

Étude de la cytotoxicité de différents collyres à base de ciclosporine A buvable (Sandimmun®)

H. Nourry (1,2), S. Perrot (2,3), C. Martin (3), C. Chaumeil (4), C. Cambourieu (1), P. Rat (1,2,3), J.-M. Warnet (1,2,3)

(1) Service Pharmacie, CHNO des XV-XX, Paris.

(2) Unité de Pharmacotoxicologie Cellulaire, CHNO des XV-XX, Paris.

(3) Laboratoire de Toxicologie, Faculté de Pharmacie, Université Paris V, Paris.

(4) Laboratoire de Biologie, CHNO des XV-XX, Paris.

Les auteurs n'ont eu aucun intérêt financier.

Correspondance : H. Nourry, Service Pharmacie, CHNO des XV-XX, 28, rue de Charenton, 75012 Paris. E-mail : h-nourry@quinze-vingts.fr

Reçu le 9 juillet 2004. Accepté le 11 juillet 2005.

Cytotoxicity evaluation of different eyes drops with cyclosporine oral solution (Sandimmun®)

H. Nourry, S. Perrot, C. Martin, C. Chaumeil, C. Cambourieu, P. Rat, J.-M. Warnet
J. Fr. Ophtalmol., 2006; 29, 3 : 251-257

Introduction: Cyclosporine is a molecule used in ophthalmology for the prevention of corneal graft rejection. The systemic use of this product can lead to serious adverse side effects that can be avoided using the topical formulation of cyclosporine. However, cyclosporine application can induce ocular irritation.

Material and methods: The aim of this study is to evaluate the cytotoxicity of four formulations of 2% cyclosporine eye drops: Sandimmun® intravenous solution diluted with NaCl 0.9%, Sandimmun® oral solution diluted in castor oil or corn oil after ethanol evaporation, and Sandimmun® oral solution diluted in castor oil without previous ethanol evaporation. Two tests — the Draize test and the evaluation of cytotoxicity of adherent alive cells with cold light cytofluorimetry on microplates — were used in this study.

Results: These tests demonstrated that the aqueous solution shows more toxicity than the other formulations, and the type of oil and ethanol concentration influence cell viability.

Conclusion: These results helped the Pharmacy unit choose the vehicles for a safe cyclosporine eye drop formulation and thus decrease the side effects of cyclosporine eye drop instillation with a decrease in ethanol concentration compared to published formulations.

Key-words: Cyclosporine, eyes drops, ocular tolerance, vehicles, corn oil, castor oil, ethanol, corneal graft.

Étude de la cytotoxicité de différents collyres à base de ciclosporine A buvable (Sandimmun®)

Introduction : La ciclosporine est une molécule utilisée en ophtalmologie pour la prévention du rejet de greffe de cornée. Par voie topique, elle semble présenter un meilleur rapport bénéfice/risque avec une diminution des effets secondaires ; cependant l'instillation de ce collyre peut induire des effets locaux indésirables.

Matériel et méthodes : Le but de ce travail est d'étudier la cytotoxicité de quatre formulations du collyre de ciclosporine à 2 % : Sandimmun® injectable dilué dans du NaCl 0,9 %, Sandimmun® buvable évaporé et dilué dans de l'huile de ricin ou de l'huile de maïs, et Sandimmun® buvable non évaporé dilué dans de l'huile de ricin, en évaluant les influences respectives des excipients de ces collyres. Nous avons évalué la cytotoxicité des différentes formulations à l'aide du test de Draize et sur des cellules vivantes adhérentes avec des techniques de cytofluorimétrie en lumière froide en microplaques.

Résultats : Ces tests ont permis de mettre en évidence la cytotoxicité de la formulation oléoaqueuse comparativement aux formulations huileuses, l'influence de la nature de l'huile avec une diminution de la viabilité cellulaire plus importante pour les formules à bases d'huile de ricin, et l'influence de l'éthanol avec une diminution plus importante de la viabilité cellulaire pour les collyres n'ayant pas subi de phase d'évaporation de l'éthanol.

INTRODUCTION

La ciclosporine A, est un polypeptide cyclique d'origine fongique, constitué de 11 acides aminés, qui possède une action immunosuppressive principalement sur les lymphocytes T [1]. Elle agit en inhibant la production des cytokines impliquées dans la prolifération lymphocytaire, comme notamment l'interleukine 2 [1]. Elle est indiquée, comme le précise son autorisation de mise sur le marché, dans la prévention du rejet de greffe et le traitement de certaines maladies auto-immunes telles la polyarthrite rhumatoïde ou les uvéites.

En ophtalmologie, la ciclosporine a d'abord été utilisée par voie générale dans la prévention du rejet de greffe de cornée [2]. Toutefois, le rapport bénéfice/risque par cette voie est défavorable ; de nombreux effets secondaires tels que l'hypertension artérielle, la néphrotoxicité [3] ou l'hépatotoxicité [4] peuvent apparaître. Des praticiens ont ainsi cherché à l'utiliser par voie locale sous forme de collyre. Cette formulation présente l'avantage de diffuser dans la cornée et, en moindre proportion, dans l'humeur aqueuse [5], avec un passage systémique faible [6, 7], voire quasi-nul [8, 9]. Selon les études, le taux dans le bouton cornéen est au moins 10 fois supérieur à celui dans l'humeur aqueuse [7, 9, 10]. En ophtalmologie, la voie locale s'impose

Conclusions : Ces résultats ont permis d'optimiser la formulation du collyre de ciclosporine à 2 % afin d'améliorer la tolérance, notamment en diminuant la concentration en éthanol au minimum par rapport aux autres formulations relevées dans la littérature.

Mots-clés : Ciclosporine, collyre, tolérance oculaire, excipients, huile de maïs, huile de ricin, éthanol, greffe de cornée.

donc comme une solution aux effets secondaires systémiques induits par la prise de ciclosporine par voie générale. Dès lors, l'utilisation du collyre de ciclosporine dans la prévention du rejet du greffon cornéen fut étudiée par de nombreux auteurs [6, 7, 11]. Ces études semblent montrer l'efficacité du collyre de ciclosporine chez l'homme, permettant de prolonger la survie du greffon sans rejet [6, 12-14]. Cependant, ces résultats restent à confirmer car les études réalisées présentent, selon les cas, certains biais : nombre limité de patients, absence de randomisation, de groupe témoin, ou de double insu.

De par son action immunosuppressive et « anti-inflammatoire », la ciclosporine par voie locale apparaît comme une alternative aux corticoïdes dans la prévention du rejet de greffe de cornée, mais constitue également une thérapeutique de choix dans le traitement d'autres pathologies ophtalmiques comme certaines maladies inflammatoires et/ou auto-immunes telles que l'ulcère de Mooren, la kératoconjonctivite vernale [6, 15-19] ou la kératoconjonctivite atopique [20]. Les concentrations du collyre de ciclosporine utilisées dans les différentes indications précédemment évoquées varient de 0,5 % à 2 %.

Si l'utilisation du collyre de ciclosporine par voie locale limite considérablement l'apparition d'effets secondaires systémiques, elle peut toutefois provoquer des effets secondaires locaux. Ainsi une irritation conjonctivale ou une hyperémie, une toxicité pour l'épithélium cornéen, des démangeaisons et des sensations de brûlure pouvant se prolonger quelques heures après l'instillation, ont été décrites dans la littérature [5, 7, 14, 17, 18, 21]. Ces effets secondaires sont fréquemment rencontrés lors de l'instillation répétée du collyre de ciclosporine et peuvent conduire à de graves troubles de la surface cornéenne, troisième cause de rejet de greffe [14, 22]. Ces effets secondaires seraient liés selon certains auteurs aux différents excipients de la préparation et, pour d'autres, à l'éthanol contenu dans les différentes spécialités de Sandimmun® commercialisées et utilisables pour des préparations destinées à l'usage ophtalmique, ce qui a conduit à l'étude de différentes formulations du collyre de ciclosporine.

Cependant, devant la multiplication des formules relevées dans la littérature, nous avons commencé par chercher à déterminer la formulation la mieux tolérée. La détermination de la tolérance oculaire des différents composants du collyre de ciclosporine est une étude qui s'inscrit dans la démarche de mise au point d'un nouveau collyre et prend toute sa dimension au vu des effets secondaires décrits par différents auteurs [5, 7, 14, 17, 18, 21]. Elle constitue une étape préalable aux études de faisabilité et de stabilité.

Les différentes formulations du collyre à la ciclosporine peuvent être réalisées à partir de la spécialité injectable de Sandimmun® 50 mg/ml (Novartis Pharma) ou de la spécialité buvable de Sandimmun® 100 mg/ml (Novartis Pharma). Les principaux excipients utilisés sont le chlorure de sodium 0,9 % ou une huile végétale [15] telle que l'huile de ricin, l'huile d'olive ou l'huile de maïs [6, 7, 9, 10, 16-18, 20, 23].

L'objectif de ce travail est de déterminer la formulation la moins cytotoxique afin de permettre la réalisation des études nécessaires à la mise en place des préparations hospitalières du collyre de ciclosporine. Différents paramètres tels que la nature du solvant (huileux ou oléoqueux), la nature de l'huile utilisée, la présence d'éthanol et la concentration en ciclosporine ont été évalués à l'aide de tests de tolérance oculaire réalisés *in vivo* et *in vitro*, et ont permis de sélectionner les excipients pour la fabrication des collyres de ciclosporine.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Formulations des collyres de ciclosporine à 2 %

Les études de tolérance oculaire de quatre formulations différentes de collyre à la ciclosporine à 2 % (tableau I) ont été réalisées. Chaque formulation a été identifiée par une lettre. Une phase d'évaporation de la solution buvable de Sandimmun de 24 heures sous hotte à flux d'air laminaire fut réalisée pour les formulations B et C, ce qui permit de réduire la concentration en éthanol présente dans la solution de Sandimmun® buvable à une valeur inférieure à 0,2 % mesurée en chromatographie en phase gazeuse. Tous les composants entrant dans la réalisation du collyre de ciclosporine ont été soumis à une filtration stérilisante sur des membranes hydrophobes en téflon de 0,2 µm (Sartorius), à l'aide d'une pompe péristaltique. Ces opérations ont été réalisées sous hotte à flux d'air laminaire dans une pièce à atmosphère contrôlée (classe 100 selon la norme 146 44-1). Les formulations ont été réalisées conformément aux bonnes pratiques de fabrication des médicaments stériles (arrêté du 9 juin 1992) et répondent donc aux normes exigées pour la préparation des solutions oculaires.

Culture cellulaire

Une lignée de fibroblastes de cornée de lapin SIRC (cat n° 2-552 ; ATCC-CCL 60) a été cultivée dans les condi-

Download English Version:

<https://daneshyari.com/en/article/4025711>

Download Persian Version:

<https://daneshyari.com/article/4025711>

[Daneshyari.com](https://daneshyari.com)