysés depuis plus de six mois, de sexe masculin, âgés de plus de 15 ans et dont le profil sérologique hépatite virale C, B et VIH est négatif.

Ont été exclus de l'étude les patients avec une CRP > 6 ou qui avaient un antécédent d'hospitalisation ou d'épisode infectieux dans les 15 jours précédant le début de l'étude.

Les patients inclus dans l'étude ne recevaient pas de traitement par érythropoïétine ou par fer injectable durant toute la période de l'étude.

Les caractéristiques démographiques et cliniques analysés sont : l'âge, la néphropathie initiale, la durée de traitement par hémodialyse.

Nous avons obtenus les consentements éclairés des patients participants dans le travail (voir annexe).

Tous les patients étaient dialysés à raison de trois séances par semaine par des membranes en Polysulfone®(F6HPS), puis en Hélixone®(Fx8).

Les bains utilisés sont des bains en bicarbonates, les débits de pompes sanguines sont supérieurs à 300ml/min et le Kt/V > à 1,2.

L'anti coagulation utilisée est à base d'héparine sodique, la dose administrée est identique pour chaque patient le long de toute l'étude.

III. Description de l'étude

Notre travail est mené en impliquant les services de :

- Néphrologie hémodialyse du CHU Hassan II de Fès,
- Pharmacologie de la Faculté de Médecine,
- Biophysique et Méthodes d'IRM Clinique de la Faculté de Médecine,
- Radiologie et Imagerie Médicale du CHU Hassan II

Nos volontaires bénéficieront d'un bilan biologique et d'un examen radiologique (IRMf cérébrale).

Nous avons procédé à la sélection de nos volontaires que nous avons instruits sur le but de notre travail et les étapes qu'ils vont suivre au cours de la réalisation des examens IRMf afin d'accomplir l'étude. Nos sujets sélectionnés selon les critères définis ci-dessous ont bénéficié de deux examens biologiques et de deux examens d'IRMf cérébrales. Le premier examen (correspondant à un bilan biologique et à une exploration radiologique) est réalisé avant la séance d'hémodialyse ; un second examen est élaboré après la même séance d'hémodialyse.

Chaque test a été réalisé d'abord sous une membrane en Polysulfone® F6HPS (qui était d'usage selon le protocole d'hémodialyse accrédité par le ministère de santé); par la suite, les membranes étaient immédiatement substituées par des membranes en Hélixone® Fx8 et après six semaines d'hémodialyse sous le deuxième type de membrane, les tests ont été renouvelés de la même manière.

IV. Matériels et méthodes :

A. Etude biologique

Pour chaque patient on a réalisé deux prélèvements de sang sur flacon EDTA (avant et immédiatement après la séance d'hémodialyse)

- 1^{er} prélèvement : destiné à la réalisation du bilan biologique trimestriel comprenant les dosages de la créatinine, l'urée, l'acide urique, l'albumine, la CRP, la vitesse de sédimentation (VS), calcium, phosphore, la β 2microglobuline et de la ferritinémie. Les bilans étaient réalisés grâce à des automates de types *Olympus AU640/AU400* au sein du laboratoire central d'analyses biologiques du CHU Hassan II-Fès.
- Le 2^{ème} prélèvement : correspond au sérum des patients qui sera stocké à -80°C , pour le dosage des marqueurs de SO (MDA et Activité anti-oxydante totale). Le dosage des marqueurs du SO au niveau de tous les échantillons a été réalisé le même jour (deux fois de suite, le résultat final est la moyenne des deux dosages).

Le dosage du MDA était réalisé par la méthode des TBARS (voir Annexe).

Le dosage de l'AAOT était réalisé par un kit spécial (voir annexe).

La mesure de la DO du marqueur de la peroxydation lipidique «MDA» à 532nm et de l'activité antioxydante totale « AAOT» à 600nm était réalisée par un spectrophotomètre de type JASCO V-530, au laboratoire de pharmacologie à la faculté de médecine et de pharmacie de Fès.

B. Etude radiologique :

Toutes les acquisitions de l'IRM ont été réalisées grâce à un Imageur supraconducteur avec une puissance magnétique de 1.5T (signa, General Electric, Milwaukee, Etat Unis).



Figure 6 : Image de l'appareil d'IRM au sein du service de radiologie de CHU Hassan II de Fès.

Les images d'IRMf-BOLD ont été acquises au sein du service de radiologie du CHU Hassan II Fès avant et après hémodialyse, afin d'évaluer l'évolution du stress oxydant chez ces patients.

Pour répondre aux contraintes de résolution temporelle et de sensibilité T2*, les séquences d'IRM fonctionnelle sont en général de type écho planar ultra-rapide (EG-EPI), avec des matrices de petite taille.

Les paramètres d'acquisition sont les suivants :

- Epaisseur de coupe (mm): 5
- Orientation de coupe: Axial
- Nombre de coupe: 31
- Temps d'acquisition d'un volume : 3second

- Nombre de volume: 60
- Temps de Répétition [TR]=3000 ms
- Temps d'écho [TE, ms]=55
- FOV "field of view" : 240

Le contraste BOLD obtenu est très faible, il est donc nécessaire de répéter les acquisitions dans le temps. La séquence des tâches et leur mode de répétition constituent le paradigme d'activation, il y a 2 types :

*Paradigme événementiel : dont les activités ou stimuli sont uniques ou présentés en courtes répétitions, avec un enchaînement qui peut être semi-aléatoire ;

*Paradigme en bloc : où les activités sont organisées en bloc de quelques dizaines de secondes qui alternent à intervalles réguliers, et c'est ce dernier qui a été pratiqué lors de notre étude, les images sont réparties pour avoir 10 volumes d'images dans chaque phase du paradigme :

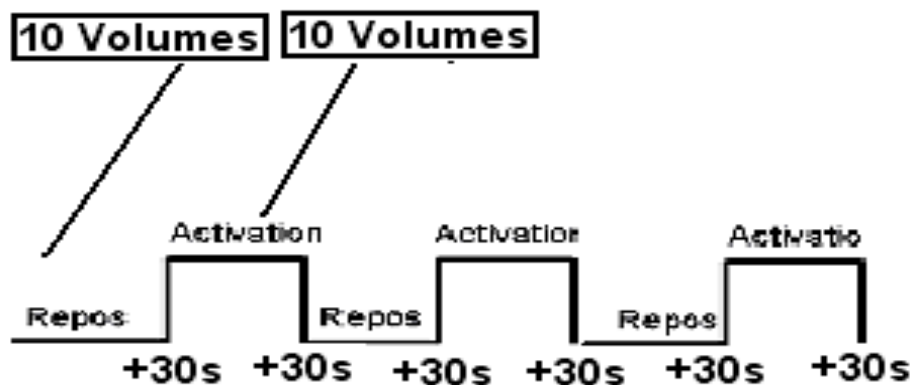


Figure 7: Paradigme exploité lors des acquisitions IRM

Traitement des images et calcul d'activation :

Les images brutes d'IRM fonctionnelle doivent subir plusieurs étapes de traitement critiques avant de délivrer l'information (indirecte) d'activation cérébrale, pour cela nous avons utilisé le logiciel SPM8.

Ø Conversion des données :

Les images brutes sont de forme DICOM (Digital Imaging and Communications in Medicine), or le programme SPM ne fonctionne, pour le moment, qu'avec des données au format Analyze, d'où la nécessité de les convertir en cette format par le logiciel lui-même via la boîte Dicom Import.

Ø Etapes de traitement par SPM8 :

1- La correction des décalages temporels entre coupes 'Slice timing' :

La prise des coupes dans un volume cérébrale n'est pas instantanée, chaque coupe est décalé d'un certain temps, le logiciel SPM8 essaye de ramener par interpolation temporelle la prise des coupes à un instant commun pour toutes les coupes, cet instant correspond à une coupe qu'on qualifie de référence.

2- Réalignement :

Cette étape est indispensable en IRMf quelque soit le protocole, car sinon une activité de type auréole autour de la tête peut apparaître sur les cartes d'activations.

Lors des acquisitions des images, les patients peuvent bouger entre les scans, ce qui provoque des erreurs dans les informations et des artefacts au niveau de l'image. Cette étape est faite pour ajuster les voxels sur les images acquises avec leurs emplacements exacts au niveau de cerveau.

3- Recalage 'coregistration':

Le principe du recalage consiste à choisir une image de référence au sein de la série temporelle acquise, et à corriger le déplacement des autres images de la série par rapport à elle.

4- Normalisation spatiale :

L'objectif est de plonger toutes les images anatomiques et fonctionnelles des sujets dans un espace ou "template" commun (repère du Montreal Neurological Institute ou MNI, proche de celui de l'atlas de Talairach). Ceci permettra par la suite de déterminer les coordonnées des zones activées dans un repère commun, et donc de comparer des activations entre les différents sujets.

5- Lissage spatiale (smooth) :

Sert pour 3 raisons, elle lisse les variabilités anatomiques inter-individuelles qui restent après l'étape de normalisation, augmente le rapport signal sur bruit, et finalement elle permet d'appliquer un filtrage gaussien, et ainsi avoir une compatibilité des données avec la théorie des champs gaussiens. Enfin, le logiciel applique en chaque voxel un test de t-student pour évaluer la présence du signal. L'intensité du signal peut être lue directement sur des images 2D comme montré sur la photo dans la page suivante, alors que le calcul du volume d'activation se fait grâce à un autre logiciel nommée image J.

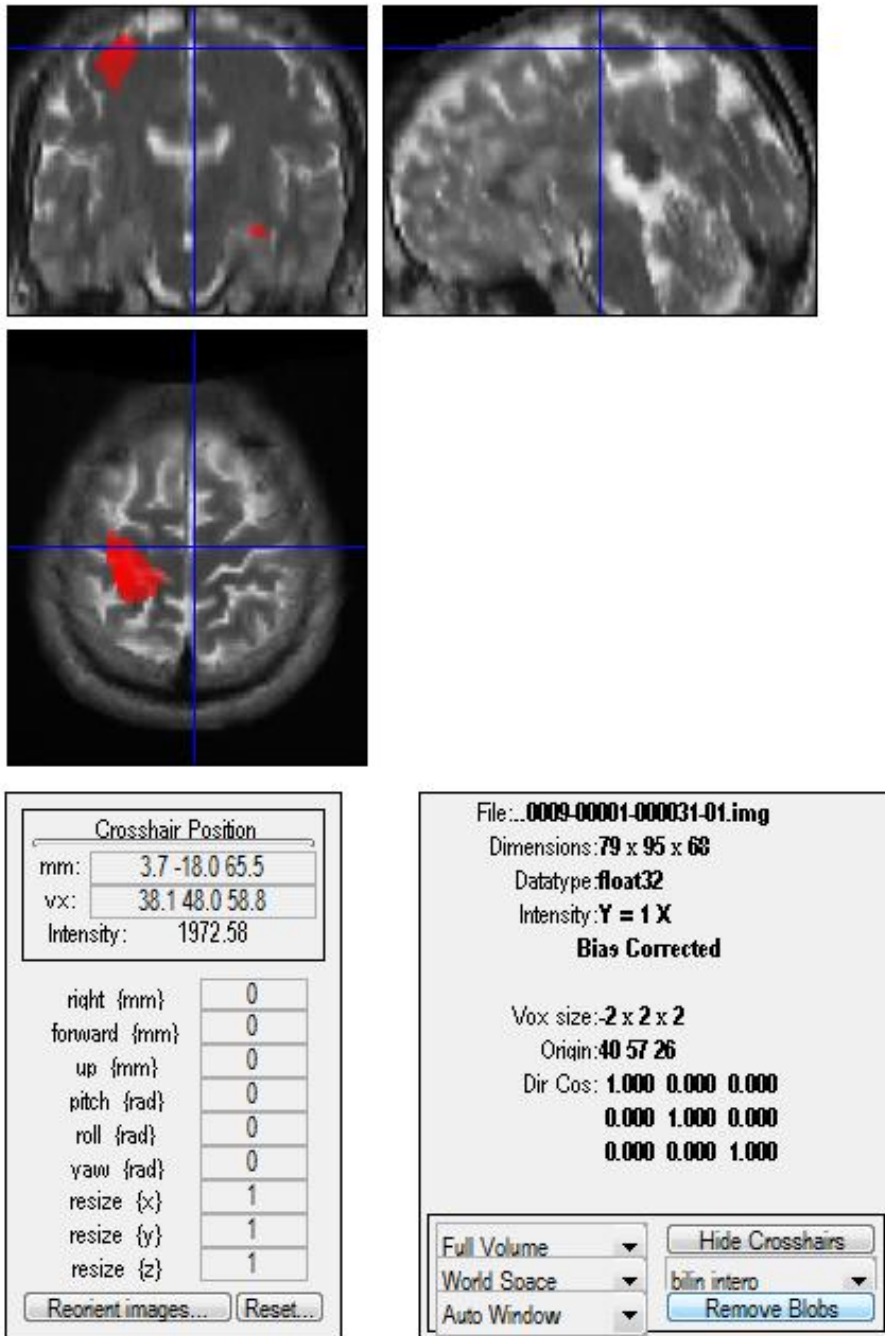


Figure 8 : Détermination de l'intensité du signal cérébral par le logiciel SPM8

C. Analyse statistique :

Les données recueillies sont exploitées par les logiciels Excel (version 2003) et SPSS

Les résultats ont été exprimés en moyenne \pm l'erreur standard à la moyenne (SEM).

L'analyse statistique réalisée par le logiciel «IBM SPSS Categories Mai 2010, USA» a été menée avec l'analyse de variance (ANOVA) à un facteur, test t apparié pour comparer les valeurs avant et après dialyse, test non paramétrique de Wilcoxon, et test de Fisher qui permet de tester l'égalité des variances.

La significativité statistique est obtenue lorsque p est inférieur à 0,05.

RESULTATS

I. Caractères généraux de la population de l'étude :

Parmi les 86 hémodialysés chroniques du centre de dialyse du CHU Hassan II de Fès, 12 patients répondaient aux critères d'inclusion.

La moyenne d'âge de nos patients est de $31,5 \pm 8$ ans. Les extrêmes d'âge se situent entre 15 ans et 45 ans (figure 9).

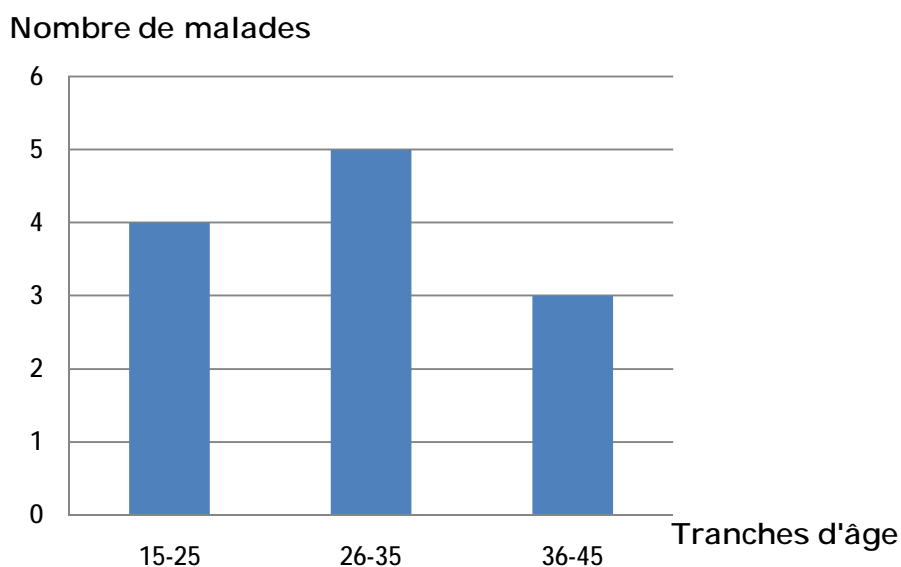


Figure 9: Age des patients inclus dans l'étude

La durée moyenne d'hémodialyse chez nos patients est de $48,58 \pm 25$ mois.

La néphropathie initiale était indéterminée chez la moitié de nos patients (Figure10) ;

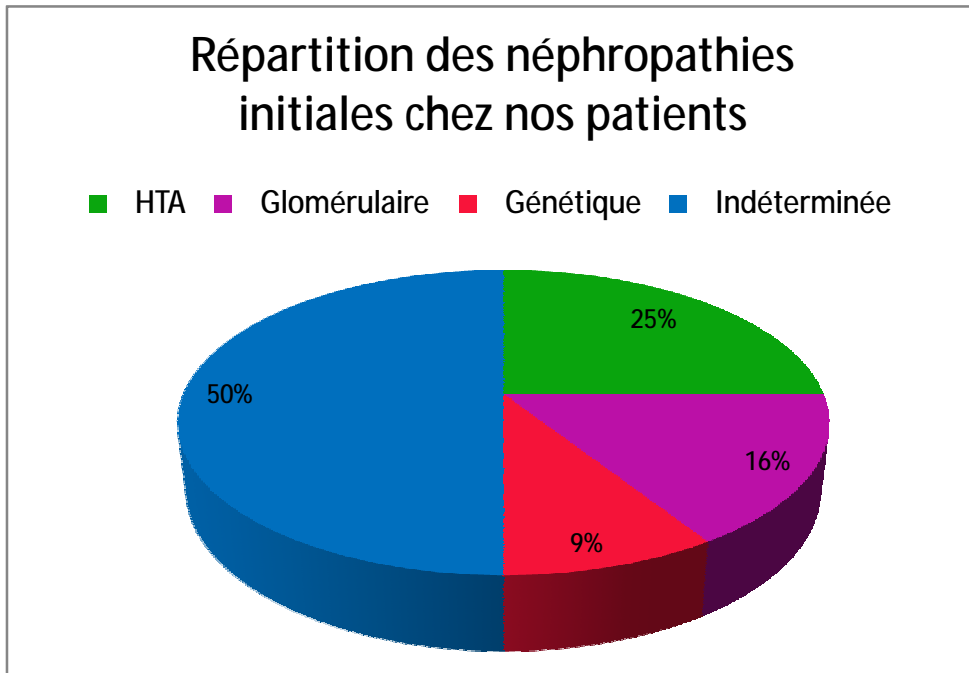


Figure 10 : la répartition des étiologies de l'insuffisance rénale chronique terminale des hémodialysés inclus dans l'étude

II. Résultats de l'étude biologique :

A. Bilan trimestriel :

1. Sous membrane en Polysulfone® :

L'analyse du bilan biologique a objectivé une baisse significative des paramètres reflétant les capacités épurative de la membrane F6HPS (figure 11) avec réduction de:

- L'urée de $1,17 \pm 0,28$ à $0,45 \pm 0,16$ g/L (p 0,0001).
- La créatinine de $120,25 \pm 23,37$ à $48,33 \pm 14,24$ mg/L (p 0,00001).
- La phosphorémie de $55,91 \pm 12,4$ à $29,5 \pm 8,07$ mEq/L (p 0,00001).
- La kaliémie de $4,77 \pm 0,73$ à $3,81 \pm 0,99$ mEq/L (p 0,00001).

La variabilité des taux de calcémie restait non significative, bien qu'elle avait tendance à l'augmentation vue l'utilisation de bain riche en calcium.

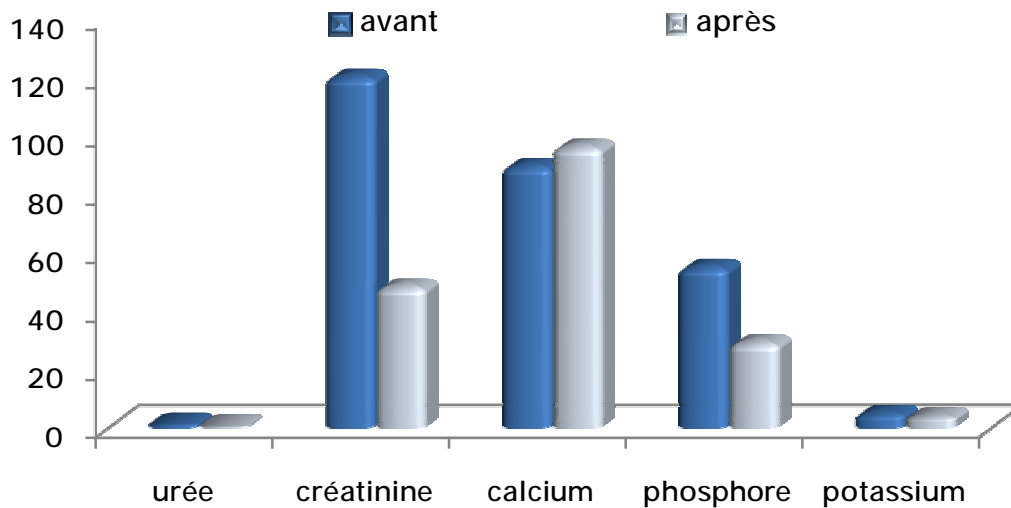


Figure 11 : Résultats du bilan biologique standard avant et après hémodialyse sous membrane en Polysulfone®

2. Sous membrane en Helixone® :

L'analyse du bilan biologique a objectivé une réduction significative des paramètres biologiques mesurés sous membrane en Helixone® (figure 12) ; on assiste alors à une baisse de :

- L'urée de $1,34 \pm 0,27$ à $0,34 \pm 0,22$ g/L (p 0,00001).
- La créatinine de $123,25 \pm 23,97$ à $41,33 \pm 21,24$ mg/L (p 0,00001).
- La phosphorémie de $66,25 \pm 28,24$ à $30,66 \pm 13,17$ mEq/L (p 0,00001).
- La kaliémie de $4,90 \pm 0,70$ à $3,54 \pm 0,78$ mEq/L (p 0,00001).

La variabilité des taux de calcémie, bien qu'elle avait tendance à l'augmentation, restait là aussi non significative.

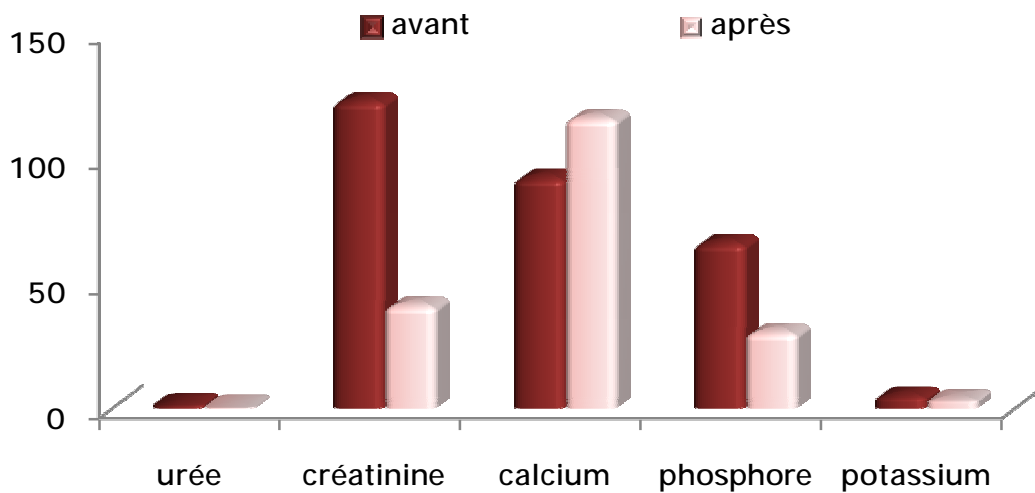


Figure 12 : Résultats du bilan biologique standard avant et après hémodialyse sous membrane en Helixone®.

3. Comparaison entre les deux types de membranes :

Afin de comparer les performances épuratives de chaque membrane, nous avons calculé les différences entre les paramètres biologiques avant et après hémodialyse sous chaque membrane.

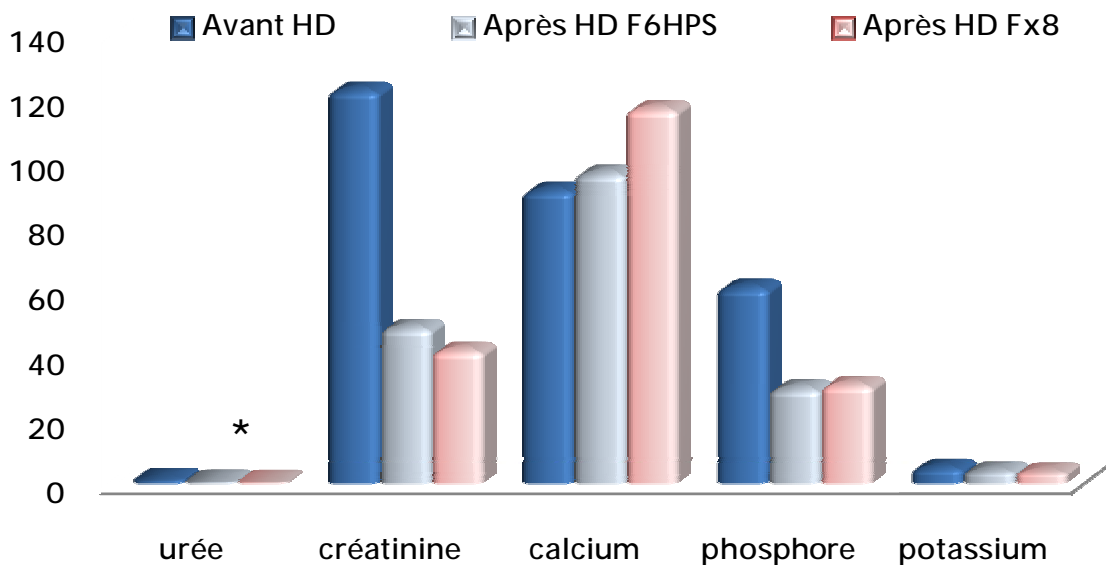


Figure 13 : Différence entre les deux types membranaires au niveau du bilan biologique standard (* p 0,036)

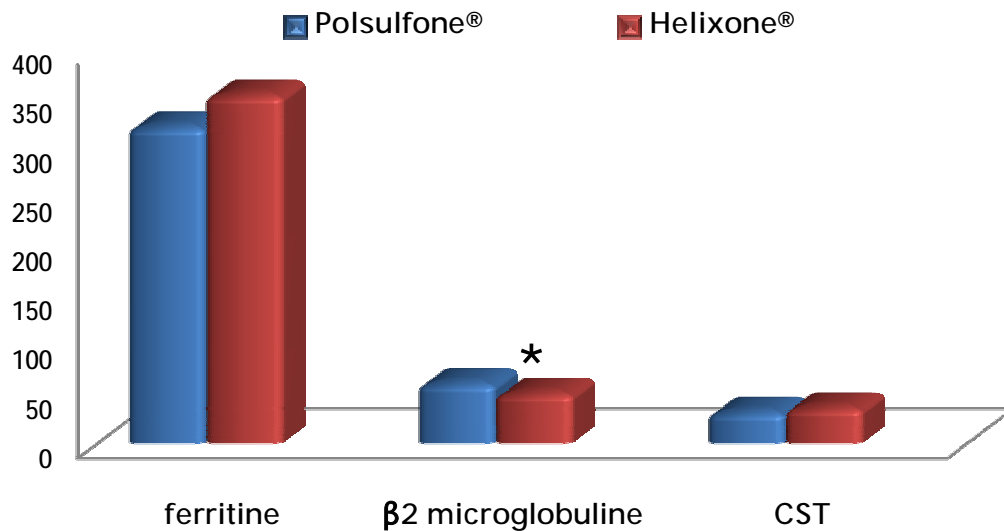


Figure 14 : Différence entre les deux types membranaires au niveau du bilan biologique standard (* $p < 0,05$).

Mis à part le taux d'épuration élevé de l'urée ($p = 0,036$) et de la $\beta 2$ microglobuline ($p = 0,029$) avec la membrane en Helixone®, l'analyse comparative n'objective pas de différence significative entre les deux membranes concernant le bilan biologique standard (Figure 13 et 14).

B. Paramètres du stress oxydant :

1. Sous membrane en Polysulfone® :

Après hémodialyse on assiste à une élévation significative des taux de CRP ($5,91 \pm 0,66$ VS $6,83 \pm 1,19$ mg/L ; $p = 0,020$) et de MDA ($3,29 \pm 1,48$ VS $12,33 \pm 1,071$ μ molaire ; $p = 0,008$).

L'acide urique baisse de $66,33 \pm 5,84$ mg/L à $15,75 \pm 10,5$ mg/L ($p = 0,0001$).

La concentration en AAOT est plus basse après la séance d'HD ($3,50 \pm 0,61$ VS $2,59 \pm 0,25$ micromolaire ; $p = 0,029$).

Les variations des taux de l'albumine sont non significatives (Figure 15).

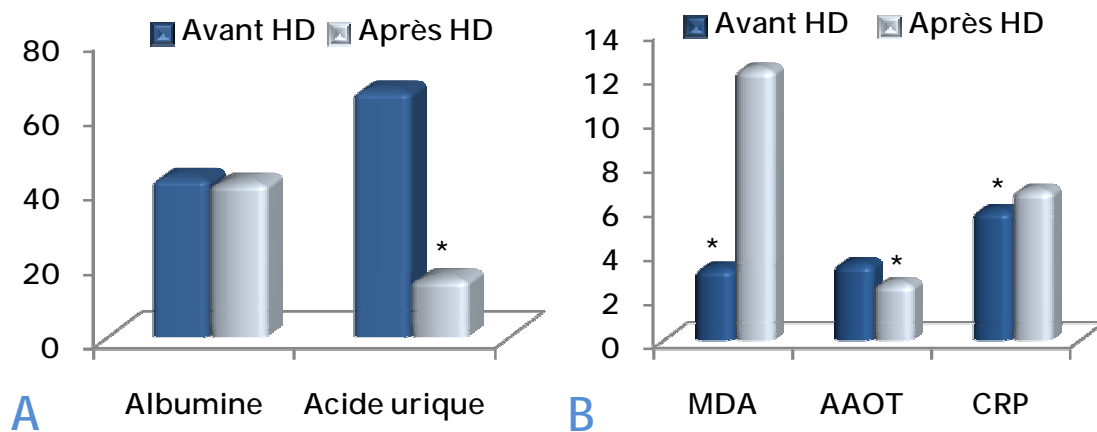


Figure 15 : Variations des concentrations des marqueurs du stress oxydant (A : acide urique et albumine ; B : MDA, AAOT et CRP) avant et après hémodialyse sous membranes en Polysulfone® (* p < 0,05)

2. Sous membrane en Helixone® :

Les résultats correspondent à une baisse des taux d'acide urique ($72,33 \pm 15,67 \text{ mg/L}$ VS $15,50 \pm 12,40 \text{ mg/L}$ $p < 0,0001$) et de l'AAOT ($3,60 \pm 0,22 \text{ milimolaire}$ VS $3,18 \pm 0,29 \text{ milimolaire}$ $p < 0,0001$).

Sous membrane en Helixone®, les variations des concentrations de l'albumine, de $41,58 \pm 3,27 \text{ g/L}$ à $47,21 \pm 5,09 \text{ g/L}$, et des concentrations du MDA, de $3,44 \pm 0,57 \text{ } \mu\text{molaire}$ à $8,82 \pm 7,44 \text{ } \mu\text{molaire}$, sont significatives ($p < 0,0001$ et $p 0,029$ respectivement).

Il paraît que l'hémodialyse sous membrane en Helixone®, n'a aucun effet sur les variations de la CRP (Figure 16).

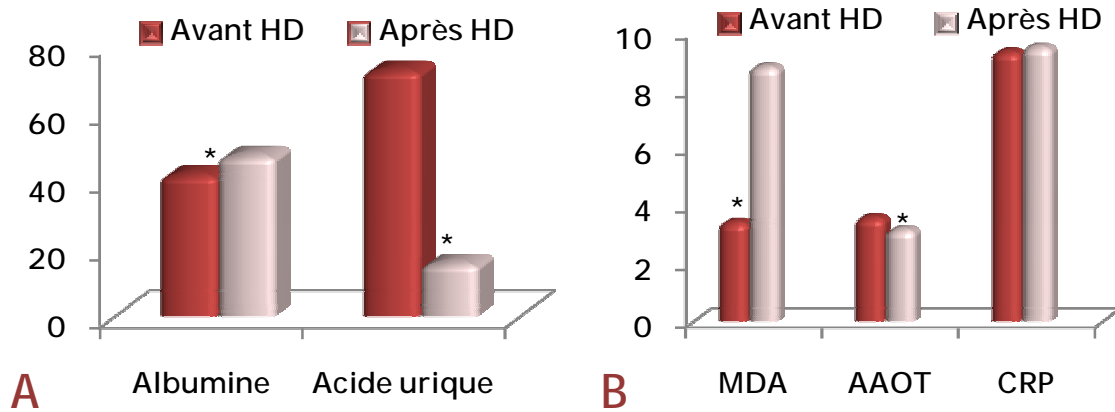


Figure 16 : variations des concentrations des marqueurs du stress oxydant sous membrane en Helixone® (A : albumine et acide urique ; B : MDA, AAOT et CRP) avant et après hémodialyse (* p < 0,05)

3. Comparaison entre les deux types de membranes :

Le changement de membrane d'hémodialyse paraît ne pas influencer les variations des taux de CRP et d'acide urique. Il paraît cependant influencer significativement les taux des autres marqueurs du stress oxydant (Figure 17).

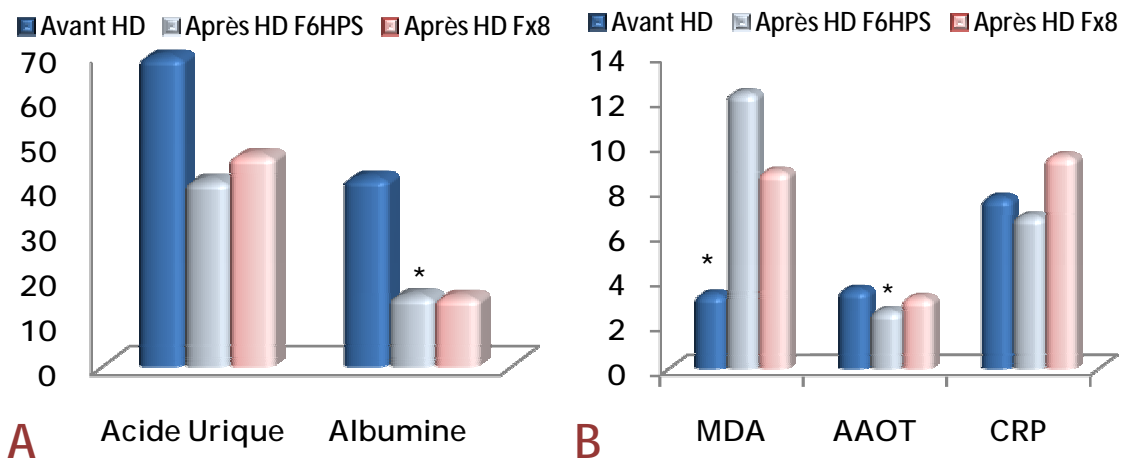


Figure 17 : comparaison des marqueurs du stress oxydant sous les deux types de membranes d'hémodialyse (A : albumine et acide urique ; B : MDA, AAOT et CRP) avant et après hémodialyse (* p < 0,05).

III .Résultats de l'étude radiologique :

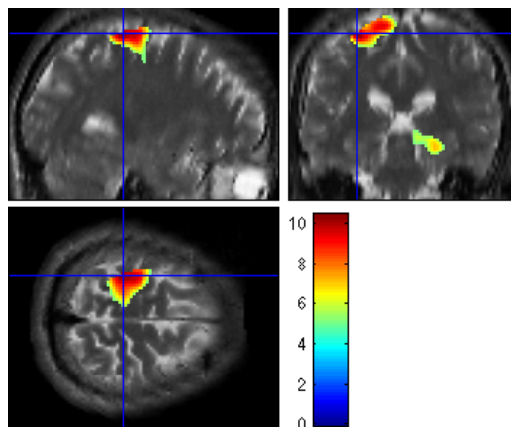
La superposition des différentes images fonctionnelles contrastées sur les images anatomiques correspondantes permet de localiser les aires impliquées dans la réponse motrice de la main pour tous les patients soumis au même protocole. L'activation est observée dans une région localisée au niveau du cortex de l'hémisphère controlatéral à la main sollicitée qui est l'aire motrice. Les images sont présentées en format 2D à trois vues du cerveau (sagittal, coronal, et axial) ; La carte d'activation superposée à l'image choisie est affichée et une échelle de couleur de type "fer chaud" indique la valeur statistique : rouge pour les valeurs les plus faibles jusqu'au jaune et au blanc pour les valeurs les plus élevées.

A. Sous membrane en Polysulfone® :

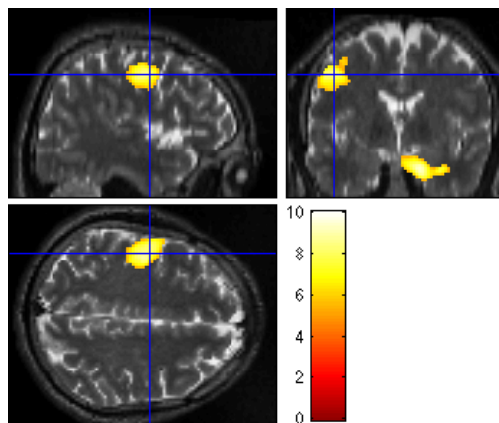
1. Résultats qualitatifs :

Activation du cortex moteur en 2D :

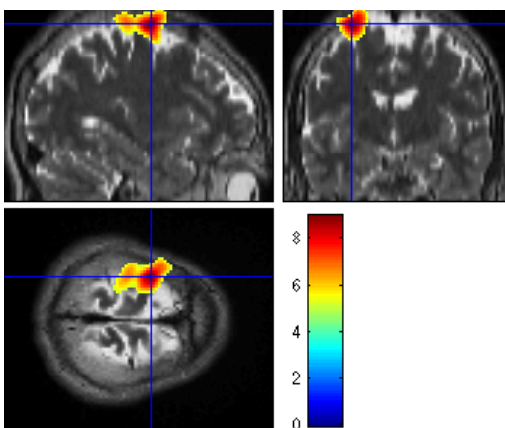
Patient 1: avant hémodialyse



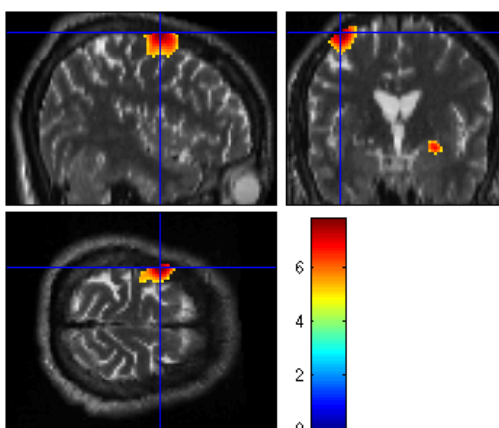
après hémodialyse



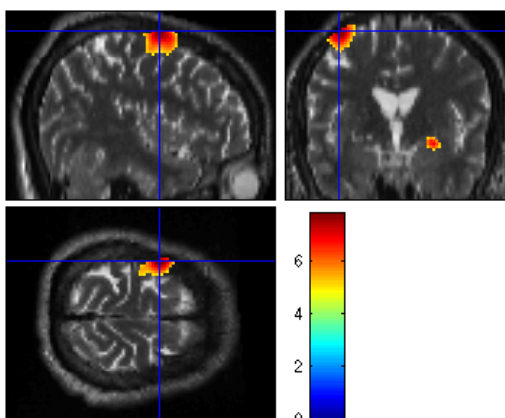
Patient 2: avant hémodialyse



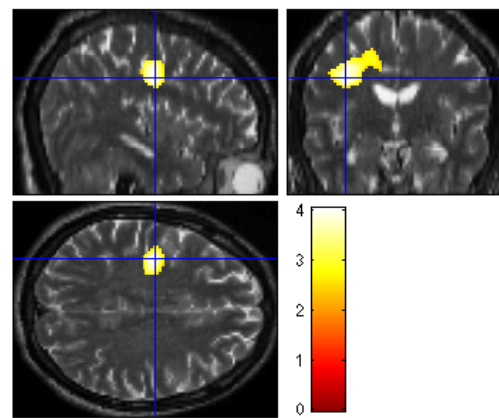
après hémodialyse



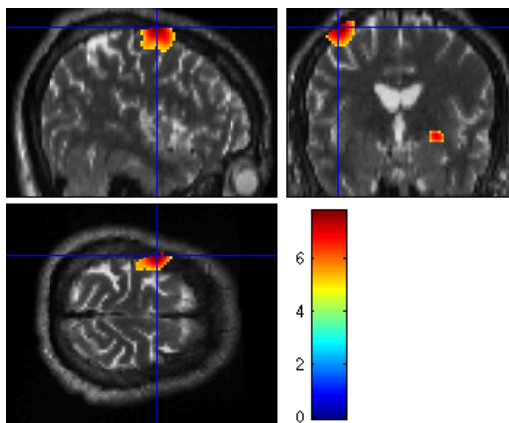
Patient 3: avant hémodialyse



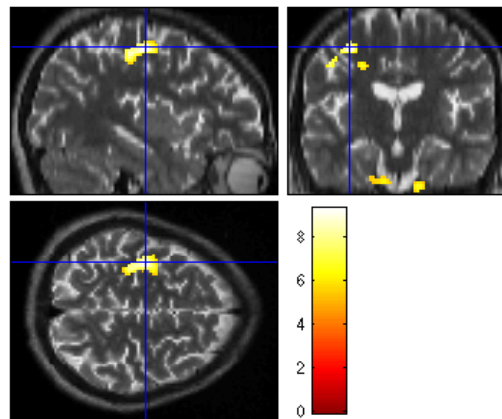
après hémodialyse



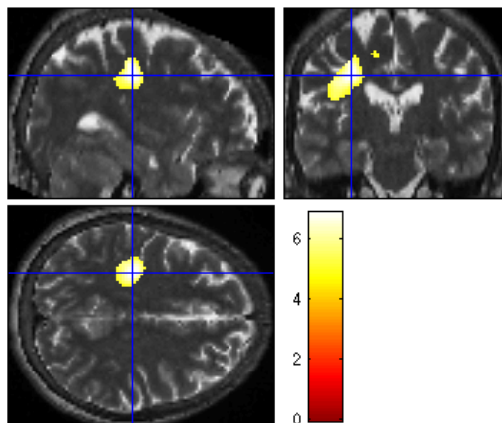
Patient 4: avant hémodialyse



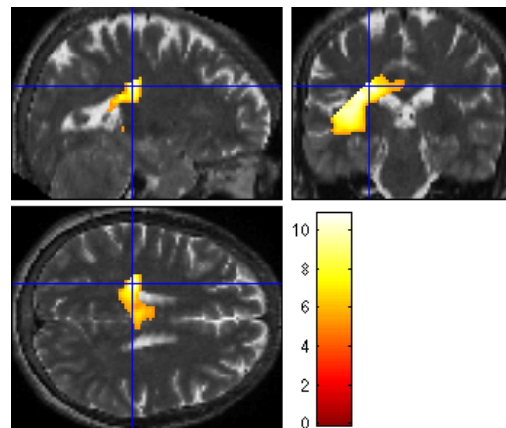
après hémodialyse



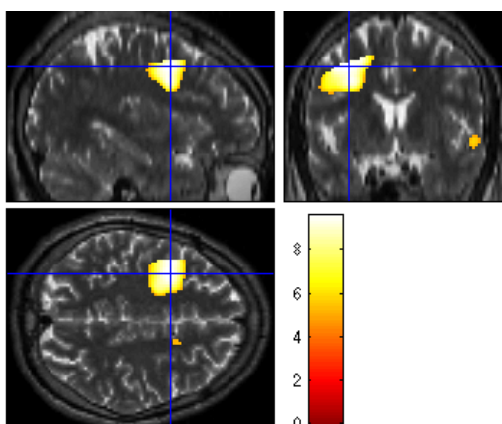
Patient 5: avant hémodialyse



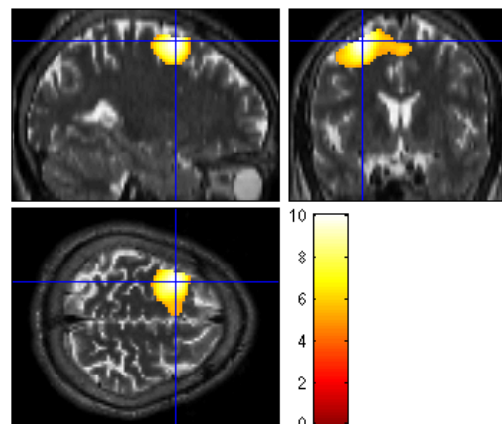
après hémodialyse



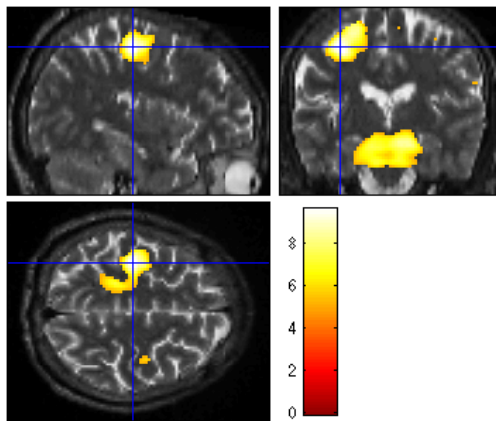
Patient 6: avant hémodialyse



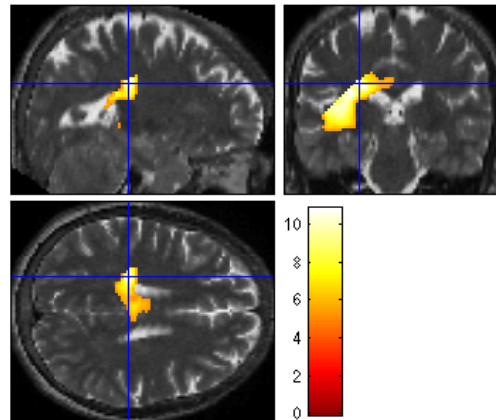
après hémodialyse



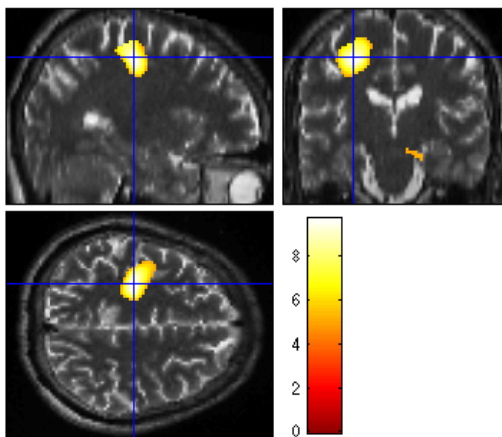
Patient 7: avant hémodialyse



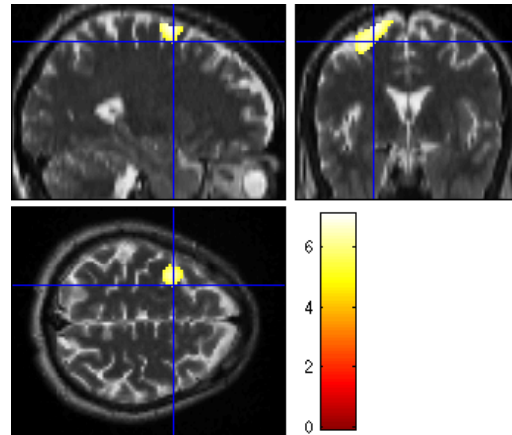
après hémodialyse



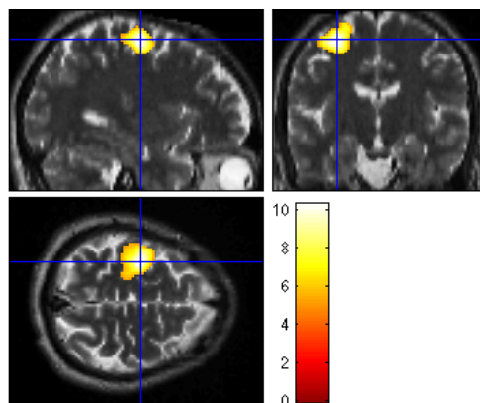
Patient 8: avant hémodialyse



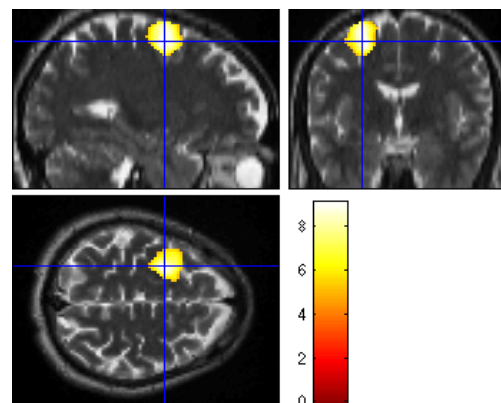
après hémodialyse



Patient 9: avant hémodialyse



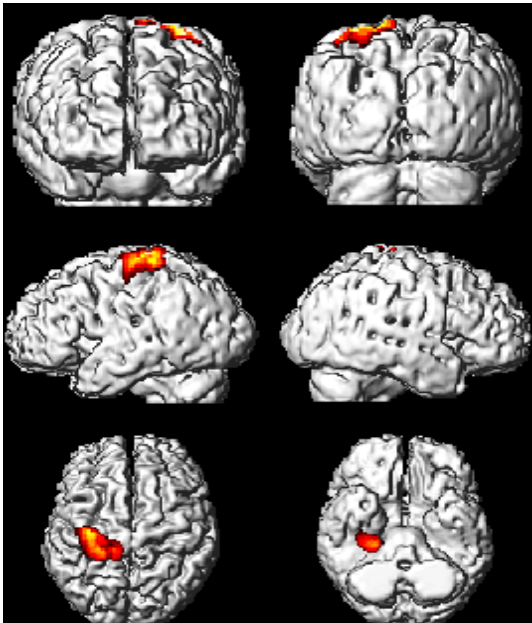
après hémodialyse



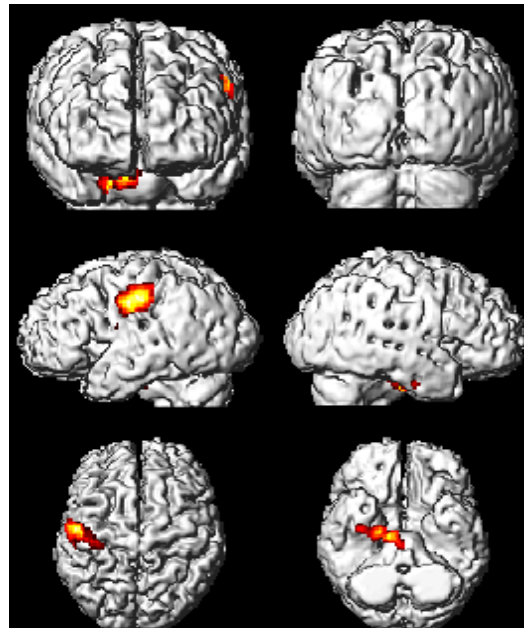
Activation du cortex moteur en 3D :

La superposition des activations sur un rendu 3D affiche six vues: antérieure, postérieure, latérale droite, latérale gauche, inférieure, et supérieure. Cette représentation permet d'avoir une vue globale du cerveau, tout en affichant les activations qui ont été déjà observées en image 2D, cette dernière permet une visualisation plus simple des zones activées. Etant donné que la surface corticale est composée de sillons profonds et sinueux, ainsi que de circonvolutions volumineuses et complexes, il est difficile d'interpréter directement ces données, et donc on se réfère aux analyses statistiques qui seront présentées par la suite.

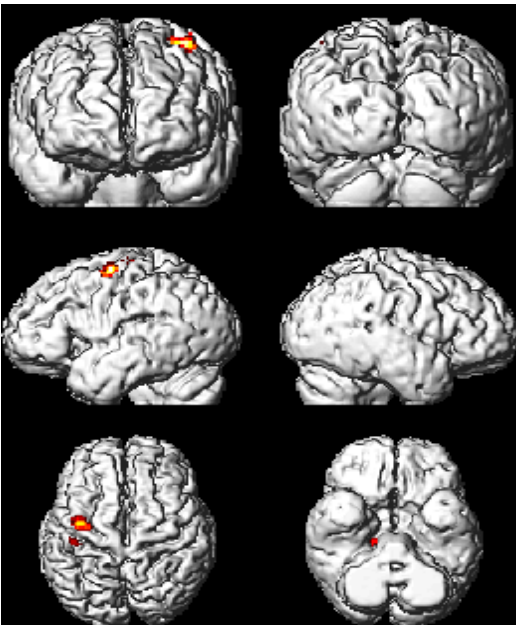
Patient 1: avant hémodialyse



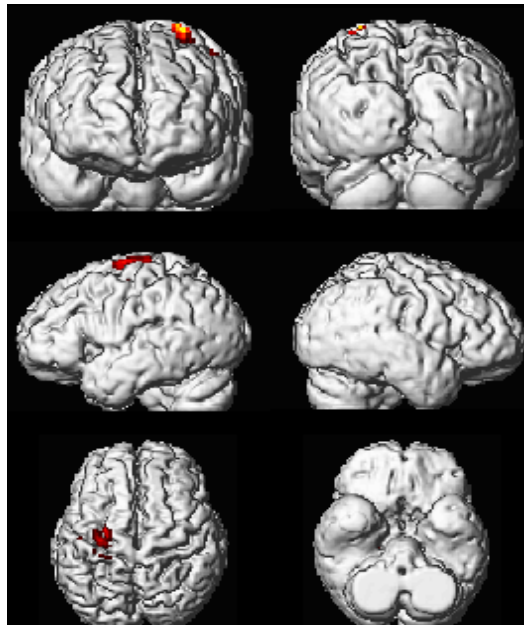
après hémodialyse



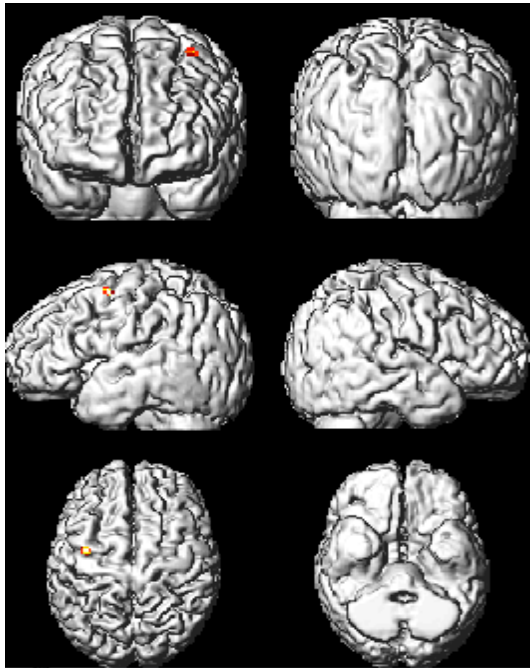
Patient 2: avant hémodialyse



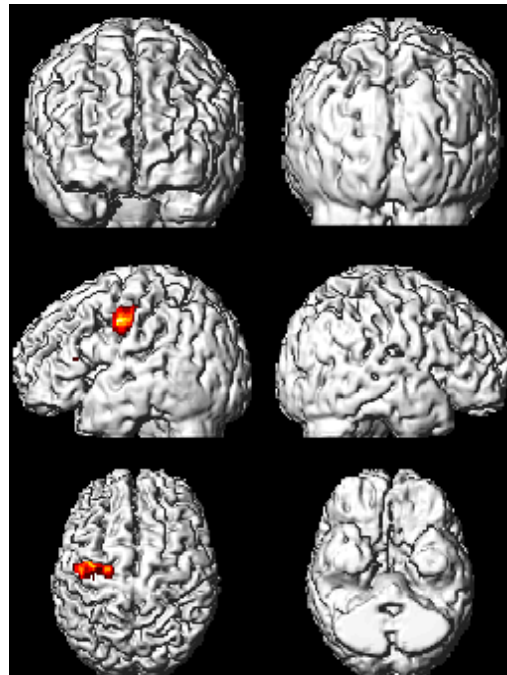
après hémodialyse



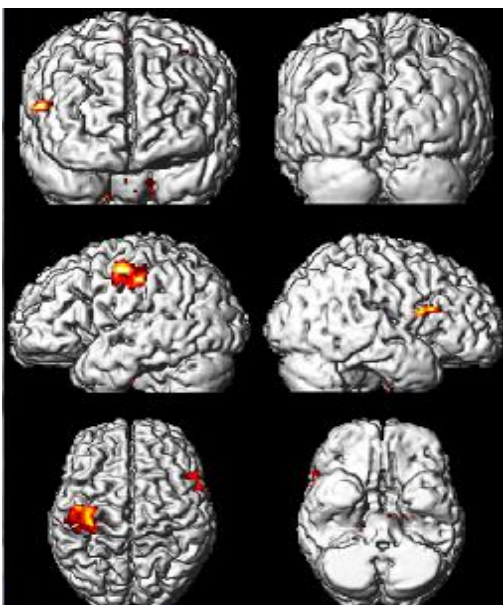
Patient 3 : avant hémodialyse



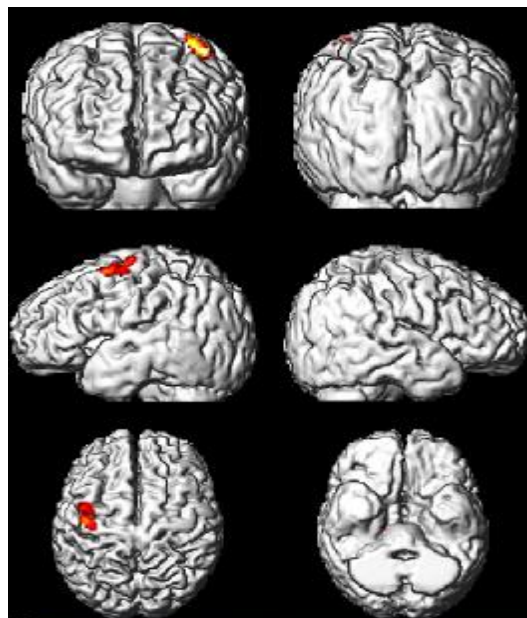
après hémodialyse



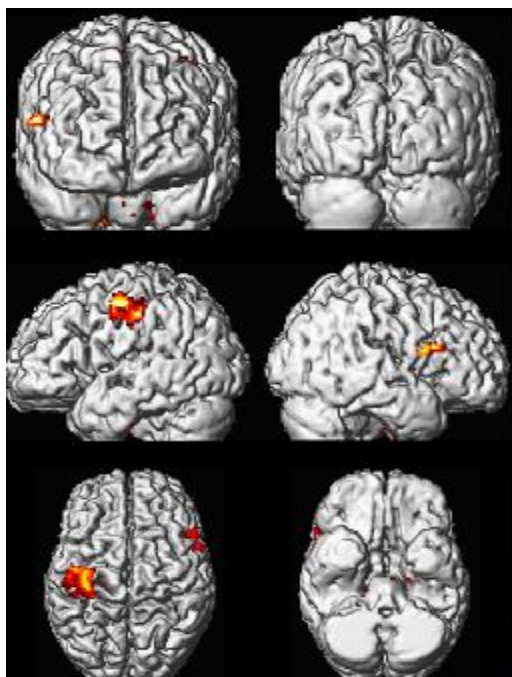
Patient 4: avant hémodialyse



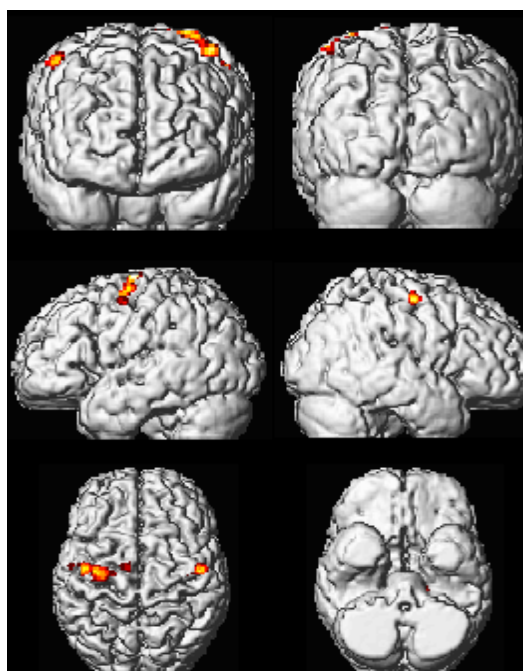
après hémodialyse



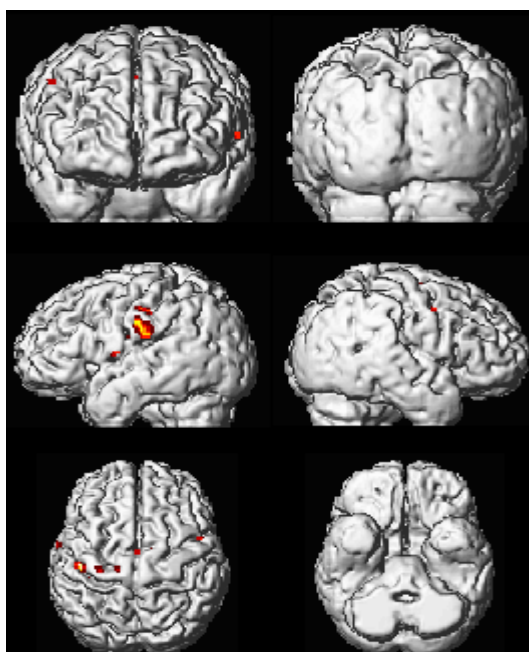
Patient 5: avant hémodialyse



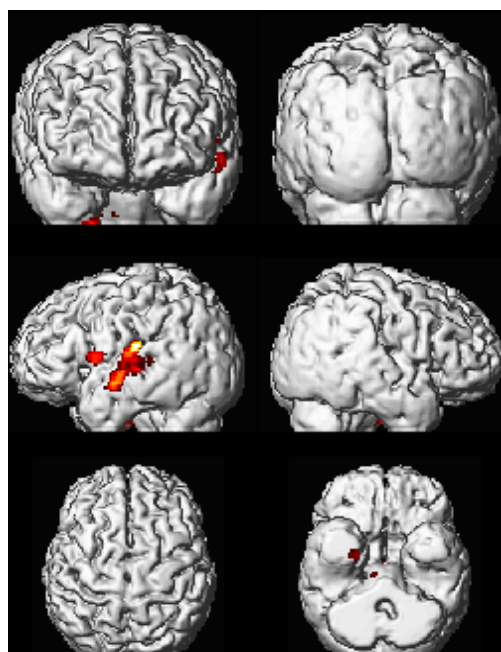
après hémodialyse



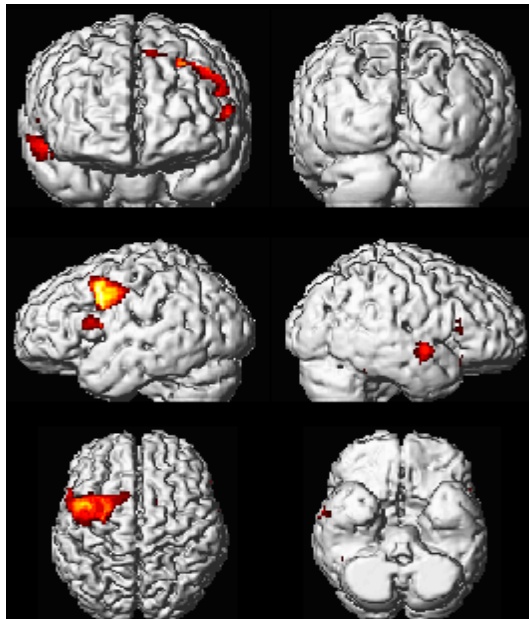
Patient 6 : avant hémodialyse



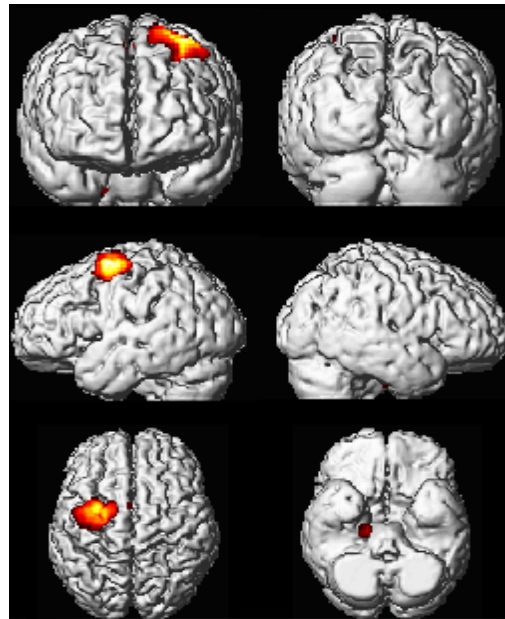
après hémodialyse



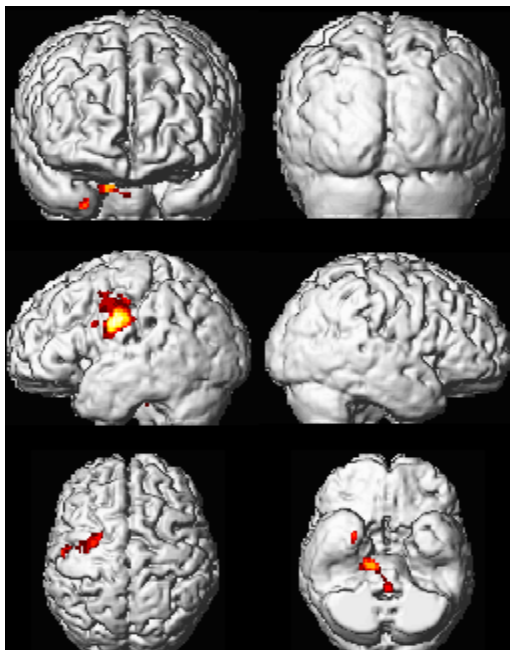
Patient 7 : avant hémodialyse



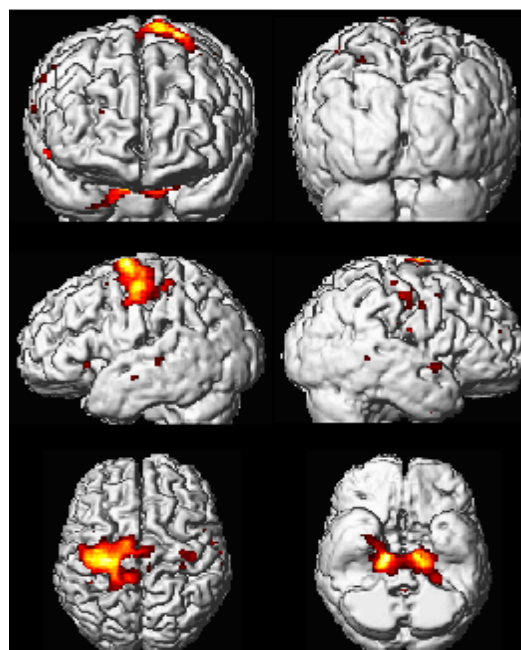
après hémodialyse



Patient 8 : avant hémodialyse

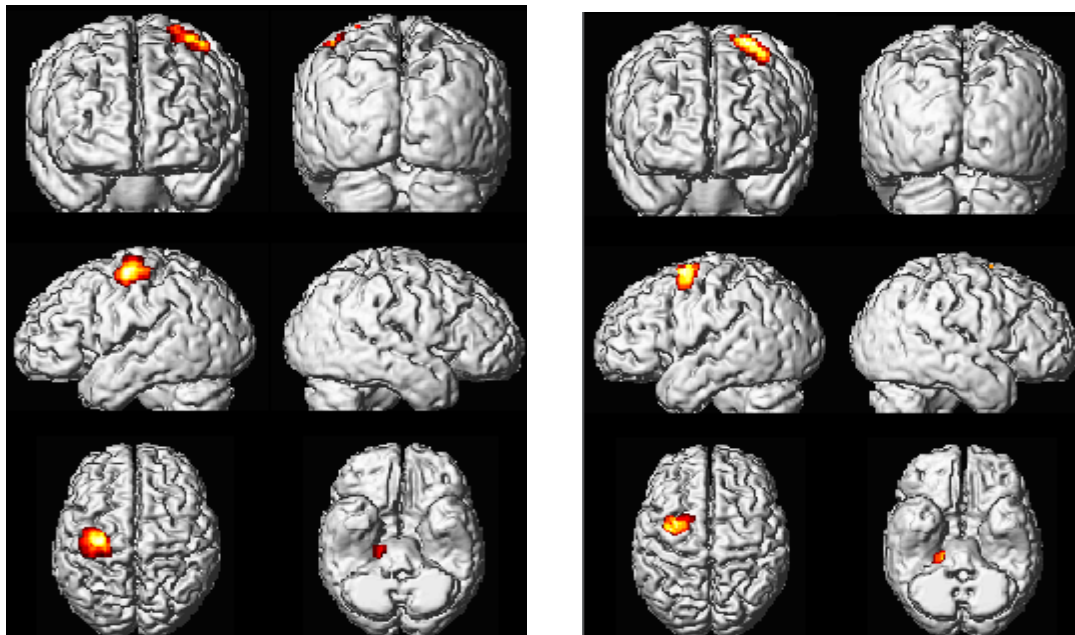


après hémodialyse



Patient 9 : avant hémodialyse

après hémodialyse



2. Résultats quantitatifs :

Après avoir réalisé le traitement d'images obtenues par le logiciel SPM8, nous avons déterminé l'intensité maximale d'activation cérébrale du cortex moteur via ce même logiciel, et le volume d'activation cérébrale par le logiciel imageJ, qui nous fournit la surface activée corrélée au volume par cette formule :

Volume= surface *(FOV/64)² *5 en mm³ Avec:

- FOV « field of view » mentioné sur les images IRMf-BOLD=24
- 64 : correspond au paramètre de chaque pixels
- 5 : l'épaisseur du volume qu'on a utilisé

Le seuil de signification est fixé à 0,05.

Les intensités baissent de façon significative (p 0,03) en comparant l'avant et l'après hémodialyse (Figure 18).

En ce qui concerne les volumes, on assiste à une augmentation significative (p 0,001) après l'hémodialyse (Figure 18).

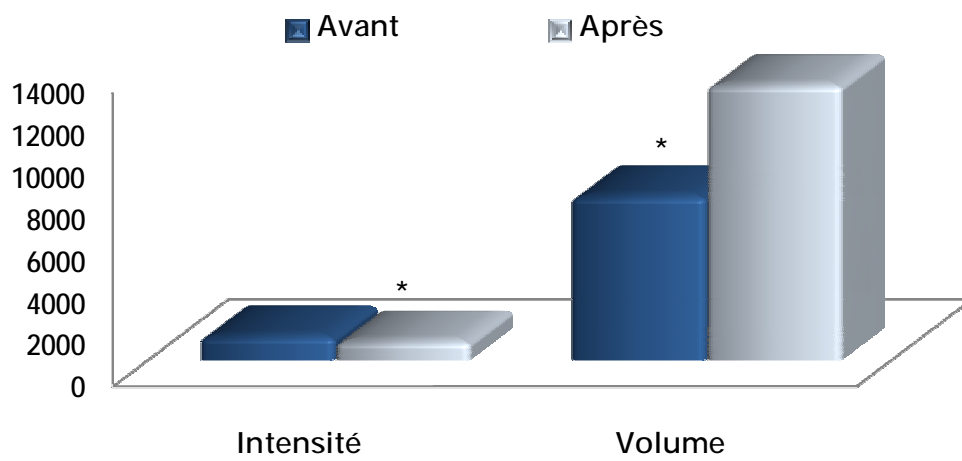


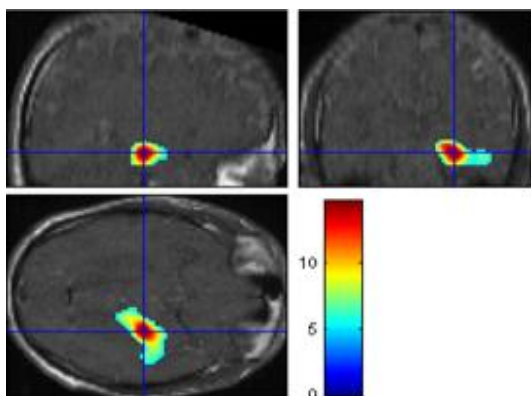
Figure 18: Résultats du bilan radiologique sous la membrane en Polysulfone® avant et après hémodialyse (* p < 0,05).

B. Sous membrane en Helixone® :

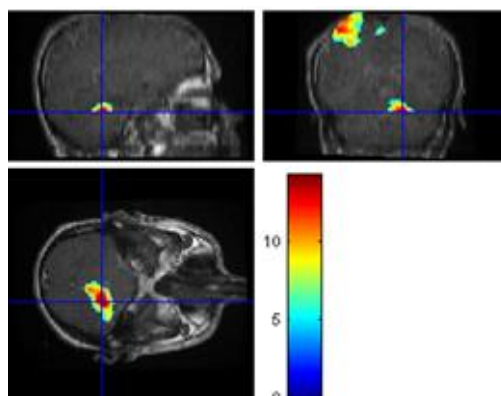
1. Résultats qualitatifs :

Activation du cortex moteur en 2D :

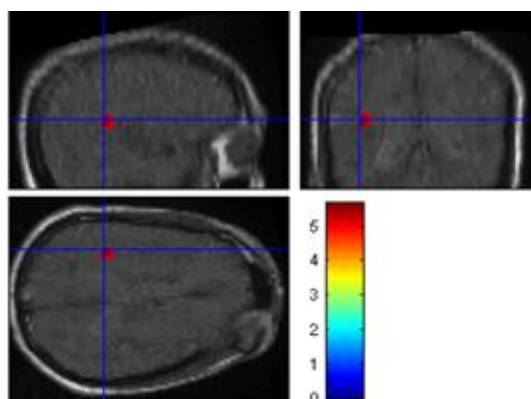
Patient 1 : avant hémodialyse



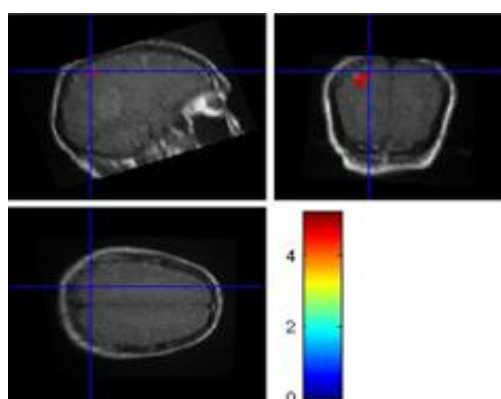
après hémodialyse



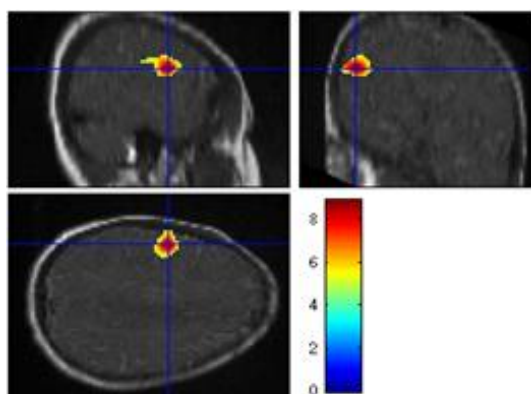
Patient 2 : avant hémodialyse



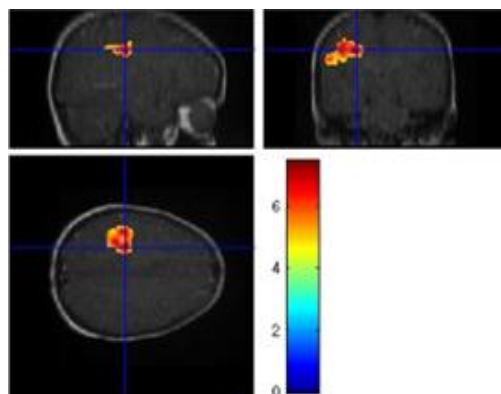
après hémodialyse



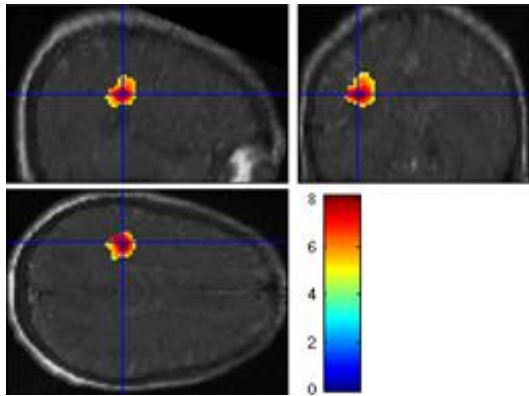
Patient 3 : avant hémodialyse



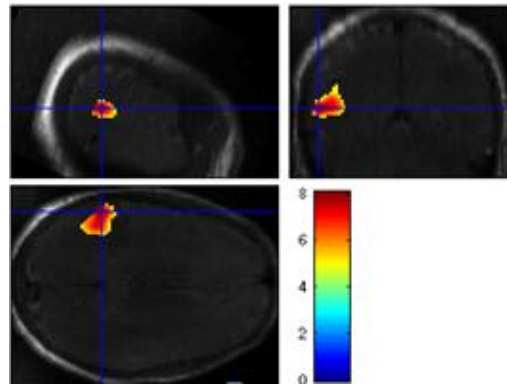
après hémodialyse



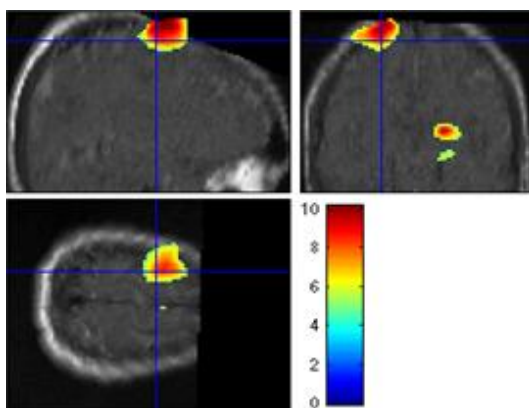
Patient 4 : avant hémodialyse



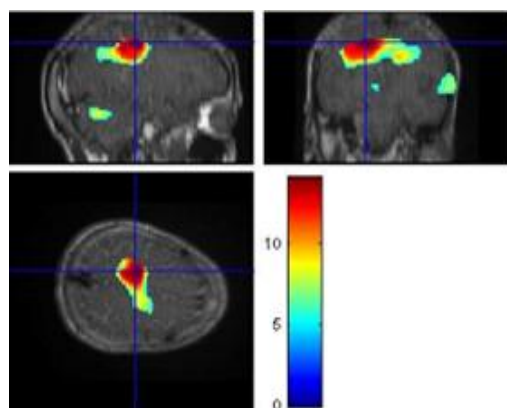
après hémodialyse



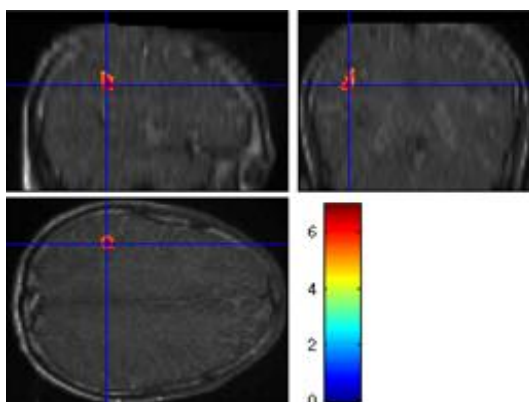
Patient 5 : avant hémodialyse



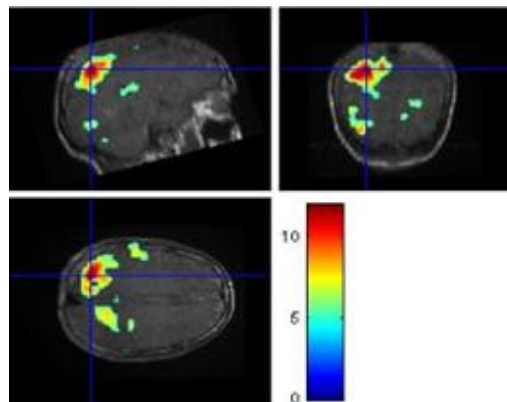
après hémodialyse



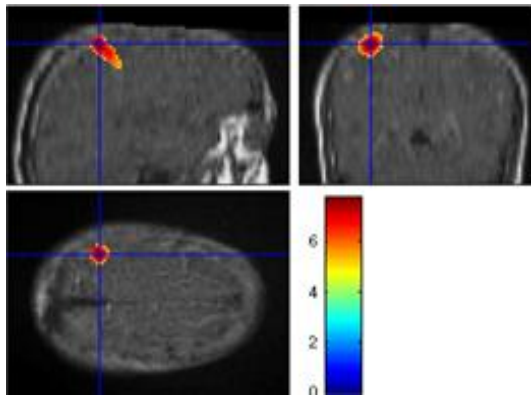
Patient 6 : avant hémodialyse



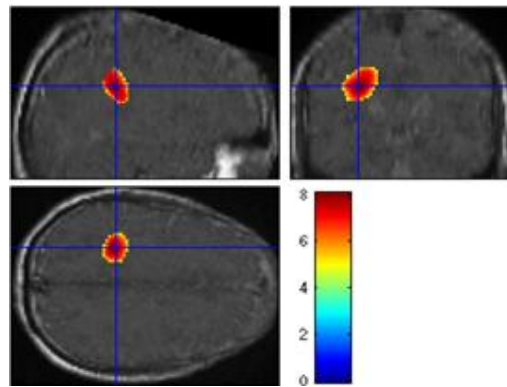
après hémodialyse



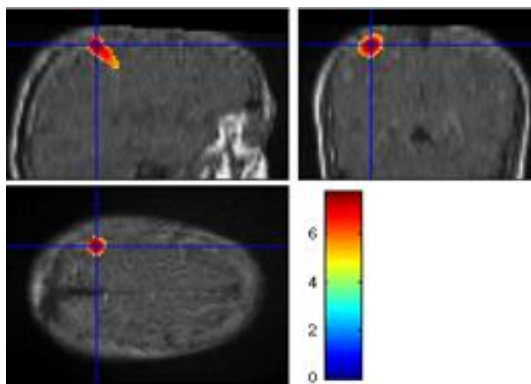
Patient 7 : avant hémodialyse



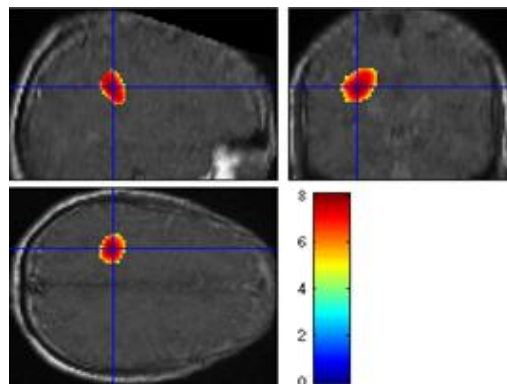
après hémodialyse



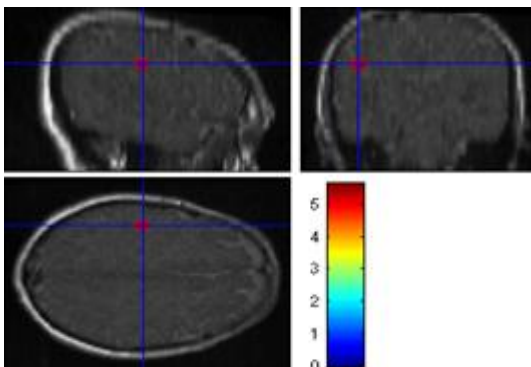
Patient 8 : avant hémodialyse



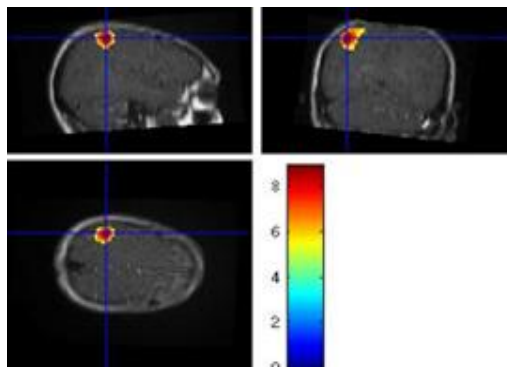
après hémodialyse



Patient 9 : avant hémodialyse

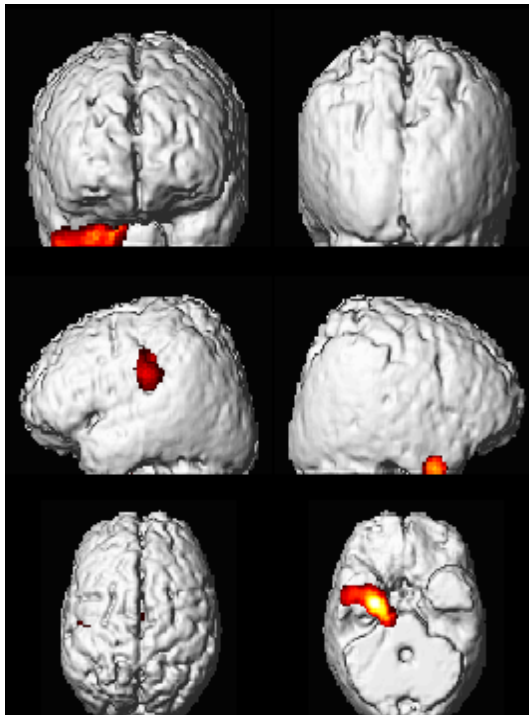


après hémodialyse

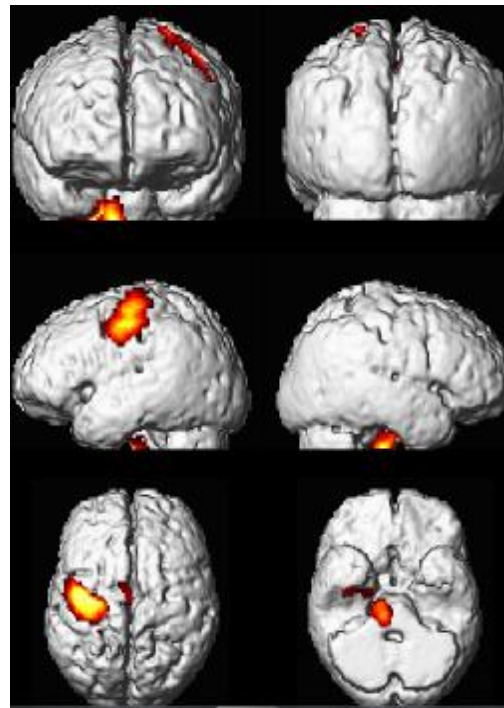


Activation du cortex moteur en 3D :

Patient 1 : avant hémodialyse



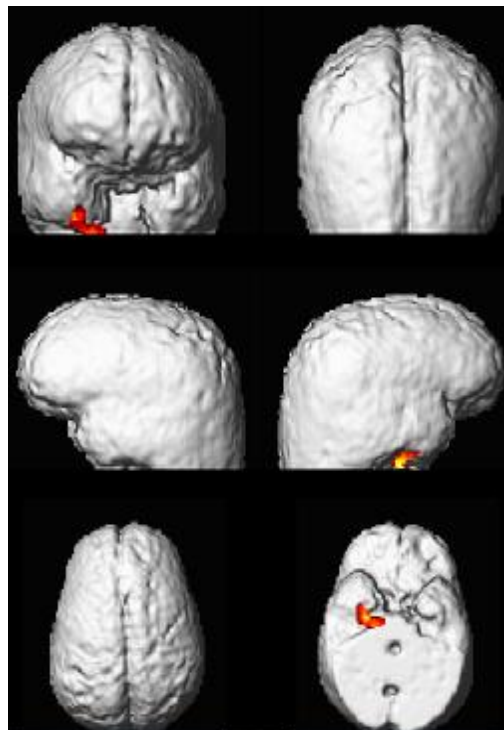
après hémodialyse



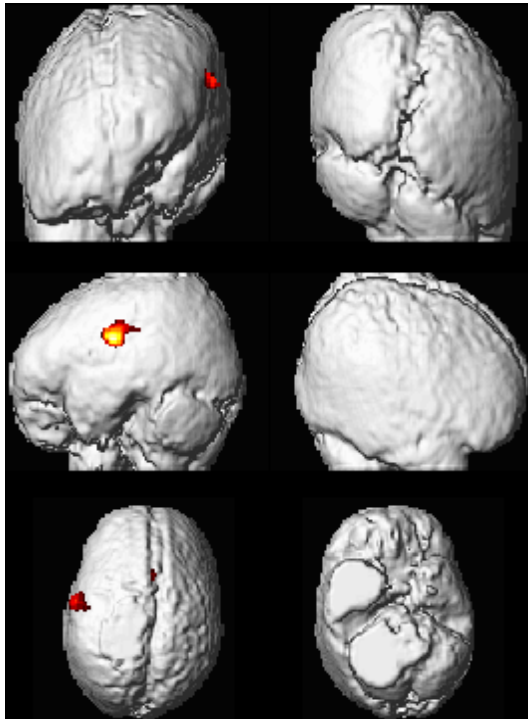
Patient 2 : avant hémodialyse



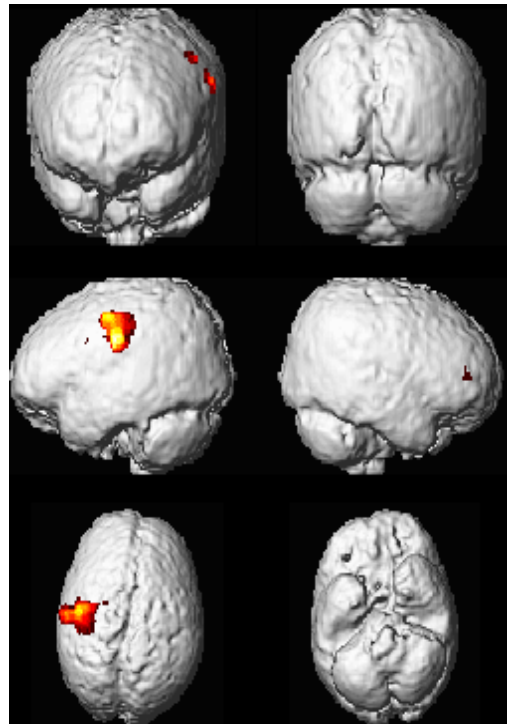
après hémodialyse



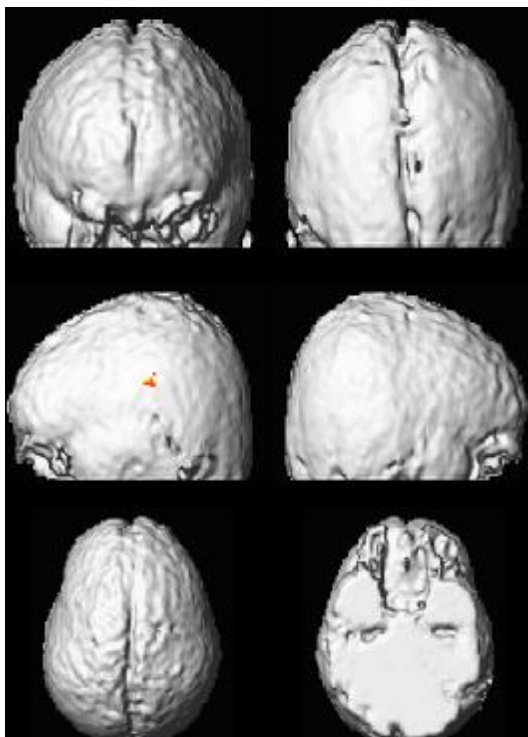
Patient 3 : avant hémodialyse



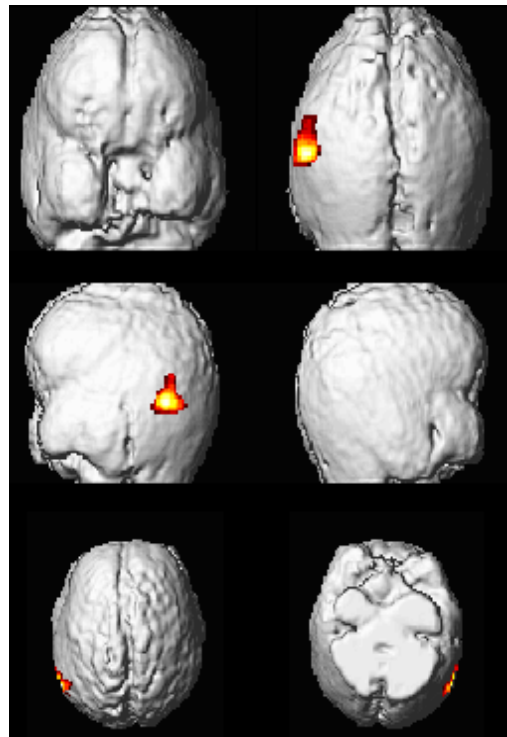
après hémodialyse



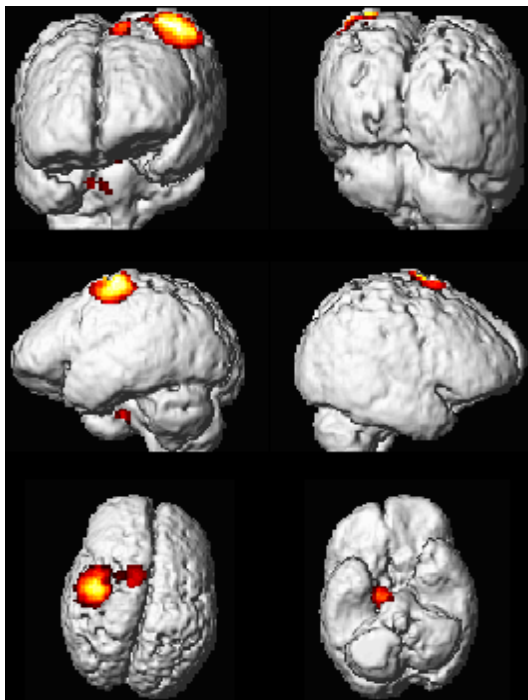
Patient 4 : avant hémodialyse



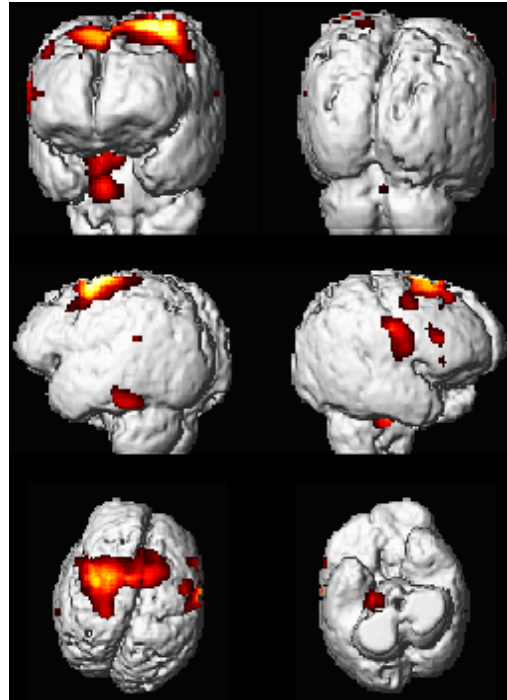
après hémodialyse



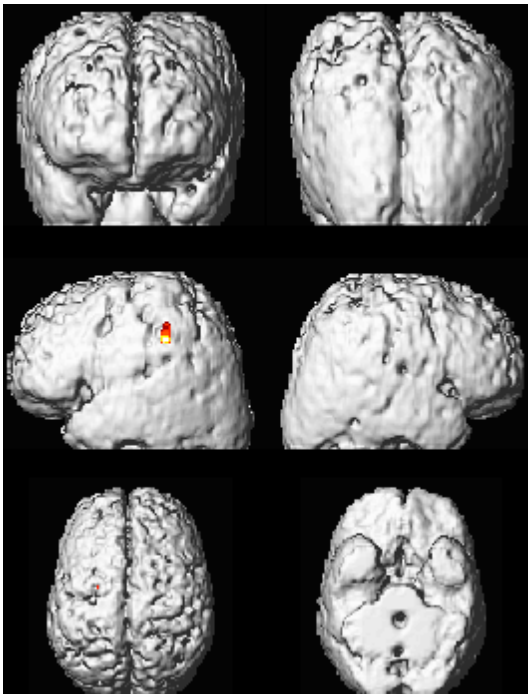
Patient 5 : avant hémodialyse



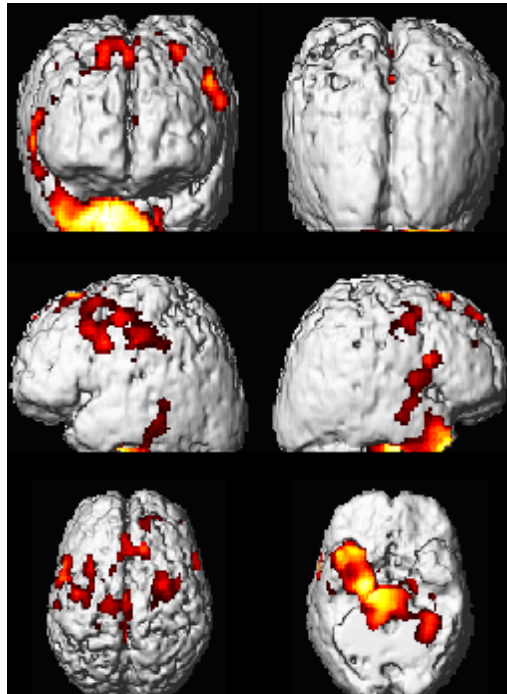
après hémodialyse



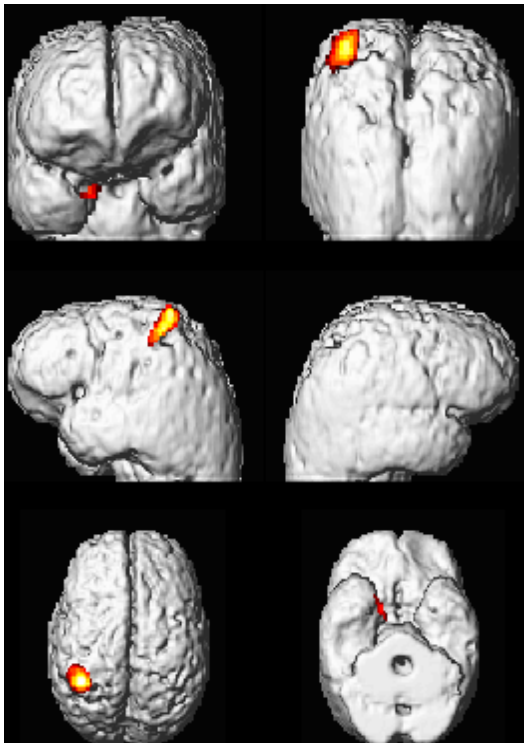
Patient 6 : avant hémodialyse



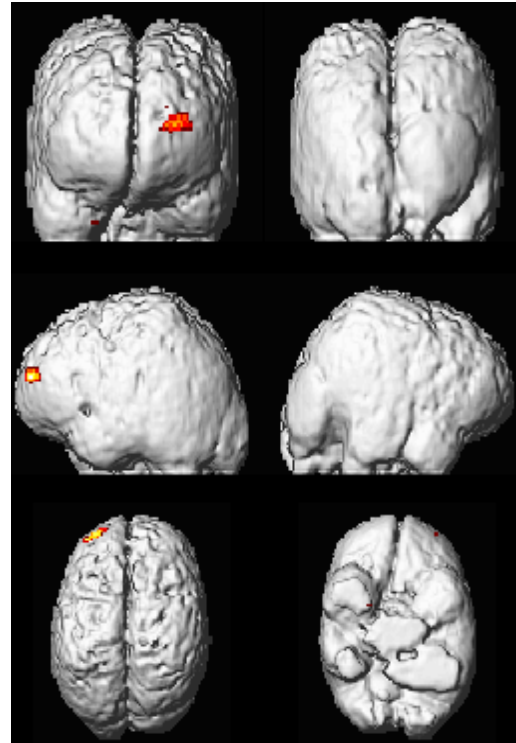
après hémodialyse



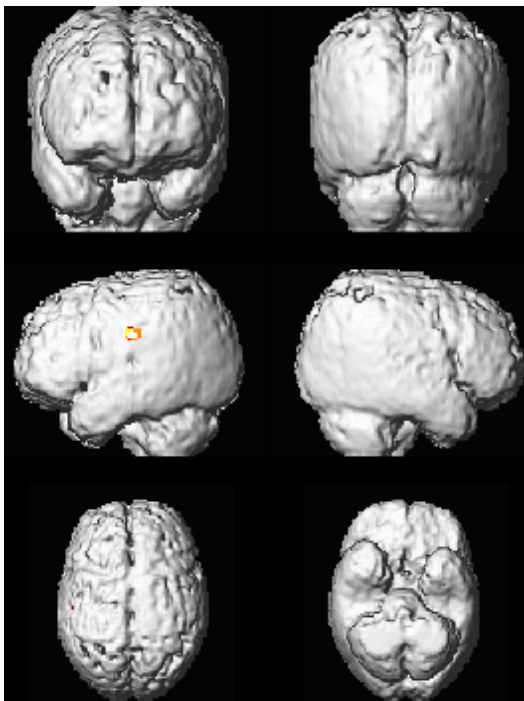
Patient 7 : avant hémodialyse



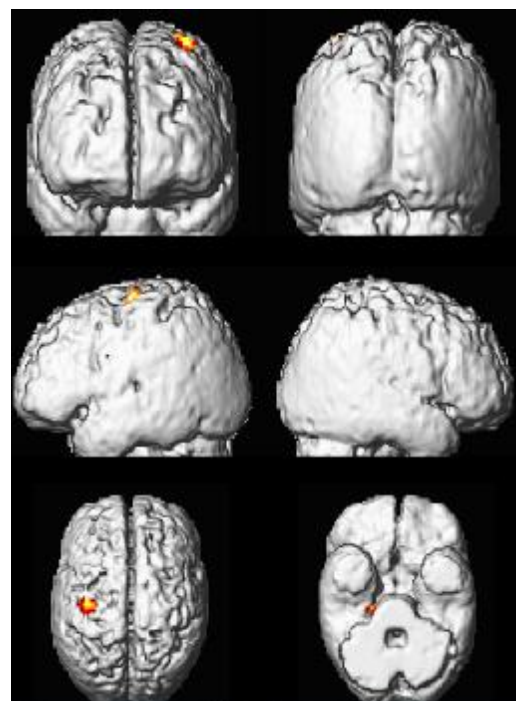
après hémodialyse



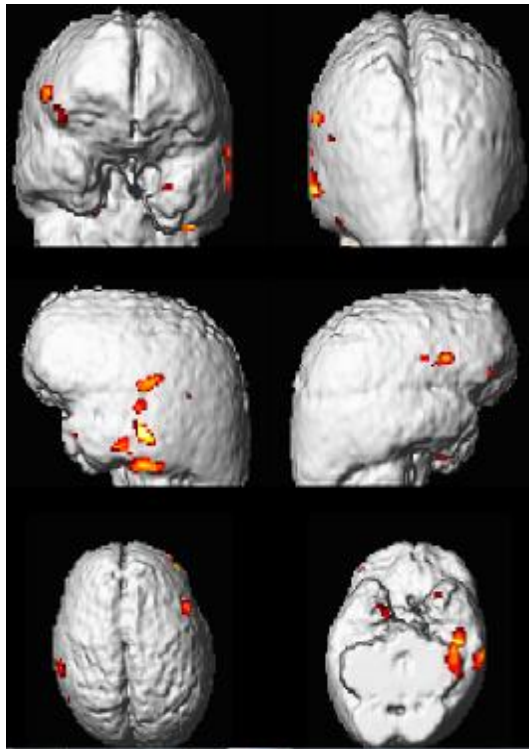
Patient 8 : avant hémodialyse



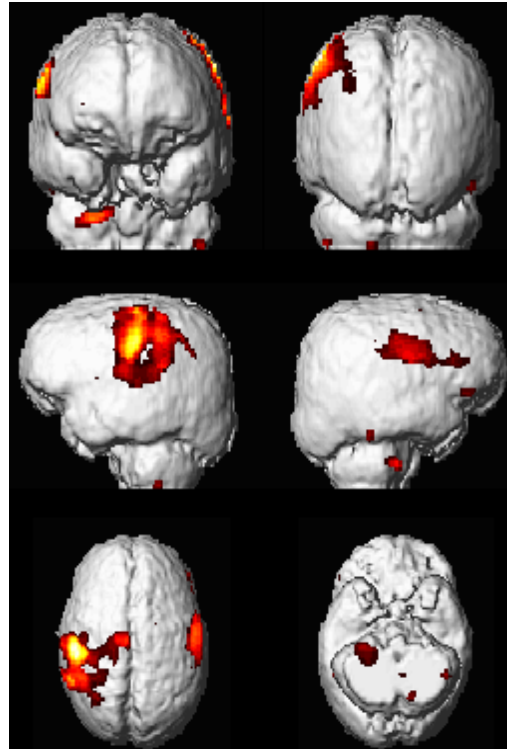
après hémodialyse



Patient 9 : avant hémodialyse



après hémodialyse



2. Résultats quantitatif :

La recherche de la significativité des résultats par les tests statistiques a révélé qu'il y a une diminution significative de l'intensité d'activation cérébrale de l'aire motrice après hémodialyse pour la membrane Helixone® ($p < 0,04$).

En ce qui concerne le volume, il y a une augmentation significative après hémodialyse pour la membrane en Helixone® ($p < 0,05$) (Figure 19).

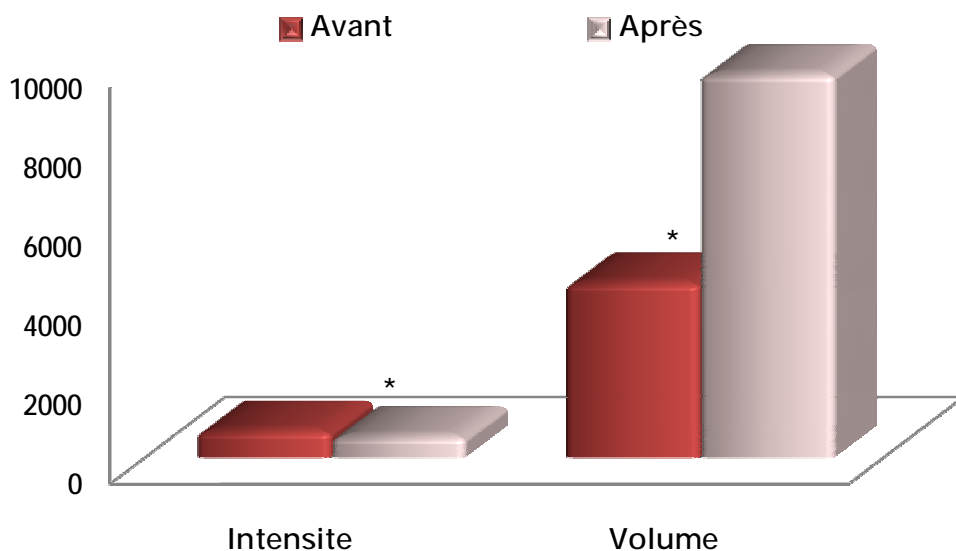


Figure 19 : Résultats du bilan radiologique sous la membrane en Helixone® avant et après hémodialyse (* $p < 0,05$).

C. Comparaison entre les deux types membranaires :

La comparaison de l'intensité a montré que la différence est très significative « $p < 0,0001$ » entre ces deux membranes avant et après hémodialyse.

La membrane en Helixone® présente une intensité d'activation cérébrale beaucoup plus faible que celle en polysulfone®.

En ce qui concerne le volume, la différence est significative « $p < 0,03$ » entre ces deux membranes.

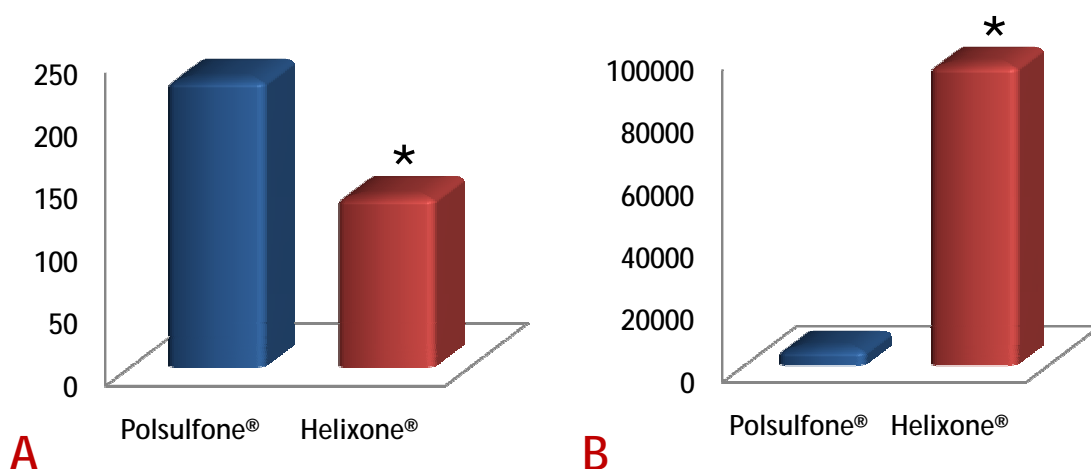


Figure 20: comparaison des variations des intensités (A) et des volumes (B) entre les deux types membranaires (* $p < 0,05$).

DISCUSSION

Durant les dernières années, on a pu démontrer que le stress oxydant est une composante majeure de l'inflammation associée à l'insuffisance rénale chronique et qui sera majorée par l'hémodialyse [33].

Lors de l'hémodialyse chronique, Les interactions sang/membrane artificielle sont répétées et indéfinies ; elles entraîneront à long terme des effets cliniques délétères, notamment des complications cardio-vasculaires, des complications infectieuses, cancer, diabète, désordres du SNP et SNC, anémie et vieillissement accéléré.

Limiter le développement de ces complications à long terme est l'objectif majeur des études concernant l'hémodialyse. Différentes orientations peuvent être définies notamment,

- Limiter la production d'oxydants, via l'activation ou non du système complément en utilisant des membranes de plus en plus biocompatible.
- Augmenter les capacités anti-oxydantes.

Dans notre étude, nous avons essayé de comparer deux types de membranes en matière d'épuration, mais surtout de biocompatibilité en évaluant le stress oxydant généré par chaque type de membrane.

1. Polysulfone® versus Helixone® : L'épuration

Selon les données du fabricant, les deux dialyseurs ont presque les mêmes caractéristiques de la clairance de molécules de petite taille. Cependant, la membrane en Helixone® (dont La production exploite un nouveau procédé de fabrication : la technologie Nano Controlled Spinning) va offrir les avantages suivants, une :

- Ø Taille de pore à 1.8 nm ;
- Ø Meilleure distribution des pores :

Ø Répartition homogène par d'unité superficielle.

L'augmentation de la taille moyenne des pores de 0,2 nm permet d'augmenter le K_{uf}, et l'élimination de la β 2microglobuline est améliorée du fait de l'augmentation du nombre des pores ; ce qui permet d'améliorer le coefficient de tamisage.

Ces données ont été confirmées par les résultats de notre étude, qui en dehors des variations significatives concernant l'épuration de l'urée et de la β 2microglobuline, confirme l'égalité des deux membranes en matière d'épuration des molécules de petite taille.

2. Polysulfone® versus Helixone® : La biocompatibilité

Notre principale conclusion est que seule une séance d'hémodialyse, même avec une membrane biocompatible telle que la membrane en Polysulfone®, contribue à un déséquilibre oxydant/antioxydant ; mais à un degré moins important avec une membrane en Helixone®.

L'interaction entre le sang circulant et le système d'hémodialyse sera responsable de réactions de bio-incompatibilité, telles que la production de formes réactive de l'oxygène [34]. Le résultat final est une augmentation des réactions inflammatoires caractérisées par le déclenchement d'une explosion respiratoire, la synthèse et la libération des médiateurs inflammatoires. Le taux de ces médiateurs chez les patients hémodialysés, et leur expression est exacerbé encore, même après une seule séance d'hémodialyse [35].

- Protéine C réactive

Nous avons constaté une élévation de la CRP après une épuration extra-rénale avec les deux membranes, même si elle n'a pas atteint une signification statistique avec la membrane en Helixone®. Le taux de la CRP a été retenu par plusieurs études comme un indicateur d'inflammation et un facteur de risque de morbi-mortalité cardio-vasculaire chez les patients hémodialysés chroniques. En effet, les patients sous hémodialyse sont caractérisés par une activité inflammatoire

élevée [36]. Zimmerman et al. [37] rapporte que l'élévation des taux de CRP survient chez 46% des hémodialysés.

- Malondialdehyde

Il est important à noter que les taux de CRP sont corrélés à ceux du MDA ; nous avons montré qu'une séance de dialyse avec une membrane en Polysulfone® ou en Helixone® est responsable d'une augmentation accrue des niveaux du MDA, qui n'est rien d'autre qu'un indice de peroxydation lipidique. Bien qu'il y a des résultats controversés dans la littérature indiquant que les séances d'hémodialyses pourraient améliorer le profil lipidique chez les patients avec un état pro-oxydant préalable tels que l'état d'urémie [38], nos résultats confirment ceux d'autres études qui ont suggéré une augmentation de la peroxydation des lipides au cours de l'hémodialyse [39, 40].

- Activité antioxydante totale

Notre étude a objectivé une AAOT beaucoup plus basse après hémodialyse, et ce, quelque soit le type de la membrane de dialyse. Cependant la membrane en Heloxne® est responsable d'une diminution moins importante de l'AAOT en HD.

L'AAOT représente un marqueur de défense globale contre les radicaux libres dans le plasma. Jackson et al suggère que bien que l'AAOT est accru chez les patients hémodialysés, l'épuisement de certains antioxydants conduit à une athérogenèse accélérée [41]. Samouilidou et al, ont objectivé, avant HD, des taux élevés de l'AAOT chez les hémodialysés chroniques comparés à des sujets sains. Après HD, ces taux vont baisser de façon significative, tout en restant plus élevés chez le non dialysé [42].

- Acide urique :

Dans notre étude les taux de l'AAOT sont corrélés aux taux de l'acide urique sérique chez les hémodialysés. L'AAOT augmente du fait d'une élévation des taux d'acide urique et ce, par défaillance de son principale système d'élimination (le rein) [43]. Par conséquent les variations de l'un des principaux éléments de l'AAOT peuvent masquer d'importants changements dans les autres antioxydants [44]. Cependant, une augmentation des concentrations d'urates sont peu susceptibles de fournir une défense antioxydante adéquate dans la présence de d'autres systèmes antioxydants.

- Albumine

Les taux de l'albumine plasmatique en post hémodialyse sont significativement plus élevés avec la membrane en Helixone®, témoignant ainsi, d'une amélioration du statu antioxydant sous cette membrane [45]. En effet, les propriétés antioxydante de l'albumine sont liées à trois sites de sa structure : i) la cystéine 34 capable de capter les RL de l'O₂ ; ii) le site I, site de liaison de l'hème à la bilirubine ; iii) la portion N terminale qui représente un site de liaison pour les métaux pro-oxydant [46].

3. IRMf-BOLD, stress oxydant et notion de plasticité cérébrale :

Le cerveau possède un métabolisme oxydatif élevé, pouvant être à l'origine de la production d'une grande quantité de ROS, aussi les niveaux d'activité des enzymes antioxydantes sont beaucoup plus faibles dans le cerveau que dans d'autres organes tel les reins et le foie [47]. Nous avons supposé que la séance d'hémodialyse, en tant qu'un état inflammatoire chronique, a été associée à des anomalies de biodisponibilité d'oxygène et une augmentation du SO intracérébrale.

Pour valider cette hypothèse, nous avons utilisé une nouvelle approche pour la mise en évidence du stress oxydant chez les hémodialysés : l'imagerie par résonance magnétique fonctionnelle-BOLD cérébrale, permettant une évaluation non invasive en détectant les modifications locales du débit sanguin cérébral liées à l'activité neuronale.

Cette méthodologie utilisée pour la première fois chez les hémodialysés, se basant sur un nouvel aspect, a montré une concordance totale avec les résultats sérologiques, car on a trouvé une diminution significative de l'intensité d'activation cérébrale de l'aire motrice après hémodialyse par les deux membranes, et qui est

inversement corrélée au taux du stress oxydant. Cette corrélation est démontrée par d'autres études qui ont apprécié le stress oxydatif chez des insuffisants rénaux par la technique de l'IRMf-BOLD mais qui a été surtout une détection d'oxygénation intra-rénale et non cérébrale [48].

Un autre privilège fournit par l'IRMf-BOLD cérébrale, c'est la mesure du volume d'activation cérébrale de l'aire motrice.

Ce volume activé est expliqué par le phénomène du couplage neurovasculaire dû à la décharge neuronale des potentiels d'action, qui provoque une augmentation de la consommation du glucose et d'oxygène qui est par la suite surcompensée par une large augmentation de flux sanguin, il en résulte alors une diminution de la concentration de désoxyhémoglobine détectable par l'IRM [49].

Ainsi, les FRO sont généralement classés comme des molécules neurotoxiques; et l'excès de FRO est associé à une diminution des performances dans les fonctions cognitives. Cependant, à des concentrations physiologiques, les FRO sont impliqués dans les changements fonctionnels nécessaires pour la plasticité synaptique et donc, pour les fonctions cognitives normales. La fine ligne de renversement des rôles de FRO est loin d'être entièrement comprise [50].

Dans notre étude, on s'attendait à voir moins de volume cérébral activé, témoignant d'une dégénérescence neuronale secondaire à l'attaque radicalaire. Cependant c'est le contraire qui a été retrouvé : on a assisté à une élévation significative des volumes d'activation après la séance d'hémodialyse, et ceci avec les deux types de membrane.

De ce fait une nouvelle notion s'ajoute à notre étude : la plasticité cérébrale, témoignant d'une réorganisation fonctionnelle dans la zone cérébrale étudiée, afin de parvenir à contrôler le taux élevé des radicaux libres générés [51, 52].

CONCLUSION

Les hémodialysés chroniques sont soumis à des perturbations du système redox dans le cadre de l'urémie, et qui sera exacerbée par une procédure de dialyse. Une seule séance d'HD, même lorsqu'elle est menée avec une membrane biocompatible, semble jouer un rôle important dans le déséquilibre entre la production des FRO et de la défense antioxydante. Par conséquent, il est digne de considérer que l'augmentation du stress oxydatif est une importante cible thérapeutique chez cette population. Dans ce cadre la membrane en Helixone®, paraît influencer significativement et positivement les paramètres du stress oxydant chez les patients urémiques chroniques sous traitement de suppléance.

La méthodologie incluant l'utilisation de la technique de l'IRMf – BOLD, semble à la fois, intéressante et prometteuse vue, d'abord sa concordance totale avec les données de l'étude biologique validée à l'heure actuelle et ensuite du fait de son innocuité totale.

Notre étude a mis le point sur la notion de plasticité cérébrale, suggérée comme hypothèse expliquant les variations de volume obtenues par l'exploration IRMf ; Notion représentant toujours un sujet d'actualité et de recherche nécessitant encore plus d'éclaircissement chez la population particulière des hémodialysés chroniques.

Ceci ouvre ainsi de nouvelles pistes afin d'élargir les recherches sur ce phénomène et suggérant des perspectives allant dans le même sens, car plusieurs questions sont à éclaircir. L'une d'entre-elles demeure le mécanisme conduisant à cette plasticité et dans quel stade de la maladie elle s'est générée et serait-elle la cause du faible pourcentage d'atteinte de ces patients par les maladies neurodégénératives malgré le taux élevé du stress oxydant qu'ils présentent.

RESUMES

RESUME

Le stress oxydant, résultant d'un déséquilibre entre la production d'oxydants et les mécanismes de défense anti oxydante, est actuellement identifié en hémodialyse (HD) comme un facteur pouvant contribuer aux complications à long terme de l'hémodialysé.

La biocompatibilité ainsi que la perméabilité des membranes de dialyse paraissent influencer significativement les mécanismes de l'inflammation et donc du stress oxydatif en épuration extra-rénale.

Notre étude prospective, qui a colligée 12 hémodialysés chroniques du centre d'hémodialyse du CHU Hassan II de Fès, a pour objectif d'évaluer l'impact du changement du type de dialyseur sur l'épuration et le niveau du stress oxydant chez ces patients. Notre comparaison se base sur des données biologiques et IRM-BOLD

L'âge moyen des patients est de $31,5 \pm 8$ ans.

On n'a pas trouvé de différence significative, en matière d'épuration, entre les deux types de membranes. Cependant la membrane en Helixone® a permis une élimination meilleure de la $\beta 2$ microglobuline et de l'urée.

Les taux de CRP et du MDA augmentent de façon significative après hémodialyse ; alors que ceux de l'acide urique et de l'AAOT baissent après une séance d'épuration. Ses variations sont beaucoup plus élevées avec la membrane en Polysulfone®.

Les résultats retrouvés avec l'IRMf-BOLD, sont comparables avec ceux de la biologie, les intensités ainsi que les volumes augmentent de façon significative après hémodialyse sous les deux types de membranes, témoignant d'un stress oxydant induit par la séance d'hémodialyse.

La membrane en Helixone® paraît induire moins de stress oxydant que la membrane en Polysulfone®. L'augmentation du volume d'activation après la séance d'hémodialyse témoigne d'une réorganisation fonctionnelle dans la zone cérébrale étudiée en rapport avec la plasticité cérébrale.

Les résultats de cette étude montrent que l'hémodialyse affecte significativement les paramètres du stress oxydatif du fait d'une augmentation des taux des agents oxydants

contre une baisse des agents anti oxydants. Le type de membrane influence l'état inflammatoire chronique des hémodialysés.

SUMMARY

Oxidative stress, resulting from an imbalance between oxidant production and antioxidant defense mechanisms, is currently identified in hemodialysis (HD) as a factor that may contribute to long-term complications of hemodialysis. Biocompatibility and permeability of dialysis membranes appear to influence significantly the mechanisms of inflammation and oxidative stress in renal replacement therapy.

Our prospective study, which collated the 12 chronic hemodialysis hemodialysis center CHU Hassan II of Fez, is designed to assess the impact of changing the type of dialyzer on the treatment and the level of oxidative stress in these patients. Our comparison is based on given biological test and fMRI-BOLD investigation.

The average age of patients was 31.5 ± 8 years.

We found no significant difference in treatment between the two types of membranes. However Helixone® membrane has a better elimination of $\beta 2$ microglobulin and urea. CRP levels and MDA increased significantly after hemodialysis, while those of uric acid and AAOT down after a session of treatment. Its variations are much higher with Polysulfone® membrane.

The results found with fMRI-BOLD, are comparable with those of biology test, intensities and volumes increase significantly after hemodialysis in both types of membranes, indicating oxidative stress induced by hemodialysis. The Helixone® membrane appears to induce less oxidative stress than Polysulfone® membrane. L'augmentation du volume d'activation après la séance d'hémodialyse témoigne d'une réorganisation fonctionnelle dans la zone cérébrale étudiée en rapport avec la plasticité cérébrale.

The results of this study showed that hemodialysis affects significantly the parameters of oxidative stress due to increased levels of oxidants against a decline of anti oxidants. The types of membrane influence the inflammatory state of chronic hemodialysi

ملخص

تنتج الأكسدة عن اختلال في التوازن بين إنتاج عوامل الأكسدة وآليات الدفاع المضادة للأكسدة. وتعتبر حاليا أحد العوامل التي تساهم في ظهور مضاعفات على المدى الطويل عند المريض بالقصور الكلوي المزمن. تؤثر نوعية أغشية الغسيل الكلوي وفعاليتها تأثيرا كبيرا على آليات الالتهابات والأكسدة وبالتالي في العلاج.

تم تصميم دراستنا, والتي جمعت 12 مريضا بمركز غسيل الكلوي المزمن بالمستشفى الجامعي الحسن الثاني بفاس, لتقييم أثر استبدال اغشية تصفية الكلوي على نوعية العلاج. وتستند المقارنة لدينا على معطيات بيولوجية ومعطيات التصوير بالرنين المغناطيسي الوظيفي.

يبلغ عمر متوسط المرضى $31,5 \pm 8$ سنوات.

لم نجد اختلافا كبيرا بين البوليسيلفون والهيليكون. مع أننا سجلنا أفضلية لغشاء الهيليكون في تنقية β_2 ميكروكلوبلين واليوريا.

زادت مستويات بروتين التفاعل س والمالونين دي ألدريد بشكل كبير بعد غسيل الكلوي, في حين أن حمض اليوريك ومجموع نشاط مضاد الأكسدة تناقص بعد حصة العلاج.

هذه الاختلافات هي أعلى بكثير مع غشاء البوليسلفون مقارنة بغشاء الهيليكون.

النتائج التي وجدت مع الرنين المغناطيسي الوظيفي قابلة للمقارنة مع النتائج البيولوجية حيث عرفت كثافة وحجم التنشيط زيادة بشكل كبير بعد غسيل الكلوي في كلى النوعين من الأغشية مشيرا إلى الأكسدة الناتجة عن عملية غسيل الكلوي. زيادة حجم التنشيط بعد حصة الغسيل الكلوي تؤكد ظاهرة إعادة التنظيم الوظيفي بالدماغ والتي تتعلق بما يعرف بليونة الدماغ.

أظهرت هذه الدراسة أن غسيل الكلوي يؤثر بشكل كبير على مؤشرات الأكسدة بسبب زيادة مستويات التأكسد وانخفاض مضادات التأكسد. نوع الغشاء وفعاليتها تؤثر على مستويات الالتهاب لدى مرضى غسيل الكلوي المزمن.

ANNEXES

ANNEXES

Tableau 1 : Classification des dialyseurs en fonction de la perméabilité de leurs membranes

Tableau 2 : Classification des membranes de dialyse en se basant sur leurs natures chimiques

Tableau 3 : Performances de la membrane de Polysulfone® in vitro

Tableau 4 : Performances de la membrane de Helixone® in vitro

Figure 1 : Mécanismes de génération du stress oxydant (hyperproduction des FRO et déficit en mécanismes antioxydants)

Figure 2 : Le paramagnétisme nucléaire

Figure 3 : Application d'une impulsion de durée t à la résonance, vue dans le référentiel tournant

Figure 4 : Schéma général des différents processus physiologiques impliqués dans l'IRMf BOLD

Figure 5 : Schéma explicatif du couplage neurovasculaire à l'origine du signal BOLD en IRMf

Figure 6 : Image de l'appareil d'IRM au sein du service de radiologie de CHU Hassan II de Fès.

Figure 7: Paradigme exploité lors des acquisitions IRM

Figure 8 : Détermination de l'intensité du signal cérébral par le logiciel SPM8

Figure 9: Age des patients inclus dans l'étude

Figure 10 : la répartition des étiologies de l'insuffisance rénale chronique terminale des hémodialysés inclus dans l'étude

Figure 11 : Résultats du bilan biologique standard avant et après hémodialyse sous membrane en Polysulfone®

Figure 12 : Résultats du bilan biologique standard avant et après hémodialyse sous membrane en Helixone®

Figure 13 : Différence entre les deux types membranaires au niveau du bilan biologique standard

Figure 14 : Différence entre les deux types membranaires au niveau du bilan biologique standard

Figure 15 : Variations des concentrations des marqueurs du stress oxydant (A : acide urique et albumine ; B : MDA, AAOT et CRP) avant et après hémodialyse sous membranes en Polysulfone®

Figure 16 : variations des concentrations des marqueurs du stress oxydant sous membrane en Helixone® (A : albumine et acide urique ; B : MDA, AAOT et CRP) avant et après hémodialyse

Figure 17 : comparaison des marqueurs du stress oxydant sous les deux types de membranes d'hémodialyse (A : albumine et acide urique ; B : MDA, AAOT et CRP) avant et après hémodialyse

Figure 18: Résultats du bilan radiologique sous la membrane en Polysulfone® avant et après hémodialyse (* $p < 0,05$).

Figure 19 : Résultats du bilan radiologique sous la membrane en Helixone® avant et après hémodialyse (* $p < 0,05$).

Figure 20: comparaison des variations des intensités (A) et des volumes (B) entre les deux types membranaires (* $p < 0,05$).



Kč F Ů ů F ů ů ŮK ů

اسم الباحثين: الأستاذ مراد الرصفة، الأستاذ سعيد بوجراف والأستاذ طارق صقلي حسيني

العنوان :

مختبر الفارماكولوجيا بكلية الطب والصيدلة بفاس

بفاس والصيدلة الطب بكلية الحيوية الفيزياء مختبر

مصلحة طب الكلي بالمستشفى الجامعي الحسن الثاني بفاس

الاسم العائلي للمتطوع:.....الاسم الشخصي:

تاريخ الازدياد : /_/ /_/ /_/ /_/ /_/

العنوان :

الهاتف :

اقترح علي إمكانية المساهمة في هذا البحث العلمي المرتبط بالدراسة الآتية:

دراسة اثراستبدال اغشبية تصفية الكلى عند مرضى القصور الكلوي المزمن

إن النقط الآتية المفصلة في الوثيقة الإعلامية و التي تصطب هذه الاستمارة قد أبلغت إلى علمي:

- الهدف، الطريقة، المدة، الاختبارات الضرورية.
- رأي اللجنة الاستشارية لحماية الأشخاص.
- من حقي رفض المشاركة رغم موافقتي قبل ذلك، كما أن بإمكانني سحب الموافقة في أي لحظة.
- قدم لي مختصر مكتوب عن المعلومات المبلغة
- إن المعطيات التي تخصني ستبقى سرية للغاية و لا أسمح بالإطلاع عليها إلا للأشخاص الذين ساهموا في البحث مع الباحث، كما أن إمكانية الإطلاع عليها قد تسمح لممثل للسلطات الصحية.
- أقبل بأن تكون المعطيات المسجلة بمناسبة هذه الدراسة موضوع معالجة معلوماتية بالنسبة للمشرف ولحسابه.
- ألتزم من جهة أخرى ألا أشارك في أي بحث طبي متزامن مع هذا البحث و لمدة 3 أشهر.
- جميع مصاريف الدراسة والبحث ستكون على عاتق المكلفين بهذه الدراسة.

توقيع المتطوع :

وحرر بفاس بتاريخ:

توقيع الباحثين:

ملاحظة: سلمت نسخة من هذا الالتزام للمتطوع

IMPACT DU CHANGEMENT DES MEMBRANES DE DIALYSE SUR LE STRESS OXYDANT : POLYSULFONE VERSUS HELIXONE.

- La présente étude consiste à comparer d'abord, le taux de certains marqueurs du stress oxydant chez des hémodialysés chroniques sur des prélèvements sanguins, puis déterminer le niveau d'oxygénation cérébrale par des imageries par résonance magnétique.
- Les différents tests sont réalisés avant et après dialyse sous deux types de membranes : les membranes polysulfone, utilisés depuis plus de six ans, remplacées récemment, par le ministère de santé, par des membranes d'helixone.
- L'intérêt de cette étude est de déterminer le taux de ces molécules, et évaluer leur impact sur l'atteinte de d'autres organes lié à la maladie rénale. Elle permettra d'identifier l'effet du dialyseur sur l'état inflammatoire chronique des hémodialysés ainsi que d'envisager de nouveaux outils thérapeutiques dans l'insuffisance rénale terminale.

دراسة اثر استبدال أغشية تصفية الكلى عند مرضى القصور الكلوي المزمن

تعتمد هذه الدراسة على مقارنة بعض من عوامل الأوكسدة عند مرضى القصور الكلوي المزمن، و تحديد مستوى الأوكسجين في الدماغ عن طريق التصوير بالرنين المغناطيسي.

تجرى هذه الاختبارات قبل و بعد حصص غسيل الكلى، و باستعمال نوعين مختلفين من الأغشية.

تهدف الدراسة إلى مقارنة مستويات عوامل الأوكسدة و مدى تأثيرها في ظهور معظم مضاعفات مرضى القصور الكلوي.

ستمكن هذه الدراسة أيضا إثبات مدى تأثير أغشية الغسيل الكلوي على الحالة الالتهابية المزمنة لهؤلاء المرضى، و تصور وسائل علاجية جديدة.

Informations pour le patient concernant l'étude de l'analyse biologique de facteurs biochimiques sanguins en relation avec l'insuffisance rénale

La présente étude consiste à analyser certaines molécules dans le sang des patients souffrant d'une insuffisance rénale, en relation avec le système de défense anti oxydant dans l'organisme humain. Ces molécules peuvent jouer un rôle aussi bien dans la protection que dans l'agression de structures cellulaires dans l'organisme à l'échelle d'un organe, comme le cœur, le rein, le foie ou tout autre organe. L'intérêt de cette étude est de déterminer le taux de ces molécules, et évaluer leur impact sur la physiopathologie du rein, et sur celles d'autres organes liés à la maladie, comme le cœur. D'autres parts, une meilleure compréhension de l'impact de molécules objets de la présente étude, pourraient envisager de nouveaux outils thérapeutiques dans l'insuffisance rénale.

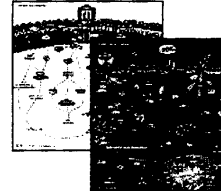
Lot # 571784

Calbiochem®

User Protocol 615700 Rev. 20-July-06 JSW

Total Antioxidant Status Assay Kit Cat. No. 615700

Visit our Interactive Pathways™ at
www.calbiochem.com/pathways



Note that this user protocol is not lot-specific and is representative of the current specifications for this product. Please consult the vial label and the certificate of analysis for information on specific lots. Also note that shipping conditions may differ from storage conditions. Full details are available at www.calbiochem.com.

Size
1 kit

Form
50 Tests.

Format
Cuvette

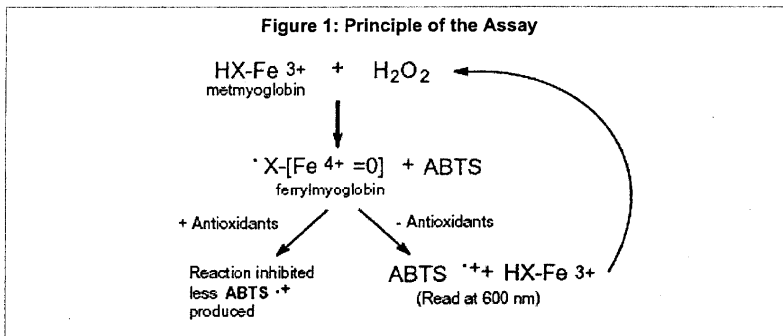
Detection Method
Colorimetric

Storage
Upon arrival store the entire kit contents at 4°C. **Note: The concentration of the standard is lot-specific. Please refer to the vial label for lot-specific concentration.**

Intended Use
The Calbiochem® Total Antioxidant Status Assay Kit is designed to assay antioxidant levels in serum or plasma samples. Additionally, the assay may be used to measure the antioxidant potential of (suitably solubilized) food and drug samples.

Background
Free radicals are highly reactive molecules generated by the biochemical redox reactions that occur as part of normal cell metabolism, and by exposure to environmental factors such as UV light, cigarette smoke, environmental pollutants and gamma radiation. Once formed, free radicals attack cell structures in the body. As a result, free radicals have been implicated in numerous diseases, including cancer, atherosclerosis, rheumatoid arthritis, diabetes, liver damage, and central nervous system disorders.

Principle of the Assay
The Total Antioxidant Status Kit is dependent on antioxidants in the sample inhibiting the oxidation of ABTS™ (2,2'-Azino-di-[3-ethylbenz-thiazoline sulphonate]) substrate to ABTS™^{•+} product by metmyoglobin (a peroxidase). The amount of ABTS™^{•+} product can be monitored by reading the absorbance at 600 nm. Under the reaction conditions used, the antioxidants in the sample cause suppression of the absorbance at 600 nm to a degree that is proportional to their concentration.



Materials Provided

- **Buffer:** 1 bottle, 100 ml, Phosphate Buffered Saline
- **Chromogen:** 5 vials, 10 ml each, Metmyoglobin and ABTS™
- **Substrate:** 2 vials, 5 ml each, stabilized H₂O₂
- **Standard:** 5 vials, 1 ml each, 6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid*
- *The concentration of the standard is lot specific. Please consult the vial label for the concentration.

Materials Required but not Provided

- Spectrophotometer or automated analyzer capable of measuring absorbance at 600 nm. A temperature controlled cuvette holder is highly recommended.
- Cuvettes with 1-cm path length

Precautions and Recommendations

- All pipettes should be thoroughly cleaned before use. Water used in the assay must be as pure as possible, the minimum standard being double-deionized water.
- Ensure that all pipettes have been accurately calibrated and are dispensing the correct volume.
- Ensure that all glassware and disposables are free from contamination, especially from hypochlorite and detergents.
- Check the temperature of the equipment being used for incubation of the samples.
- Time the reaction carefully. The absorbance changes very rapidly, and any delay in taking the reading can lead to a substantial error.
- Ensure that there has been no loss of standard material upon opening the vial. The standard is supplied in lyophilized form, and the vials are, therefore, under vacuum. The stopper must be removed slowly to allow air to enter the vial gradually; otherwise there is a risk that material will be lost. In addition, before the stopper is fully removed, the bottle should be sharply tapped on the bench several times to dislodge any material adhering to the stopper. The stopper should then be removed and placed flat side down on the bench while the appropriate volume is dispensed into the vial for reconstitution. The stopper should then be replaced and the contents mixed, ensuring that the liquid comes into contact with the stopper, so that any material adhering to the stopper is dissolved.

Reagent Preparation

- **Chromogen:** Add 10 ml Buffer to each vial of Chromogen needed for the assay (10 tests per vial). After reconstitution, the Chromogen is stable for 2 days at 4°C or 8 h at room temperature.
- **Substrate:** Dilute each vial of Substrate needed for the assay by adding 7.5 ml Buffer. After dilution, the

substrate is stable for 24 h at 4°C. NOTE: Some automated methods do not require substrate dilution.
 • Standard: Add 1 ml distilled water to each vial of Standard needed for the assay. After reconstitution, the Standard is stable for 2 days at 4°C or 1 month at -20°C.

Detailed Protocol

1. Zero the spectrophotometer at 600 nm against air and set temperature to 37°C. Equilibrate the diluted Substrate and Chromogen at 37°C for 5 min just prior to use. NOTE: It is advisable to equilibrate only the amount of each reagent necessary for the assays to be performed. A temperature of 37°C must be maintained throughout the assay.

2. Add the following to a cuvette:

Table 1: Addition of Reagents

	Blank	STANDARD	SAMPLE
ddH ₂ O	20 µl	-	-
Standard	-	20 µl	-
Sample	-	-	20 µl
Chromogen	1 ml	1 ml	1 ml

- Mix well and read the initial absorbance (A₀)
- Add 200 µl diluted Substrate to each cuvette. Mix and start the timer simultaneously.
- Read the absorbance after exactly 3 min (A)

Calculations

Calculation of Total Antioxidant Status

The antioxidant concentration of the Standard is used to calculate the antioxidant levels in the samples.

- Determine the ΔA for the samples, standard, and blank. $\Delta A = A - A_0$
- Calculate the concentration of antioxidants in the sample using the formula below:

Figure 2: Antioxidant Concentration Formula

$$\text{Antioxidant Concentration (mM)} = \frac{[\text{Standard}] (\Delta A \text{ Blank} - \Delta A \text{ Sample})}{(\Delta A \text{ Blank} - \Delta A \text{ Standard})}$$

NOTE: If the antioxidant concentration is greater than 2.5 mM dilute the sample with 0.9% NaCl and re-assay. Typical antioxidant levels in normal human plasma are 1.30-1.77 mM.

Sensitivity

Typically serum or plasma samples of 20 µl are sufficient when using the manual method. Samples of 5 µl are typically sufficient when using an automated analyzer. The assay is linear for antioxidant levels less than 2.5 mM.

Assay Range

0-25 nmol/10 µl plasma

Precision

Intra-assay coefficient of variation = 1.2% (mean = 1.37 mM; n = 20)
Inter-assay coefficient of variation = 2.4% (mean = 1.35 mM; n = 18).

Toxicity

MSDS available upon request.

References

Miller, N.J., et al. 1993. *Clin. Science* **84**, 407.

Trademarks

Calbiochem® is a registered trademark of EMD Biosciences, Inc.
ABTS™ is a trademark of Roche Diagnostics

Prices and availability are subject to change. ©Copyright 2006 EMD Biosciences, Inc., an affiliate of Merck KGaA, Darmstadt, Germany. All rights reserved. Each product is sold with a limited warranty, which is provided with each purchase. Each product is intended to be used for research purposes only. It is not to be used for drug or diagnostic purposes, nor is it intended for human use. EMD Biosciences products may not be resold, modified for resale, or used to manufacture commercial products without written approval of EMD Biosciences.

USA and Canada
Tel (800) 628-8470
technical@calbiochem.com

Germany
Freephone 0800 100 3496
techservice@merckbiosciences.de

United Kingdom and Ireland
UK Freephone 0800 622935
Ireland Toll Free 1800 409445
techservice@merckbiosciences.co.uk

All Other Countries
Contact Your Local Distributor
www.calbiochem.com
technical@calbiochem.com

A Brand of EMD Biosciences, Inc., an Affiliate of Merck KGaA, Darmstadt, Germany
www.calbiochem.com

FOR RESEARCH USE ONLY. NOT FOR HUMAN OR DIAGNOSTIC USE.

Protocole de dosage du MDA

MDA solution mère SM : 6M

MDA : la plus forte concentration : 100 μ M : dilution de la SM 60 000 x.

1^{ère} solution S1 obtenue par dilution de 600x la SM. S1 sera diluée 100x pour obtenir S2

Pour une prise d'essai de 100 μ l (échantillon biologique ou échantillon de la gamme étalon)

Pour les concentrations de 100, 50 et 10 μ M, utiliser la S2 (100, 50 et 10 μ l)

Pour les concentrations de 5, 2,5, 1, et 0.5 μ M, préparer une S3 à 5 μ M (S2 diluée 20x) : 100, 50, 20 et 10 μ l de S2 à compléter par H₂O jusqu'à 100 μ l.

Gamme étalon

MDA μ M	vol de la solution de MDA	H ₂ O μ l à rajouter qsp 100 μ l
0	0	100
0.5	10 de la S3	90
1	20 de la S3	80
2,5	50 de la S3	50
5	100 de la S3	0
10	10 de la S2	90
50	50 de la S2	50
100	100 de la S2	0

- Rajouter 3 volumes (300 μ l) de la solution de TBA (42 mM, soit 6 mg/ml)
- Rajouter 7 volumes (700 μ l) de la solution d'acide phosphorique à 1%.
- Incuber à 95°C, dans un bain ou dans l'étuve pendant 30 min.
- Arrêter la réaction par la mise des tubes dans la glace (ceci quand le temps de réaction doit être strictement le même pour tous les échantillons, exp : échantillons biologiques)
- Rajouter 11 volumes (1,1 ml) de n-butanol. Bien vortexer et centrifuger une ou deux minutes à 1000 tpm.
- Mesurer la DO du surnageant à 532 nm, avec la précaution de ne pas toucher à la phase inférieure.

REFERENCES

1. Kolyma WJ. First clinical experience with the artificial kidney. *Ann Intern Med* 1995; 62:608–619.
2. Detlef H. Krieter and Christoph Wanner. *Membranes for Dialysis and Hemofiltration*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2010.
3. KERR, P. G. and HUANG, L. Review: Membranes for haemodialysis. *Nephrology* 2010, 15: 381–385.
4. Philippe Brunet. Comment choisir une membrane de dialyse. Séminaire National d'enseignement de nephrology, Juin 2005.
5. Chanard J, Lavaud S, Maheut H, Kazes I, Vitry F, Rieu P. The clinical evaluation of low-dose heparin in haemodialysis: A prospective study using the heparin-coated AN69 ST membrane. *Nephrol Dial Transplant* Dec 21 2007 [Epub ahead of print].
6. Bernard CANAUD (2008) Les nanotechnologies en hémodialyse.
10ème Réunion Commune SN/SFD - Marrakech.
<http://www.rein-eform.org/data/2008/FlashConf/153/Media/index.htm>
(consulté le 01/06/2011).
7. A. V. Bil'dyukevich, N. G. Semenkevich, S. A. Pratsenko, and I. L. Zharkevich. The Influence of the Porofor Type on the Transport Properties of Polysulfone Membranes. ISSN 0040-5795, *Theoretical Foundations of Chemical Engineering*, 2009, Vol. 43, No. 4, pp. 517–521.
8. Fresenius Medical care. *Dialysers and Filters product range 2007* (brochure)
9. MPC Kao, DSC Ang, A Pall and AD Struthers. Review Oxidative stress in renal dysfunction: mechanisms, clinical sequelae and therapeutic options. *Journal of Human Hypertension* 2010 ; 24: 1–8.

10. P. Therond. Stress oxydant Dommages créés aux biomolécules (lipides, protéines, ADN) par le stress oxydant. *Ann Pharm Fr* 2006; 64: 383-389.
11. M. Laguerre, J. Lecomte, P. Villeneuve. Evaluation of the ability of antioxidants to counteract lipid oxidation: Existing methods, new trends and challenges. *Progress in Lipid Research* 2007 ; 46: 244-282.
12. Xavier Lerverve. Stress oxydant et antioxydants. *Cahiers de nutrition et de diététique* 2009 ; 44: 219—224.
13. Y. Al-Gadani, A. El-Ansary, O. Attas, L. Al-Ayadhi. Metabolic biomarkers related to oxidative stress and antioxidant status in Saudi autistic children. *Clinical Biochemistry* 2009 ; 42: 032-1040.
14. Jean Dallongeville. Vitamines et prévention de maladies cardiovasculaires: quelles preuves. *Cahiers de nutrition ET de diététique* 2009 ; 44: 225—229.
15. Florence CAMPAGNE (2004) La vitamine E. [http://www.caducee.net/Fiches techniques/vitaminesE.asp](http://www.caducee.net/Fiches_techniques/vitaminesE.asp) (consulté le 03/06/2011).
16. E Wagner A, Boesch-Saadatmandi C, Breckwoldt D, Schrader C, Schmelzer C, Döring F, Hashida K, Hori O, Matsugo S, and Rimbach C. Ascorbic acid partly antagonizes resveratrol mediated heme oxygenase-1 but not paraoxonase-1 induction in cultured hepatocytes - role of the redox-regulated transcription factor Nrf2. *BMC Complement Altern Med.* 2011; 11:1.
17. Gallo C, Renzi P, Loizzo S, Loizzo A, Piacente S, Festa M, Caputo M, Tecce MF, Capasso A. Potential Therapeutic Effects of Vitamin E and C on Placental Oxidative Stress Induced by Nicotine: An *In Vitro* Evidence. *Open Biochem J.* 2010; 4: 77-82.

18. TIHAN D, ERBIL Y, SEVEN R, ARKAYA S, TÜRKOĞLU U, HEPGÜL G, BORUCU I. The effect of glutamine on oxidative damage in an experimental abdominal compartment syndrome model in rats. *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg* 2011; 17 (1):1-8.
19. Wu CC, Chen JS, Wu WM, Liao TN, Chu P, Lin SH, Chuang CH, Lin YF. Myeloperoxidase serves as a marker of oxidative stress during single hemodialysis session using two different biocompatible dialysis membranes. *Nephrol Dial Transplant* 2005; 20: 1134-1139.
20. Kalantar-Zadeh K, Brennan ML, Hazen SL. Serum myeloperoxidase and mortality in maintenance hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 2006; 48(1): 59-68.
21. Cachofeiro V, Goicochea M, Garcia de Vinuesa S, Oubina P, Lahera V and Luno J. Oxidative stress and inflammation, a link between chronic kidney disease and cardiovascular disease. *Kidney Int* 2008; 74: 54-59.
22. MPC Kao, DSC Ang, A Pall and AD Struthers. Oxidative stress in renal dysfunction: mechanisms, clinical sequelae and therapeutic options. *Journal of Human Hypertension* 2010; 24: 1-8.
23. Filiopoulos V, Hadjiyannakos D, Valassopoulos D. Inflammation and oxidative stress in dialysis patients: the impact of renal replacement treatment. *CIN* 2009.
24. MORENA M, CANAUD B, TERRIER N, CANAUD L, CRISTOL JP. Oxidative stress complex syndrome: The dark side of the malnutrition-inflammation complex syndrome. *Hemodialysis International* 2007; 11:S32-S38.
25. J.-L. Beaudoux, J. Delattre, P. Therond, D. Bonnefont-Rousselot, A. Legrand, J. Peynet. Le stress oxydant, composante physiopathologique de l'athérosclérose. *Immuno-analyse & Biologie spécialisée* 21 2006 ; 144-150.
26. Yeun JY, Levine RA, Mantadilok V, Kaysen GA. C-reactive protein predicts all cause and cardiovascular mortality in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 2000; 35: 469-476.

27. Kato A, Odamaki M, Hishida A. Blood 8-hydroxy-20-deoxyguanosine is associated with erythropoietin resistance in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant*. 2003; 18: 931–936.
28. I. Idy-Peretti. Évolution de l'imagerie par résonance magnétique. *IRBM* 30. 2009; 53–59.
29. Françoise Jauzein — Dernière modification 12/04/2010
http://acces.inrp.fr/acces/ressources/neurosciences/methodes_etude_cerveau/irm_atomique_et_fonctionnelle/irm_generalites (Consulté le 11/06/11).
30. A Krainik, C Rubin, S Grand, O David, M Baciuc, A Jaillar, I Troprès, L Lamalle, H Duffau, JF Le Bas, C Segebarth et S Lehericy. L'imagerie par résonance magnétique cérébrale fonctionnelle en pratique clinique. *J Radiol* 2006;87:607–17.
31. S. Fall, G. de Marco. Exploration fonctionnelle cérébrale par IRMf Approche théorique de l'analyse spectrale. *Neurophysiologie Clinique/Clinical Neurophysiology* 2007; 37, 229—237.
32. C Delmaire, A Krainik, V Lethuc, N Reyns, H Duffau, L Capelle et S Lehericy. IRM fonctionnelle cérébrale : bases physiologiques, techniques et applications cliniques. *J Radiol* 2007;88:497–509.
33. A. Favier. Stress oxydant et pathologies humaines. *Ann Pharm Fr* 2006; 64 : 390–396.
34. Tetta C, Biasioli S, Schiavon R, et al. An overview of haemodialysis and oxidant stress. *Blood Purif* 1999; 17(2–3):118–126.
35. Descamps-Letscha B, Herbelin A, Nguyen AT, et al. Balance between IL-1 beta, TNF alpha, and their specific inhibitors in chronic renal failure and maintenance dialysis. Relationships with activation markers of T cells, B cells and monocytes. *J Immunol* 1995; 154(2):882–892.

36. Manal F.Elshamaa, Sbri S, Nabih M. Oxidative stress markers and C-reactive protein in pediatric patients on hemodialysis. *Annals of Nutrition and Metabolism* 2009; 55: 309-316.
37. Zimmerman J, Herrlinger S, Pruy A, Metzger T, Wanner C. Inflammation enhances cardiovascular risk and mortality in haemodialysis. *Kidney Int* 1999 ; 55: 648-658.
38. Steghens JP, Combarous F, Arkouche W. Influence de l'hémodialyse sur les concentrations de malonedialdéhyde total et libre, mesurées par une nouvelles technique HPLC spécifique. *Néphrologie and thérapeutique* 2005; 121-125.
39. Varan H, Dursun B, Dursun E, Ozben T, Suleymanlar G. Acute effects of hemodialysis on oxidative stress parameters in chronic uremic patients: Comparison of two dialysis membranes. *International Journal of Nephrology and Renovascular Disease* 2010; 3: 39-45.
40. Bhaskaran M, Radhakrishnan N, Patni H, Singh P, Chaudhary A, C.Singhal P. Dialysis membrane-induced oxidative stress: Role of heme oxygenase-1. *Nephron Exp Nephrol* 2007; 105: e24-e32.
41. Jackson P, Loughrey CM, Lightbody JH: Effect hemodialysis on total antioxidant capacity and serum antioxidants in patients with chronic renal failure. *Chn Chem* 1995; 41: 1135-1138.
42. Samouilidou E, Grapsa E: Effect of dialysis on plasma total antioxidant capacity and lipid peroxidation products in patients with end-stage renal failure. *Blood Purif* 2003; 21: 209-212.
43. Mircescu G, Capusa C, Stoian I, Vargolici B, Barbulescu C, Ursea N. Global assesement of serum antioxidant status in hemodialysis patients. *J Nephrol* 2005; 18:599-605.

44. Malliaraki N, Mpliamlias D, Kampa M, Perakis K, Margioris AN, Castanas E. Total and corrected antioxidant capacity in hemodialyzed patients. *BMC Nephrol* 2003; 4:1-4.
45. Sezer MT, Akin H, Demir M, et al. The effect of serum albumin level on iron-induced oxidative stress in chronic renal failure patients. *J Nephrol* 2007; 20(2):196-203
46. J.P.Mira. L'albumine endogène: un pouvoir anti oxidant majeur . *Réanimation* 2008 ; Hors série 3, 7-9.
47. Arjang Djamali, Elizabeth A. Sadowski. BOLD-MRI assessment of intrarenal oxygenation and oxidative stress in patients with chronic kidney allograft dysfunction. *Am J Physiol Renal Physiol* 2007; 292: F513-F522.
48. Keith DS, DeMattos et al. Factors associated with improvement in decreased donor renal allograft function. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16: 1512-1521;
49. Joao Pedro de Magalhaes et al. Cognitive aging as an extension of brain development: A model linking learning, brain plasticity, and neurodegeneration. *Mechanisms of Ageing and Development* 2005; 126: 1026-1033.
50. B.A. Sabel, S. Matzke and S. Prilloff. Special issues in brain plasticity, repair and rehabilitation: 20 years of a publishing strategy. *Restorative Neurology and Neuroscience* 2010; 28:719-728.
51. Cynthia A. Massaad and Eric Klann. Reactive Oxygen Species in the Regulation of Synaptic Plasticity and Memory. *ANTIOXIDANTS & REDOX SIGNALING* Volume 14, Number 10, 2011.
52. Mubeen A. Ansari et al. Oxidative stress and modification of synaptic proteins in hippocampus after traumatic brain injury. *Free Radic Biol Med.* 2008 August 15; 45(4): 443-452. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2008.04.038.