

MAG/591-1-04/01

UNIVERSITE DES SCIENCES ET DE LA TECHNOLOGIE
HOUARI BOUMEDIENNE D'ALGER (U.S.T.H.B)

مكتبة كلية العلوم
ملحقة البيولوجيا

INSTITUT DES SCIENCES DE LA NATURE

B/1109

THESE DE MAGISTER

EN

PHYSIOLOGIE ANIMALE (Nutrition - Métabolisme)

présentée par

KHIRA MECIF épouse OTHMANI



Inscrit sous le n° 1308
Date le 2007 Juin 25
Case 26

Etude morphologique, ultrastructurale et histo-enzymologique du rein chez le rat des sables (Psammomys obesus) normal, diabétique, et après traitements antidiabétiques

Soutenue le 24 Mai 1989 devant la commission d'examen :

- | | |
|---|--------------|
| Mme M. BENSALEM, Professeur, U.S.T.H.B. | Président |
| Mme F. HADJ-BEKKOUCHE, Professeur, U.S.T.H.B. | } Examineurs |
| Mr. A. BOUFERSAOU, Professeur, U.S.T.H.B. | |
| Mlle Y. DAHMANI, Maître de conférence, U.S.T.H.B. . . | Rapporteur |

A MON PERE

A MA MERE

A MES FRERES ET SOEURS

A MON MARI

Le travail qui fait l'objet de cette thèse a été réalisé à l'Institut des Sciences de la Nature de l'Université des Sciences et de la Technologie "Houari Boumediène", dans le laboratoire de Physiologie de la Nutrition.

Je tiens à remercier Monsieur le Professeur G. MARQUIE pour son inspiration du sujet de thèse et pour m'avoir donné un bon élan, qui m'a permis de mener à terme ce travail de thèse.

Toute ma gratitude est exprimée à Madame M. BENSALEM, Directrice de l'Institut des Sciences de la Nature, Professeur en Biologie, qui m'a fait l'honneur de présider le jury, qu'elle trouve ici l'expression de mes respectueux remerciements.

Je tiens à exprimer ma reconnaissance à Madame HADJ BEKKOUCHE, Professeur en Biologie, qui m'a fait l'honneur de faire partie du jury.

Je tiens à exprimer mes respectueux remerciements à Mademoiselle Y. DAHMANI, Professeur en Biologie, pour toute l'aide qu'elle m'a prodiguée.

Je remercie vivement Monsieur A. BOUFERSAQUI, Professeur en Biologie, pour avoir accepté de se pencher sur ce travail.

Je n'oublie pas de remercier Monsieur P. HADJIISKY, Professeur à la Faculté de Médecine de Paris, pour son concours sur le plan histo-enzymologique, ainsi que Monsieur H. BOUISSOU, Professeur à la Faculté de Médecine de Toulouse III pour l'intérêt qu'il a porté à notre laboratoire et pour sa collaboration sur le plan histologique. Qu'ils trouvent ici l'assurance de mes respectueux remerciements.

Je tiens à exprimer toute ma gratitude à Mademoiselle Y. BENZAOUG et à Madame S. AOUICHAT, dont l'aide et les précieux conseils m'ont permis de progresser.

Mes sincères remerciements vont également à Madame N. ZANOUN pour la réalisation de la dactylographie de ce mémoire.

Je tiens de même à remercier tous les collègues : BELARBI, BOUDABA, BOUDERBA, EL LEMDANI, KHALKHAL, KHEMICI, KOCEIR, LAHFA, MAHTOUT, MOUSSA, OMARI et ZELMAT.

Enfin, mes chaleureux remerciements vont à mes proches pour leur dévouement sans mesure, qu'ils trouvent ici l'expression de ma profonde reconnaissance.

SOMMAIRE

	Page
INTRODUCTION	1
MATERIEL ET TECHNIQUES	33
MATERIEL BIOLOGIQUE	
PROTOCOLE EXPERIMENTAL	
TECHNIQUES	
CHAPITRE I	47
ETUDE DES PARAMETRES PLASMATIQUES CHEZ LE RAT DES SABLES SOUMIS AU REGIME NATUREL HYPOCALORIQUE.	
EVOLUTION DU SYNDROME DIABETIQUE CHEZ LE RAT DES SABLES SOUMIS A UN REGIME HYPERCALORIQUE.	
INFLUENCE DE LA THERAPEUTIQUE ANTIDIABETIQUE SUR L'EVOLUTION DU SYNDROME DIABETIQUE.	
CHAPITRE II	62
ETUDE DES COMPLICATIONS DEGENERATIVES DU REIN CHEZ LES RATS DES SABLES DIABETIQUES.	
* MORPHOLOGIE ET ULTRASTRUCTURE.	
* HISTOCHIMIE ET HISTO-ENZYMOLOGIE.	
CHAPITRE III	80
EFFETS DE LA THERAPEUTIQUE ANTIDIABETIQUE SUR LES COMPLICATIONS DEGENERATIVES RENALES CHEZ LE RAT DES SABLES DIABETIQUE.	
A. EFFETS DES REGIMES HYPOCALORIQUES.	
B. INFLUENCE DU TRAITEMENT PAR LE SULFAMIDE.	
C. INFLUENCE DU TRAITEMENT BIGUANIOIQUE.	

RELATIONS ALTERATIONS RENALES - DIABETE

THERAPEUTIQUE ANTIDIABETIQUE NUTRITIONNELLE ET
EVOLUTION DE LA NEPHRO-ANGIOPATHIE DIABETIQUE.

THERAPEUTIQUE SULFAMIDEE ET EVOLUTION DE LA
NEPHROPATHIE DIABETIQUE.

THERAPEUTIQUE BIGUANIDIQUE ET EVOLUTION DE
LA NEPHROPATHIE DIABETIQUE.

CONCLUSION.

RESUME	121
BIBLIOGRAPHIE	123
INDEX DES FIGURES	146.
INDEX DES PLANCHES	147
INDEX DES TABLEAUX	148
ANNEXE : TECHNIQUES HISTO-ENZYMOLOGIQUES	149
ANNEXE : FIGURES	173

I N T R O D U C T I O N

ORIGINE DU TRAVAIL

PROGRAMME DE RECHERCHES

ETUDE ANATOMIQUE ET HISTOLOGIQUE DU REIN-FONCTIONS-
HISTOMETABOLISME- REGULATION HORMONALE DU REIN

DIABETE ET COMPLICATIONS RENALES

L'objet de recherche du présent mémoire est relatif aux investigations morphologiques du rein chez le rat des sables [Psammomys obesus] présentant un syndrome diabétique, et après instauration de la thérapeutique antidiabétique. L'étude histologique et ultrastructurale du rein est complétée par une étude histoenzymologique.

ORIGINE DU TRAVAIL

Ce travail s'inscrit dans le cadre du programme général entrepris dans notre laboratoire, concernant les régulations hormonales des métabolismes, ainsi que les influences nutritionnelles et pharmacologiques. Les dysfonctionnements métaboliques sont soit provoqués (administration d'un régime hypercalorique chez le rat des sables, Psammomys obesus ou la Gerbille, Gerbillus gerbillus ; administration du cholestérol chez le poulet, Gallus domesticus), soit spontanés (perturbations métaboliques durant les premiers jours de la vie post-natale chez le Poussin, ou au cours du cycle annuel chez la Gerbille).

Notre intérêt s'est porté sur l'étude spécifique des complications dégénératives et athéroscléreuses qui affectent le rein chez le rat des sables présentant un syndrome diabétique lors d'une surcharge calorique, et à l'influence de la thérapeutique antidiabétique (régimes hypocaloriques, sulfamide hypoglycémiant et biguanide antidiabétique administrés précocément dès les premières manifestations diabétiques) sur cet organe afin de rechercher des effets préventifs éventuels.

Notre choix s'est porté sur le rein en raison d'une part des nombreuses fonctions qu'il remplit, et d'autre part parce-qu'il constitue l'organe privilégié des complications dégénératives et athéroscléreuse dans la maladie diabétique humaine.

Le problème de la pathogénie diabétique chez l'Homme et les animaux est d'une grande complexité. En effet, sous le terme de "diabète sucré", on regroupe une hétérogénéité de manifestations diabétiques, tant sur le plan biologique qu'anatomo-pathologique. Les facteurs étio-pathogéniques incriminés dans le déclenchement de la maladie diabétique sont nombreux : facteurs génétiques, facteurs d'environnement (alimentation, hygiène...), agression virale, voire toxique etc... Alors que les désordres métaboliques sont de nos jours facilement diagnostiqués et traités, l'avenir des sujets diabétiques dépend pour une large part de la prévention des complications vasculaires qui se développent conjointement à la maladie diabétique.

Etant donné l'importance des complications dégénératives et athéroscléreuses dans la maladie diabétique, des études expérimentales multiples et des enquêtes cliniques et épidémiologiques fort nombreuses, sont entreprises dans le monde sans qu'il soit encore possible d'aboutir à des conclusions définitives sur les facteurs étio-pathogéniques responsables. De plus, il n'est pas facile de connaître chez l'Homme le moment d'apparition du diabète, puisque ce dernier peut se développer pendant un certain temps sans manifestation clinique apparente.

Au regard des difficultés rencontrées chez l'Homme, des recherches expérimentales s'appuient de plus en plus sur des modèles animaux qui se rapprochent le plus possible de l'Homme. De très nombreux modèles ont été utilisés pour l'étude du diabète et des complications vasculaires tels que :

- la souris obèse de la nouvelle Zelande (N Z O), par BIELSCHOWSKY (1953).
- le Hamster de Chine par MEIER et YERGANIAN (1959).
- le rat soumis à la streptozotocine par RAKIETEN et al (1963).
- la souris KK par NAKAMURA (1962, 1965) et par DUHAULT et al (1972).

- la souris db/db par COLEMAN et HUMMEL (1967).
- la souris à pigments (Acomys cahirinus) par ORCI et al (1970).
- la souris ob/ob par RENAUD et al (1975).
- le rat alloxano-diabétique par MAUER et al (1972).
- le rat fa/fa par ZUCKER et BRAY (1961, 1977).

Il est extrêmement difficile de trouver une reproduction totale et exacte de la maladie diabétique humaine dans ces modèles. Cependant, ceux-ci peuvent permettre d'explorer un ou plusieurs facteurs pouvant intervenir dans les processus évolutifs mais pas l'ensemble des manifestations du diabète, qui constitue une maladie plurifactorielle par excellence.

C'est la raison pour laquelle l'étude des modèles expérimentaux présentant le maximum de potentialité se révèle nécessaire. C'est ainsi que les travaux menés au sein de notre laboratoire ont montré tout l'intérêt du rat des sables comme modèle de diabète (MARQUIE et al., 1980), des complications dégénératives (BENAZZOUG, 1981) et de l'athérosclérose (MAHTOUT, 1981).

Enfin, le choix du rein, organe particulièrement vascularisé, et des vaisseaux afférents, permet une approche étio-pathogénique à la fois des relations diabète- microangiopathie [qui affecte les petits vaisseaux] et diabète- macroangiopathie [qui affecte les gros et moyens vaisseaux], ce qui constitue les thèmes majeurs de notre laboratoire.

PROGRAMME DE RECHERCHES

Les travaux antérieurs du laboratoire ont montré que le rat des sables développe un diabète spécifique d'ordre nutritionnel entraîné par une surcharge calorique. L'apparition et le développement des

différents stades de ce diabète (obésité, diabète latent, diabète pléthorique ou de la maturité, diabète insulino-dépendant aboutissant au coma acido-cétoïque) sont parfaitement standardisés et reproductibles. Ce syndrome diabétique s'accompagne de complications dégénératives de type microangiopathie (BENAZZOUG, 1981), qui affectent précocément la peau (mise en évidence par des biopsies répétées), puis le myocarde et le rein. Des lésions d'athérosclérose se développent de façon tardive au stade diabète insulino-dépendant (MAHTOUT, 1981).

Des études réalisées sur 40 animaux aux différents stades de la maladie diabétique ont permis de confirmer les études précédentes, complétées par une étude histo-enzymologique et ultrastructurale.

Dans une deuxième phase importante des travaux du laboratoire, l'étude de l'aspect thérapeutique antidiabétique (régimes hypocaloriques, sulfamide hypoglycémiant et biguanide antidiabétique) sur l'évolution du syndrome diabétique et les complications dégénératives et athéroscléreuses a été réalisée et a donné lieu à plusieurs thèses (S. BOUDERBA, S. BOUGUERRA, D. KHEMICI, E. KOCEIR, 1985). Les rats des sables soumis au régime standard hypercalorique, sont traités très précocément dès l'apparition des premières manifestations diabétiques par la thérapeutique antidiabétique classique (à l'exception de l'insuline qui constitue le traitement ultime lorsque tous les autres essais thérapeutiques ont échoué). Le traitement ainsi institué a été prolongé pendant une période de 12 mois.

Au sein de ce travail expérimental mené conjointement, je me suis intéressé personnellement à l'étude morphologique, histochimique et ultrastructurale du rein.

Nos investigations ont été conduites sur 105 animaux répartis en plusieurs lots : animaux témoins soumis à un régime naturel, animaux diabétiques soumis à un régime standard, animaux présentant des manifestations diabétiques et traités soit aux régimes hypocaloriques restrictifs, soit au sulfamide hypoglycémiant, soit au

biguanide antidiabétique . Sur des animaux en expérience, nous avons suivi chronologiquement l'évolution des troubles métaboliques par des examens analytiques appropriés. Lors du sacrifice, nous avons prélevé différents organes ; notre investigation a porté uniquement sur le rein.

L'ensemble du travail expérimental réalisé au sein du laboratoire a été abordé sous une forme pluridisciplinaire réunissant des collègues chercheurs biochimistes et morphologistes. En outre, dans le cadre de mon travail personnel, nous avons établi des collaborations scientifiques avec Monsieur le Professeur P. HADJIISKY du Centre de Recherche sur les maladies cardio-vasculaires de l'association Claude BERNARD du C M U Pitié Salpêtrière de Paris, et Monsieur le Professeur H. BOUISSOU du Service d'anatomie et de cytopathologie de l'Université P. Sabatier de Toulouse.

Après avoir fait le bilan dans le domaine du diabète et des complications rénales, et décrit le protocole expérimental et technique utilisé, nous présentons dans le chapitre I l'évolution métabolique du syndrome diabétique chez les rats des sables soumis au régime hypercalorique. Dans le chapitre II, nous analysons les reins des animaux diabétiques étudiés sous l'aspect morphologique, histo-enzymologique et ultrastructural. Dans le chapitre III, nous examinons les reins des animaux diabétiques après un traitement de longue durée à l'arsenal antidiabétique. L'ensemble des résultats relatifs à chaque chapitre fait l'objet de conclusions séparées. Dans la discussion générale, nous confrontons les principaux résultats morphologiques histo-enzymologiques et ultrastructuraux du rein des rats des sables diabétiques avec des données de la littérature concernant l'Homme et les autres espèces animales diabétiques. Enfin, nous comparons les effets favorables de la thérapeutique antidiabétique sur l'évolution des complications rénales que nous avons obtenues chez le rat des sables en fonction des données bibliographiques.

ETUDE ANATOMIQUE DU REIN

Le rein est un organe pair dont la fonction essentielle est d'épurer le sang des substances de déchets. Outre cette activité, le rein assure d'autres fonctions essentielles, à savoir le maintien de l'équilibre acido-basique du sang, la régulation de la pression osmotique et la production d'hormones.

STRUCTURE DU REIN

1- Structure macroscopique

Le rein est un organe ayant la forme en haricot, situé en arrière du péritoine, de chaque côté de la colonne vertébrale. Chaque rein est recouvert d'une capsule fibreuse et se trouve entouré de tissu adipeux qui le protège.

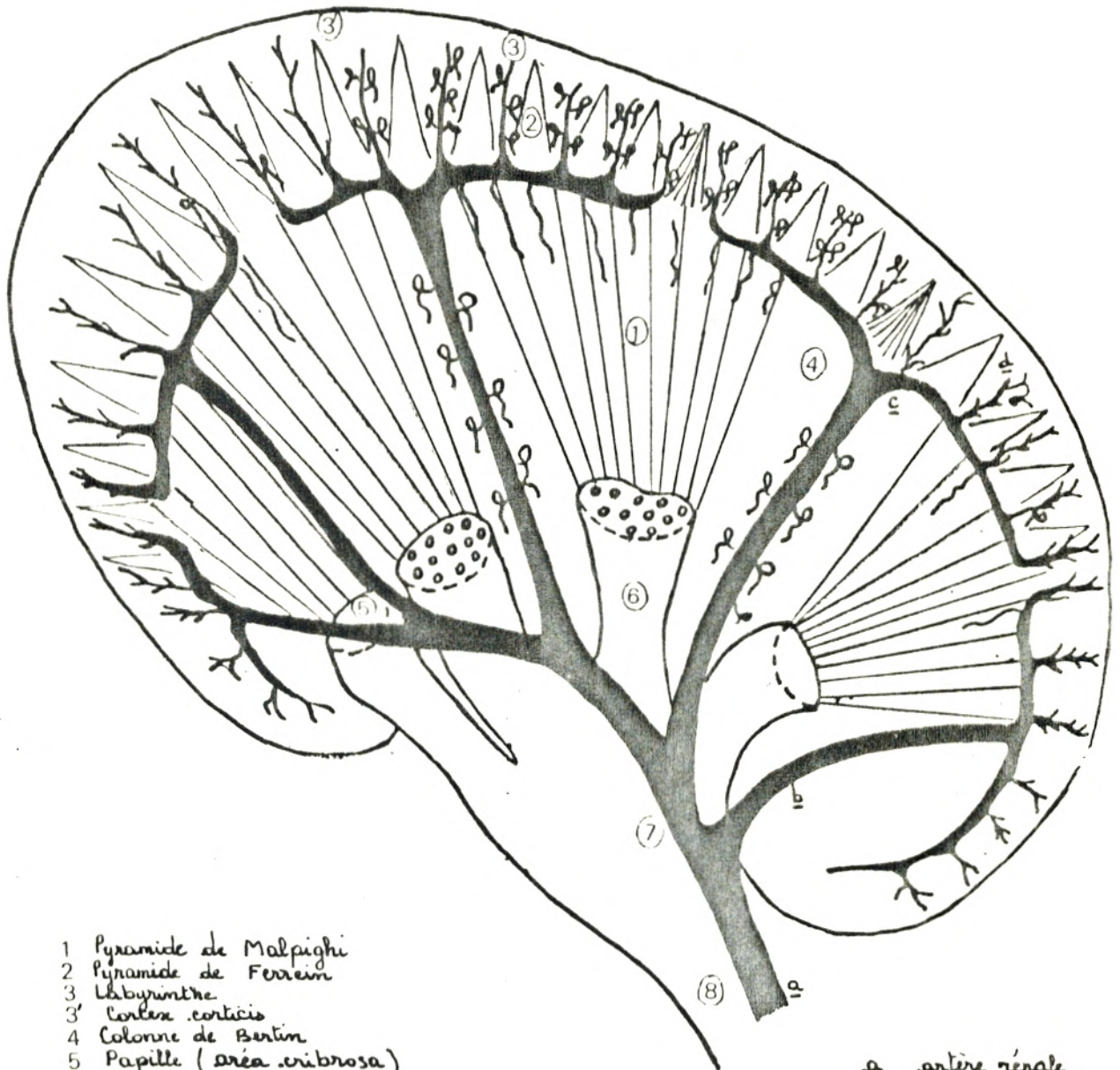
Une section longitudinale du rein montre une zone corticale périphérique, de couleur rouge foncé, et une zone médullaire interne beaucoup plus claire. L'épaisseur de la médulla est variable selon les espèces, ainsi, selon ABDALLAH et TAWFIK (1969), Psammomys obesus présente une épaisseur de la médulla relativement plus grande que celle du rat de laboratoire. Selon GRUNFELD (1977) cette particularité est en rapport avec le mécanisme de concentration de l'urine, qui permet aux espèces désertiques de conserver le maximum d'eau.

AMIRAT et al (1975) constatent des variations saisonnières du poids du rein chez Psammomys obesus.

La zone médullaire [Fig.A]

La zone médullaire est constituée de pyramides dites de Malpighi dont les sommets convergent vers le sinus formant une saillie ou papille rénale, laquelle s'ouvre dans le calice. Le rein de Psammomys obesus présente une papille bien développée longue et large, se projetant dans l'uretère (ABDALLAH et TAWFIK, 1969). Le nombre de pyramides varie selon les espèces. Ainsi, chez les rongeurs, le

FIG. A CIRCULATION ARTERIELLE DU REIN CHEZ L'HOMME (selon Mouriquand, 1978)



- 1 Pyramide de Malpighi
- 2 Pyramide de Ferrein
- 3 Labyrinthe
- 3' Cortex cortico
- 4 Colonne de Bertin
- 5 Papille (area cribrosa)
- 6 Calice
- 7 Bassinet
- 8 Uretere

- a artere renale
- b artere peripyramidale
- c artere arcuée
- d artere interlobulaire

rein entier est considéré comme un simple lobe se terminant dans une seule papille, alors que le rein humain est multilobé et comporte 8 à 13 pyramides. Chaque pyramide forme avec le cortex qui lui est associé un lobe. Un lobule rénal est une unité fonctionnelle plus petite, comprenant une pyramide de Ferrein, les néphrons et sa continuation dans les pyramides de Malpighi.

La zone corticale.

Le cortex rénal constitue non seulement la surface du rein, mais s'enfonce également dans le sinus rénal entre les pyramides adjacentes, formant les colonnes de Bertin. La couche profonde du cortex présente des formations en colonnes : les pyramides de Ferrein ou rayons médullaires. Immédiatement au-dessous de la capsule se trouve le cortex corticis qui est dépourvu de glomérules de Malpighi. L'aspect granuleux de la corticale est dû à la présence de corpuscules sphériques : les corpuscules de Malpighi et les tubes contournés.

Vascularisation rénale

Chaque rein est vascularisé à partir d'une artère rénale qui émerge de l'aorte abdominale [fig. A]. Au niveau du hile, l'artère rénale se subdivise en plusieurs branches, et constitue les artères interlobaires. A la jonction corticomédullaire, les artères interlobaires se divisent en artères arciformes. Perpendiculairement à la direction de ces dernières, se détachent les artères interlobulaires qui se dirigent vers la capsule périphérique et se terminent par des capillaires. Au cours de leur trajet, elles donnent les artérioles glomérulaires afférentes qui se terminent, par un peloton vasculaire : le glomérule, dans le corpuscule de Malpighi. La topographie du drainage veineux rénal correspond en général à celle de la vascularisation artérielle, excepté qu'il n'y a pas de veine dans le glomérule. Les veines interlobaires se dirigeant vers le hile, se réunissent pour former la veine rénale qui se jette dans la veine cave inférieure.

2- Structure microscopique

L'unité morphologique et fonctionnelle du rein est le néphron. Le rein humain compte jusqu'à un million de néphrons. Le néphron est composé de deux parties :

- le glomérule de Malpighi (localisé dans le cortex uniquement).

- le tube urinaire qui débouche dans un tube collecteur.

Le tube urinaire est constitué de plusieurs segments définis par le caractère de l'épithélium qui les compose et par leur position dans le rein. Il existe des néphrons à anse courte, dépourvus d'anse grêle descendante et des néphrons à anse longue dont l'anse tourne à des profondeurs diverses dans la médullaire interne [BANKIR, 1980]. La proportion de néphrons à anse courte et de néphrons à anse longue varie selon les espèces (10 à 20 % de néphrons à anse longue chez l'Homme). Chez certains rongeurs adaptés à la vie désertique, dont Psammomys obesus, les néphrons à anse longue prédominent (88,7 %). Selon ABDALLAH et TAWFIK (1969), chez cette espèce il n'y a pas de néphrons corticaux, ni de néphrons courts alors qu'ils existent chez le rat Wistar.

Les différentes parties du tube urinaire sont [fig. 8] :

- le tube proximal, formé d'une partie contournée et d'une partie rectiligne.

- l'anse de Henlé avec une branche grêle descendante et une branche ascendante qui, grêle au début de son parcours devient large

- le tube contourné distal

- le tube collecteur de Bellini.

3- Vascularisation et innervation du néphron

a- Vascularisation

Le sang parvient au glomérule par l'artériole afférente laquelle se divise en plusieurs troncs vasculaires (4 à 6) puis en

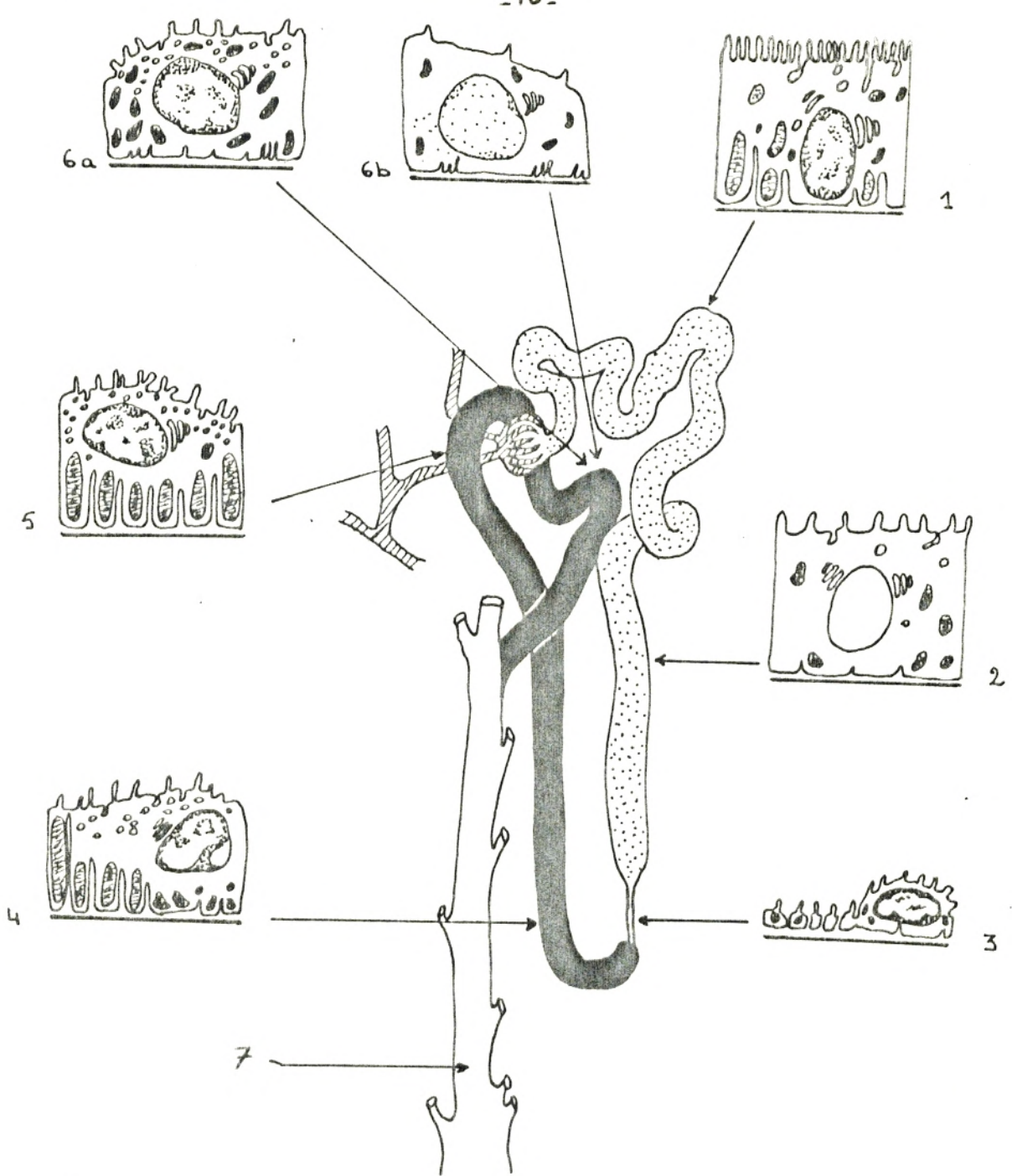


FIG. B. Structure et ultrastructure des différents segments du néphron.
 (D'après Heptinstall, 1974).

- 1 et 2 : partie convolutive et partie droite du tube proximal
- 3 : anse grêle
- 4 : anse large ascendante
- 5 : tube convolutive distal
- 6a et 6b : cellule sombre et cellule claire du canal collecteur
- 7 : tube collecteur.

plusieurs branches qui s'anastomosent entre elles formant un lobule du glomérule.

Après un trajet tortueux, ces branches se rejoignent à nouveau pour reconstituer des troncs plus larges dont la réunion forme l'artériole efferente. Celle-ci se trouve à proximité immédiate de l'artériole afferente, c'est à dire au niveau du pôle vasculaire. L'artériole efferente a un calibre inférieur à celui de l'artériole afferente correspondante. Le composant vasculaire du corpuscule du Malpighi est entièrement tapissé par le feuillet viscéral de la capsule de Bowman (Fig.C).

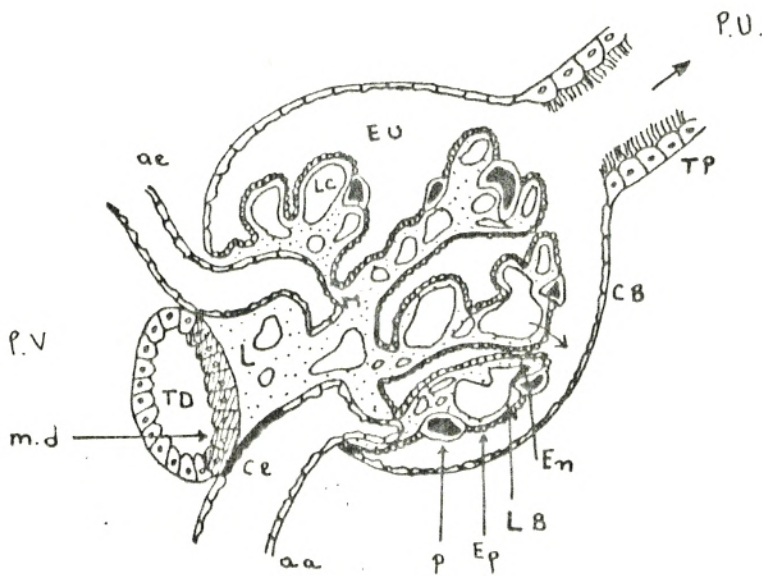
b- Innervation

Les nerfs qui pénètrent dans le rein contiennent principalement des fibres post-ganglionnaires sympathiques. A l'intérieur du rein, ces fibres accompagnent les artères et artérioles. Les artérioles afférentes des glomérules sont innervées par des fibres adrénérgiques qui semblent se prolonger souvent, jusqu'à l'artériole efferente en innervant l'appareil juxtaglomérulaire. Les structures tubulaires ne semblent pas être innervées, sauf peut être les tubules contournés à proximité des appareils juxtaglomérulaires [BARAJAS et MULLER, 1973].

ETUDE HISTOLOGIQUE DU REIN

1- La capsule rénale

L'enveloppe externe du rein ou capsule est constituée par un tissu conjonctif fibreux. On y trouve des fibrocytes, des fibres collagènes et élastiques, des fibres musculaires, des capillaires sanguins ainsi que des fibres nerveuses.



- P.U: Pôle urinaire
- P.V: Pôle vasculaire
- ae: artériole éfferente
- aa: artériole afférente
- L: lacis
- TD: tubule distal
- md: macula densa
- M: mésangium
- LC: lumière capillaire
- EU: espace urinaire
- En: endothélium vasculaire
- LB: Lame basale
- Ep: Epithélium urinaire
- P: podocyte
- CB: Capsule de Bowman
- TP: Tubule proximal
- Ce: cellules épithéliales

FIG. C. Glomérule et appareil juxtaglomérulaire

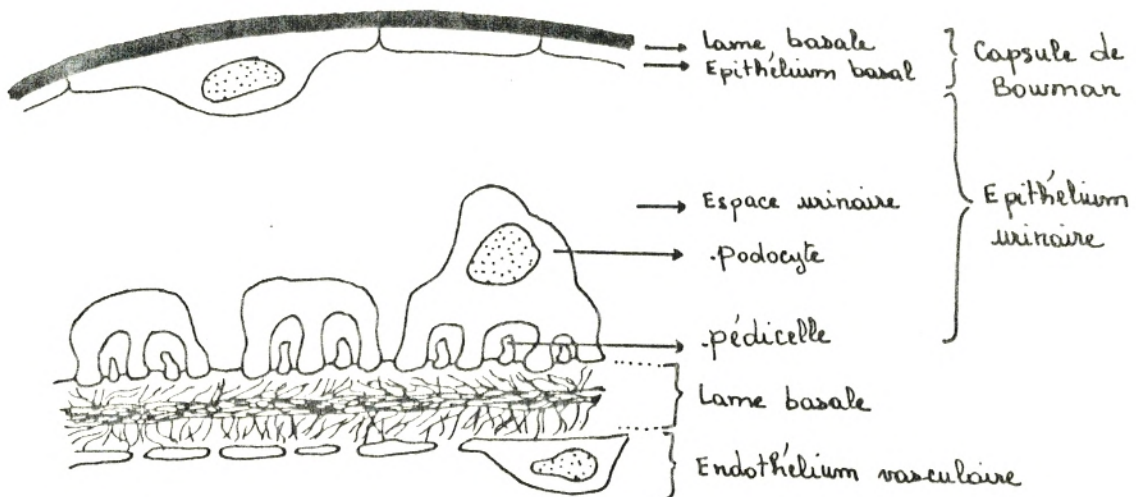


FIG. D. Filtre glomérulaire et capsule de Bowman

2- Le glomérule de Malpighi [fig.C]

Le glomérule représente une association tubulo-vasculaire. Sa limite externe, la capsule de Bowman est formée de cellules épithéliales entourant l'espace urinaire. A l'intérieur de cette capsule se trouvent les capillaires issus de l'artériole afférente. Ces capillaires sont soutenus par des axes mésangiaux. L'espace compris entre la capsule de Bowman et les capillaires glomérulaires forme la chambre glomérulaire qui se poursuit au pôle urinaire par le premier segment du tube proximal

a- La capsule de Bowman

Elle est constituée d'un feuillet pariétal et d'un feuillet viscéral.

- Feuillet pariétal : il est formé par un épithélium pavimenteux, reposant sur une lame basale PAS +. Les noyaux des cellules font saillie dans l'espace capsulaire. Au pôle urinaire, ces cellules pavimenteuses augmentent de hauteur pour former l'épithélium cylindrique qui borde le tube proximal.

Au pôle vasculaire, l'épithélium se poursuit par le feuillet viscéral qui recouvre intimement les capillaires et le mésangium.

- Feuillet viscéral : il est constitué de podocytes, cellules épithéliales viscérales qui émettent des pédicelles se raccordant sur la lame basale de manière discontinue. Au microscope électronique, ces cellules montrent un noyau ovoïde entouré de peu de cytoplasme, leur corps cellulaire se projette avec le noyau dans la lumière de la chambre urinaire [fig.D].

b- Les capillaires

La paroi des capillaires est composée de : l'endothélium, la lame basale, laquelle est en contact de l'épithélium du feuillet viscéral la capsule de Bowman.

- L'endothélium : très mince, présente des fenestrations visibles au microscope électronique (\varnothing : 75 nm). Les cellules qui le

constituent sont riches en vésicules de pinocytose.

- La lame basale : d'épaisseur variable, elle apparaît au microscope électronique formée de deux couches amorphes entourant une couche fibrillaire. La lame basale sépare rigoureusement les deux couches cellulaires du filtre, à savoir l'endothélium vasculaire et l'épithélium urinaire [Fig. D].

c- Le mésangium

Il est constitué d'une matrice homogène et de cellules mésangiales. Ces cellules petites d'allure étoilée remplissent l'espace intercapillaire. Elles sont douées d'une grande capacité de phagocytose et semblent être d'origine musculaire lisse [LATTA, 1973].

3- Le tube contourné proximal [Fig. B] .

Il commence au pôle urinaire du corpuscule de Malpighi. Il suit une course sinueuse et forme une grande boucle vers la surface capsulaire du rein. Il se redresse à son extrémité terminale et se continue par la branche descendante grêle de Henlé. Au microscope photonique, il apparaît formé d'un épithélium de type cylindrique, les cellules étant hautes et pyramidales avec des noyaux basaux larges et arrondis. La lumière tubaire est peu importante. Au microscope électronique, ces cellules présentent des microvillosités formant une bordure en brosse au pôle apical. Cette face bordant la lumière est riche en enzymes. ABDALLAH et al. [1969] ont remarqué la présence de cette bordure en brosse ainsi que les granulations colorées chez Psammomys obesus sous la bordure en brosse, il existe un système de vacuoles qui témoigne d'une grande activité de pinocytose.

Le pôle basal des cellules repose sur une lame basale qui présente de nombreuses invaginations de la membrane plasmique, entre lesquelles s'observe un grand nombre de mitochondries en bâtonnet.

4- L'anse de Henlé [Fig. B]

La paroi de la branche descendante grêle présente des cellules pavimenteuses dont les noyaux arrondis font saillie dans la lumière du tube. Le cytoplasme est clair avec de rares granules dispersés. Selon BARRET et al [1978], la branche grêle présente différents types d'épithélium qui sont en relation avec le rôle physiologique des différentes parties de ce segment.

La branche ascendante large est formée de cellules cubiques dont le cytoplasme se colore plus fortement.

Au microscope électronique, les cellules des deux branches présentent de rares microvillosités rudimentaires.

Les cellules de la branche grêle présentent de nombreux systèmes de jonction intercellulaires. Par contre au niveau de la branche large, les limites cellulaires sont assez nettes.

De plus, dans la région basale de la branche large, il existe des replis cytoplasmiques semblables à ceux observés au niveau du tube proximal.

5- Le tube contourné distal [Fig. B]

Le tube distal est formé de cellules basses présentant des noyaux ronds centraux et un cytoplasme clair, avec des limites cytoplasmiques nettes. Il ne présente pas de bordure en brosse, mais ses cellules présentent une striation basale semblable à celle du tube proximal.

Au contact de l'artériole afférente les cellules du tube distal deviennent cylindriques et se différencient en une plaque : la macula densa, qui fait partie de l'appareil juxtaglomérulaire.

6- Le tube collecteur [Fig. B]

Les cellules qui forment la paroi du tube collecteur sont cubiques, avec des limites bien définies, un cytoplasme très clair et des noyaux arrondis et centraux.

L'augmentation du calibre du tube collecteur s'accompagne d'une

augmentation de la hauteur des cellules.

La microscopie électronique révèle la présence de microvillosités apicales et l'absence de bordure en brosse. Le cytoplasme est pauvre en organites. Chez l'espèce désertique Psammomys obesus, dont les tubes collecteurs sont, selon ABDALLAH et al. (1969) plus longs que ceux du rat Wistar, l'épithélium du tube collecteur passe de cubique à pavimenteux au niveau de la zone externe de la papille. Ces cellules pavimenteuses présentent des noyaux ronds, saillants vers la lumière relativement large, mais ne montrent pas de mitochondries.

Au niveau des tubes terminaux, l'épithélium semble être disposé en deux couches.

Selon ces mêmes auteurs, au niveau de la papille, plusieurs noyaux apparaissent arrangés transversalement et encerclent partiellement quelques canaux longitudinaux. Trois à cinq noyaux peuvent être arrangés pour former un revêtement sur un segment du canal. Il semblerait que ces cellules soient les équivalentes des cellules interstitielles du rein de rat de laboratoire.

7- L'appareil juxtaglomérulaire (Fig. C)

Il est constitué par les structures vasculaires, épithéliales et cellulaires suivantes :

- la macula densa : les cellules épithéliales deviennent plus hautes, étroites et serrées formant une structure palissadique. Les noyaux sont arrondis, plus petits que dans le reste du tube.

- les cellules musculaires lisses de la média de l'artériole afferente s'hypertrophient, prennent une allure épithélioïde. Ces cellules responsables de la sécrétion de rénine ont un cytoplasme riche en grains de sécrétion.

- le lacis : constitué d'amas de petites cellules à noyaux condensés et à cytoplasmes réduits. Cet amas est en contact de la macula densa.

6- Le tissu conjonctif interstitiel

Le tissu interstitiel est mieux représenté dans la médulla que dans le cortex. Il est constitué de quelques fibres de réticuline et de fibroblastes au niveau du cortex rénal.

Au niveau de la médulla, il sépare nettement les tubes les uns des autres, il est riche en fibres de collagène.

FONCTIONS DU REIN

Le rein assure trois fonctions essentielles :

- 1- Une fonction d'épuration du plasma sanguin par des processus de filtration et de réabsorption.
- 2- Une fonction sécrétrice.
- 3- Une fonction de régulation de la tension artérielle.

1- Fonction de filtration et de réabsorption

- . Filtration glomérulaire
- . Réabsorption d'eau et de certaines substances au niveau des différents segments
- . Sécrétion.

a- Filtration

Elle est réalisée au niveau du glomérule grâce à un filtre dont la perméabilité à l'eau et aux électrolytes est très élevée, mais qui retient les macromolécules dans l'espace vasculaire [BANKIR, 1980]. Le filtre est composé de : la lame basale, les cellules épithéliales urinaires qui forment les pédicelles, l'endothélium des capillaires, mince et fenêtré.

b- Réabsorption

L'ultrafiltrat glomérulaire ou urine primitive passe dans les différentes portions du tube urinaire où il subit des transformations [Fig. E] :

- au niveau du tube proximal : 85 % de l'eau est réabsorbé à ce niveau. Les électrolytes sont réabsorbés à plus de 85 %. Les acides aminés, la vitamine C et la totalité du glucose sont réabsorbés à ce niveau.

- au niveau de la branche large de l'anse de Henlé : il y a réabsorption d'eau et de Na^+ .

- au niveau du tube distal : réabsorption de Na^+ .

- au niveau des tubes collecteurs : réabsorption d'eau sous le contrôle de l'hormone antidiurétique (ADH) et réabsorption d'urée. L'urine primitive isotonique au niveau du proximal, devient hypertonique au sortir de la branche descendante ; lors de son passage dans la branche ascendante, elle devient à la sortie hypotonique. Dans le tube contourné distal, sous l'effet de l'ADH, l'urine devient isotonique et à la fin des canaux collecteurs elle termine hypertonique.

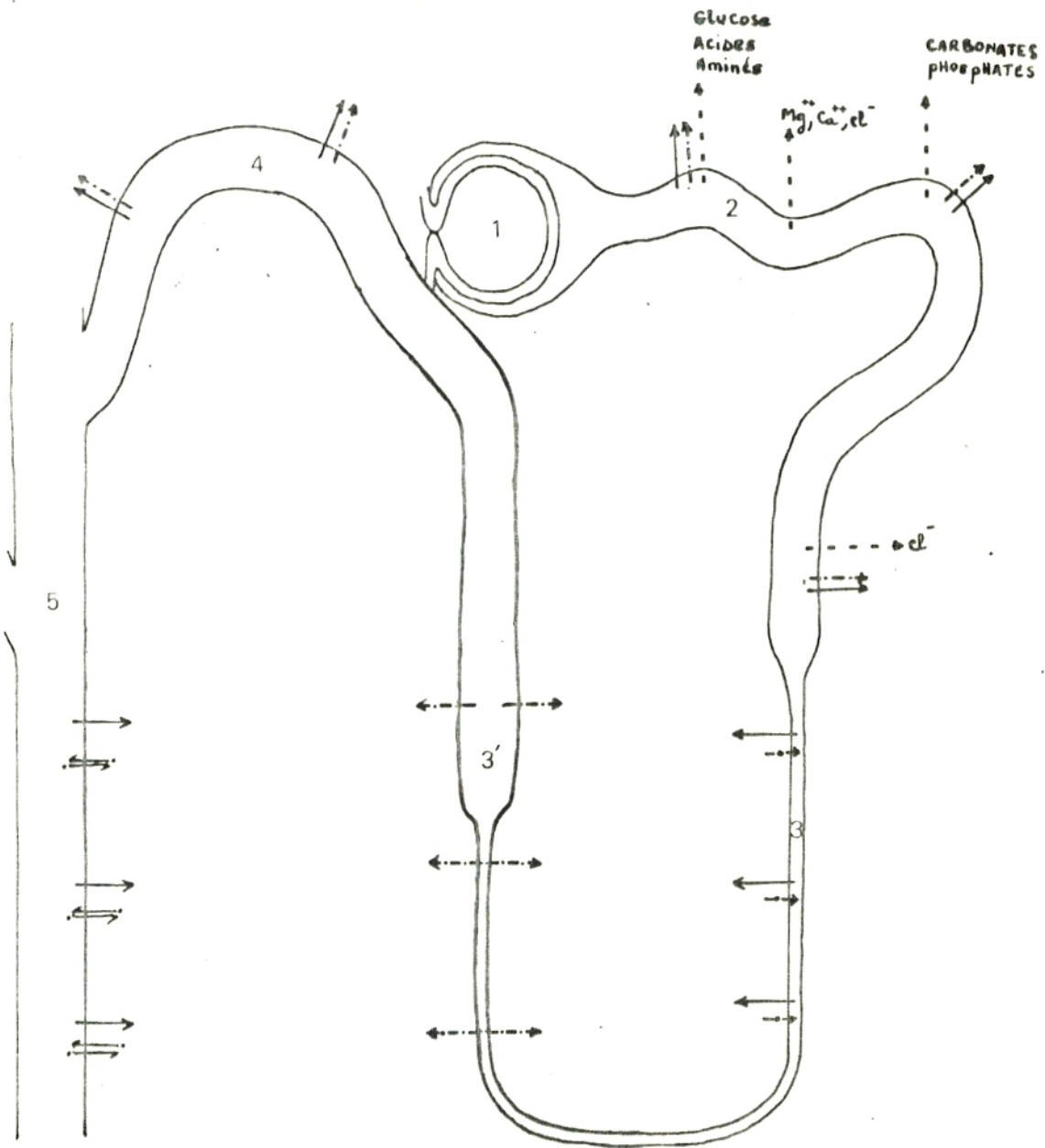
c- Sécrétion

Au niveau du tube proximal, les cellules déversent dans la lumière tubaire la créatinine.

Au niveau du tube distal, il y a production de K^+ ainsi que d'ions H^+ qui acidifient l'urine.

Au niveau du canal collecteur, se produit la sécrétion d'ions NH_3^+ (associés aux anions des acides forts) qui maintiennent les cations fixes [Na^+ , K^+] ce qui permet de réguler l'équilibre acido-basique plasmatique.

FIG. E ECHANGES D'EAU ET DE SUBSTANCES LE LONG DU NÉPHRON AU COURS DE L'ÉLABORATION D'UNE URINE HYPERTONIQUE (d'après Pitts, 1976 complété)



- 1 glomérule
- 2 tube contourné proximal
- 3 branche descendante de l'anse de Henlé
- 3' " ascendante "
- 4 tube contourné distal
- 5 canal collecteur

- diffusion passive de H₂O
- .-→ transport actif de Na⁺
- diffusion passive de Na⁺
- ⇌ échange de Na⁺ contre K⁺, H⁺, NH₄⁺

2- Rôle sécréteur

L'appareil juxtaglomérulaire, plus précisément les cellules différenciées de l'artériole afférente produisent la rénine, substance vaso-constrictrice.

Plusieurs prostaglandines sont synthétisées dans le rein au niveau de la médulla par les cellules interstitielles et les cellules du canal collecteur et, au niveau du cortex, par les parois vasculaires, selon Mc GIFF (1979). Ces hormones semblent avoir une place importante dans la régulation de la circulation rénale, mais leurs mécanismes d'action exacts restent à élucider.

3- Fonction régulatrice de la tension artérielle

Le rein assure la fonction régulatrice de la tension artérielle en contrôlant l'équilibre hydrominéral par différents procédés d'une part, et d'autre part grâce à la sécrétion de rénine. La rénine transforme dans le courant sanguin, l'angiotensinogène en angiotensine I puis en angiotensine II, substance hypertensive. Les angiotensines jouent un rôle important dans les fonctions rénales (Flux sanguin rénal, filtration glomérulaire, stimulation de la natriurèse), selon MENARD (1980).

HISTOMETABOLISME DU REIN

L'étude du métabolisme rénal a essentiellement consisté en l'étude du devenir de certains substrats, tels que le pyruvate, le lactate, le glutamate et la glutamine.

Métabolisme glucidique

Le rein est un organe capable de dégrader et de synthétiser le glucose de novo chez les Mammifères, MALEQUE et al (1980) rapportent que la néoglucogénèse n'est pas une fonction précise du foie, mais également celle du cortex rénal.

La néoglucogénèse

La néoglucogénèse est une fonction spécifique du tubule proximal, la pars recta* en serait le site principal (MALEQUE et al., 1980.) Selon le même auteur, l'étape limitante est celle catalysée par la pyruvate carboxylase à partir du pyruvate, dérivé du lactate, et des acides aminés glucoformateurs. Les précurseurs de la néoglucogénèse tels que le citrate, le lactate, l' α cétooglutarate sont réabsorbés au niveau de ce même tubule (SCHMID et al., 1978).

STAUS (1964) et BOURDEAU et al., (1972) rapportent que l'activité de la Nacétyl α D glucosaminidase est maximale au niveau de la convolution proximale, ce qui coïncide avec le site d'absorption maximale des protéines.

Au niveau de la branche large ascendante, une faible activité de la fructose biphosphatase est notée, alors que la glucose 6 phosphatase et la phosphoénol pyruvate carboxykinase montrent une forte activité (SCHMID et al., 1978).

La glycolyse

La dégradation du glucose est principalement localisée au niveau du tubule distal ; cette particularité peut être reliée aux fonctions tubulaires spécifiques, telles que la réabsorption du NaCl, la sécrétion de K^+ (SCHMID et al., 1978).

Au niveau du tube distal, la phosphofructokinase et la pyruvate kinase présentent une activité 10 fois supérieure à celle observée au niveau du proximal, d'après SCHMID et al., (1980).

Le HIR et al., (1982) rapportent que certaines enzymes du cycle tri-carboxylique, telles que l'oxaloglutarate déshydrogénase, la citrate synthétase, l'isocitrate déshydrogénase présentent des activités plus importantes au niveau de la branche large ascendante et du distal qu'au niveau du tube proximal.

Métabolisme du glutamate et de la glutamine

Le rein élimine l'excès d'acide dans l'urine essentiellement

* partie droite

sous forme d'ammonium, dans le but de maintenir constante la concentration de H^+ dans le fluide corporel.

Belon GOODMAN [1973], le cortex rénal du rat produit beaucoup plus d'ammonium que la médulla. VINAY et al., [1981], NONOGUCHI et al., [1985], BUERKERT et al., [1982, 1983] rapportent que le site majeur de la production d'ammonium est le tube proximal. Ainsi, toute variation de l'équilibre acido-basique se traduit par un changement de la production d'ammonium seulement au niveau du tube proximal [GOOD et BURG, 1984].

La production d'ammonium au niveau du rein de rat est principalement sous le contrôle de la glutaminase qui présente 2 isoenzymes :

- la phosphate dépendante glutaminase qui présente l'activité la plus élevée au niveau du tubule distal et l'activité la plus basse au niveau du proximal.

- la phosphate indépendante glutaminase qui présente l'activité la plus élevée au niveau du proximal [NONOGUCHI, 1985].

SHIMADA et al., [1982] estiment que la glutamate déshydrogénase joue un rôle dans la production d'ammonium. Selon ces mêmes auteurs, cette enzyme est distribuée de manière homogène le long du néphron. D'après WOODWARD et al., [1935], le rein semble être capable de catalyser la dégradation du glutathion, HANES et al., [1950] rapportent que la γ glutamyltranspeptidase joue un rôle important dans ce processus. Selon ROCH-RAMEL [1980], le glucose représente le principal produit carboné du glutamate et de la glutamine, les groupements amide et amine de ces derniers sont essentiellement libérés sous forme d'ammoniac.

HEINLE et al., [1977] notent un maximum d'activité des enzymes du cycle γ glutamyl au niveau de la portion droite du proximal et pas au niveau de la portion contournée où se réalise la principale absorption des acides aminés.

Il semble que le rein utilise la majeure proportion de son métabolisme oxydatif à la réabsorption du Na^+ depuis le filtrat glomérulaire. Selon PITTS [1976], il n'existe pas de substrat énergétique unique et préférentiel pour le rein.

Bien que les organites cytoplasmique soient nombreux dans toutes les parties du néphron, il existe peu d'observations sur lesquelles on puisse s'appuyer pour en déduire la fonction.

Le tableau I récapitule les différentes structures du néphron et leurs fonctions correspondantes.

REGULATION HORMONALE DES FONCTIONS DU TUBE RENAL

De nombreux processus physiologiques qui interviennent au niveau du rein sont contrôlés par les hormones (Fig. F).

Le contrôle hormonal ne s'exerce pas de manière uniforme le long des différents segments du néphron ; de plus des différences notables de sites d'action sont observées d'une espèce à l'autre.

Hormone antidiurétique (ADH)

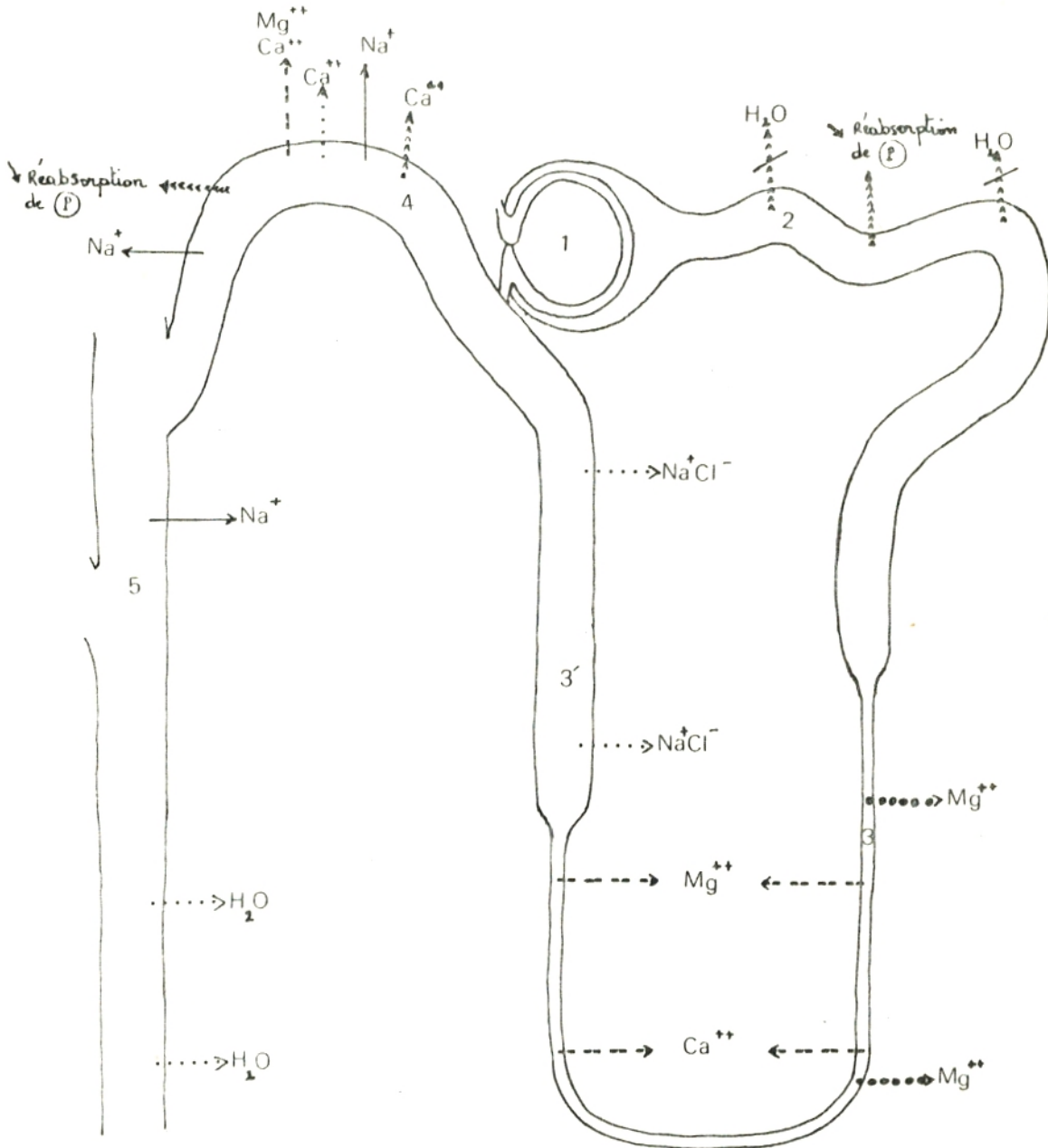
L'ADH est une hormone protéique qui est produite par l'hypothalamus.. D'après RAVIO et al. (1985), les sites de reconnaissance de l'ADH sont localisés au niveau de l'épithélium des tubes distal et collecteur essentiellement, et dans une proportion plus faible au niveau de la branche large ascendante de l'anse de Henlé. L'ADH assure l'augmentation de la perméabilité à l'eau des cellules épithéliales (concentration de l'urine).

Elle exerce une action sur l'adénylcyclase le long de la branche ascendante de l'anse de Henlé, en stimulant le transport actif du chlorure de sodium présent dans le segment, contribuant ainsi à la création d'un gradient intra-rénal de pression osmotique, selon MOREL et al. (1980). Elle augmente la réabsorption du Ca^{++} dans le tubule distal superficiel selon BAILLY et al. (1985).

Catécholamines

Les agonistes bêta des catécholamines ont un effet stimulant sur la libération de rénine par les cellules de l'appareil juxtaglomérulaire. Leur action physiologique le long du néphron reste à

FIG. F ACTIONS DES DIFFÉRENTES HORMONES LE LONG DU NÉPHRON



- 1 glomérule.
- 2 tube courbé proximal.
- 3 branche descendante de l'arc de Henlé.
- 3' branche ascendante " "
- 4 tube courbé distal.
- 5 canal collecteur.

—————> Réabsorptions favorisées par l'aldostérone
 - - - - -> " " le glucagon
> " " l'ADH
> " " la calcitonine
 >>>>> Effets de la PTH

TABEAU I LES DIFFÉRENTES STRUCTURES DU NEPHRON ET LEURS FONCTIONS.

Segments du néphron	Structure générale	Ultrastructure	Fonctions
glomérule	<ul style="list-style-type: none"> - lame basale - capillaires glomérulaires 	<ul style="list-style-type: none"> -lamina rara externa -lamina densa -lamina rara interna, -endothélium :cellules à noyau bombé vers l'intérieur avec fenestrations riches en vacuoles de pinocytose. -lame basale (commune à la capsule) 	<p>filtration glomérulaire (passage de l'eau, des électrolytes et des molécules à faible PM)</p>
de	<ul style="list-style-type: none"> - capsule de Bowman <li style="padding-left: 20px;">*feuillelet visceral 	<ul style="list-style-type: none"> -Epithélium constitué de podocytes avec pédicelles noyau ovoïde, peu de cytoplasme 	
malpighi	<ul style="list-style-type: none"> <li style="padding-left: 20px;">*feuillelet pariétal - mésangium 	<ul style="list-style-type: none"> -Epithélium formé de cellules pavimenteuses, aplaties, jointives à noyau fusiforme très allongé. -matrice homogène -cellules mesangiales: petites, étoilées à longs prolongements -présence de myofibrilles dans le cytoplasme 	<p>délimitation du glomérule</p> <p>production de substance fondamentale intercellulaire, phagocytose</p>

TABLEAU 1 (suite)

Segments du néphron	Structure générale	Ultrastructure	Fonctions
<p>Tube contourné proximal</p>	<p>Epithélium formé de cellules cylindriques hautes, à noyau large et arrondi en position basale, la lumière est réduite</p> <p>-pars convoluta</p>	<p>Présence de microvillosités formant une bordure en brosse</p> <p>Cytoplasme riche en ribosomes et en vacuoles de pinocytose</p> <p>Les bords apicaux des cellules adjacentes sont soudés</p> <p>Présence de microtubules à la base des microvillosités</p> <p>Abondance de mitochondries au bord basal</p> <p>La lame basale présente de nombreux replis</p>	<p>Augmentation de la surface de contact avec l'ultrafiltrat</p> <p>Synthèse d'enzymes qui interviennent dans la réabsorption</p> <p>Activité sécrétrice: notamment la créatinine</p> <p>Apport d'énergie pour transports membranaires</p> <p>Augmentation de la surface de contact avec les capillaires intertubulaires</p> <p>Absorption de Na^+, Cl^-, Ca^{++}, Mg^{++}, H_2O phosphates, carbonates glucose (en totalité) acides aminés.</p>

définir. Les agonistes alpha-adrénergiques des catécholamines modulent la concentration intra-rénale d'AMPc.

Hormone parathyroïdienne (PTH)

Cette hormone protéique, élaborée par la parathyroïde, inhibe tout le long du tubule proximal la réabsorption iso-osmotique du fluide tubulaire ; elle augmente l'excrétion rénale des phosphates en diminuant leur réabsorption dans les tubules proximal et distal. Elle élève également l'excrétion du K^+ , Na^+ , des bicarbonates et élève le pH urinaire. Enfin la réabsorption du Ca^{++} dans le tubule contourné distal serait augmentée, selon COSTANZO et al. (1978), par cette hormone.

Calcitonine

C'est une hormone protéique produite par la thyroïde : la calcitonine augmente l'excrétion rénale de Na^+ , Ca^{++} , Cl^- , phosphates, selon ARDAILLOU (1975). Elle favorise également la réabsorption du Mg^{++} au niveau de l'anse de Henlé (CHABARDES et al., 1980).

Aldostérone

C'est une hormone stéroïde sécrétée par la cortico-surrénale ; elle joue un rôle important dans la conservation du Na^+ par l'organisme. Elle régule le transport du Na^+ en agissant à trois niveaux, selon FARMAN (1980) :

- au niveau apical : augmentation de la perméabilité de cette barrière au Na^+ .

- au niveau basal : augmentation de l'activité de l'ATPase qui assure l'extrusion active du Na^+ et l'entrée active du K^+ .

- au niveau mitochondrial : stimulation de la production d'énergie nécessaire au transport actif du Na^+ dans la cellule.

Selon le même auteur, un grand nombre de travaux s'accordent pour localiser l'action majeure de l'aldostérone au niveau du tube distal et du tube collecteur.

Prostaglandines

Elles sont synthétisées dans la médullaire et dans le cortex. L'action des prostaglandines est différente selon les espèces et la prostaglandine considérée. Il semble qu'il existe d'étroites relations entre le système rénine-angiotensine et les prostaglandines selon GRUNFELD et al. (1980).

Glucagon

C'est une hormone protéique sécrétée essentiellement par les cellules A du pancréas, mais également par les cellules intestinales. Il favorise la réabsorption du Ca^{++} et Mg^{++} surtout au niveau des deux branches de l'anse de Henlé, et dans une moindre mesure dans le tubule distal (BAILLY et al., 1985).

DIABETE ET COMPLICATIONS RENALES

Au niveau du rein, les premières modifications constatées sont selon GUNDERSEN et al. (1978), OSTERBY (1979) et MOGENSEN (1979): une augmentation du volume du rein, du volume glomérulaire et un accroissement des lumières capillaires glomérulaires aboutissant à un hyperfonctionnement rénal. Selon ces auteurs, la filtration glomérulaire est augmentée de 20 à 40 % alors que le flux plasmatique rénal est légèrement supérieur à la normale.

SEYER-HANSEN et al. (1980) notent une hypertrophie rénale chez le rat rendu diabétique par la streptozotocine. La croissance glomérulaire est plus prononcée que celle du rein global durant les premiers jours ; par la suite, la croissance totale rénale excède la croissance glomérulaire, ce qui crée un déséquilibre de la balance glomérulo tubulaire dans les premières phases de l'hypertrophie rénale diabétique.

Il existe différentes formes de lésions rénales, associées au diabète :

- les lésions glomérulaires avec glomérulo-sclérose nodulaire,

diffuse ou exsudative [OSTERBY, 1973 ; KUSSMAN et al. 1976 et IRMSCHER 1977].

- les lésions artérielles

- les lésions tubulaires [néphrose tubulaire caractérisée par des dépôts de glycogène au niveau des cellules tubulaires proximales]

- atteintes interstitielles [infections, nécrose papillaire].

La glomérulosclérose nodulaire est la plus fréquente, elle se retrouve chez environ 25 % des diabétiques. Elle se caractérise par la présence dans les glomérules rénaux de nodules de 20 à 100 μm de diamètre. Selon DAUMERIE- GOFFINET et al. (1978), ces nodules apparaissent au microscope électronique comme des épaisissements de la membrane basale du mésangium ; c'est la lésion glomérulaire la plus spécifique, appelée syndrome de Kimmelstiel- Wilson.

D'après KIMMELSTIEL (1968), la glomérulosclérose diabétique n'est qu'une des manifestations d'une microangiopathie, consécutive à une anomalie fonctionnelle des cellules mésangiales.

Selon cet auteur, le mécanisme pathogénique de la microangiopathie s'applique à tous les capillaires de l'organisme, mais ne présente de conséquences cliniques sérieuses que dans le rein et la rétine. En plus de la glomérulosclérose, CAMERON et al. (1975) et IRMSCHER (1977) rapportent l'existence d'une artério et artériolosclérose ainsi que des lésions de pyélonéphrite*. Fréquente chez les diabétiques, la pyélonéphrite est considérée comme grave quand elle touche un rein déjà atteint de glomérulosclérose de Kimmelstiel- Wilson ; cette association est rencontrée dans environ 20 % des cas.

MANIFESTATIONS CLINIQUES

La glomérulopathie diabétique évolue en trois stades [LUBETZKI et al., 1978].

- protéinurie
- syndrome néphrotique avec hypertension artérielle
- l'insuffisance rénale.

1- Protéinurie

Le signe clinique le plus précoce de la glomérulosclérose est

* pyélonéphrite: infection bactérienne du parenchyme rénal.

une discrète protéinurie qui s'aggrave avec la progression de l'affection, ce qui entraîne une hypoalbuminémie et un oedème selon LUBETZKI et al. (1978). Cette protéinurie qui peut atteindre 4 à 10g par 24 heures est non sélective, bien qu'elle intéresse essentiellement l'albumine. Les molécules protéiques sont éliminées par simple diffusion plutôt que par filtration, consécutive à une altération des membranes basales des capillaires. Ce trouble de la perméabilité aux protéines serait dû aux anomalies des glycoprotéines de structure, de la membrane basale.

2- Le syndrome néphrotique

Il se caractérise par une hypoprotidémie due à une déperdition rénale et au catabolisme rénal des protéines réabsorbées par les cellules tubulaires. Une hyperlipidémie est également observée, ce qui dénote un trouble d'épuration des lipoprotéines.

L'hypoprotéinémie provoque une diminution du volume plasmatique, ce qui déclenche d'une part une hyperproduction d'aldostérone grâce à la mise en jeu du système rénine-angiotensine, d'autre part une diminution de la filtration glomérulaire, d'où un déséquilibre glomérulo-tubulaire augmentant la réabsorption de Na^+ dans les tubes proximal et distal. Ces deux processus concourent à induire à la fois l'oedème et l'hypertension artérielle.

En plus de cette hypertension, une augmentation du taux d'urée et de créatinine est observée (PETRIDES et al., 1981).

3- L'insuffisance rénale

L'insuffisance rénale est introduite par une dégradation simultanée des fonctions tubulaires et glomérulaires (LUBETZKI et al., 1978).

Dans les cas les plus évolués, la diminution de l'albumine et des γ globulines est accompagnée d'une augmentation relative des α et β globulines selon PETRIDES et al. (1981) ; de même à ce stade la glycosurie présente une diminution due à l'atteinte simultanée des fonctions de filtration et de réabsorption (LUBETZKI et al., 1978). A ce stade, les sujets diabétiques présentent une sensibilité accrue à l'insuline qui serait due en partie, selon WEINRAUCH et al. (1978) à une diminution du catabolisme rénal de l'insuline.

Il existe une forme rare mais fulminante de pyélonéphrite : la nécrose papillaire. Elle peut s'accompagner de septicémie, de pyurie, d'une leucocyturie et d'une insuffisance rénale, selon BERNING (1974).

ANOMALIES METABOLIQUES DANS LE DIABETE SUCRE

En cas de carence absolue ou relative en insuline, la captation du glucose et son oxydation dans les cellules musculaires et adipeuses diminuent. La lipolyse prédomine avec libération accrue de glycérol et d'acides gras déversés dans la circulation. L'élévation du taux d'acides gras non estérifiés dans le sang entraîne l'augmentation de leur captation hépatique et de leur oxydation et donc, une activation de la cétonogénèse. Il s'ensuit une apparition de cétonémie et de cétonurie. L'anomalie de l'utilisation périphérique du glucose et l'augmentation de la gluconéogénèse hépatique sont à l'origine de l'hyperglycémie et la glycosurie.

La glycosurie et la cétonurie entraînent une diurèse osmotique, une diminution de la réabsorption de l'eau au niveau du tubule proximal, donc une polyurie.

L'excrétion urinaire d'anions organiques est augmentée, elle s'accompagne d'une excrétion de cations minéraux et d'ions ammonium. Dans les formes graves du diabète, 4 à 8 litres d'eau, 400m.moles de Na^+ et 300 à 400m.moles de K^+ peuvent être perdus chaque jour dans les urines. La kaliémie reste néanmoins normale puisque le K^+ éliminé provient des cellules (TCHOUBROUTSKY et al., 1980 ; PETRIDES et al., 1981).

Si l'hyperglycémie persiste, la déshydratation augmente, l'osmolarité sanguine croît également, l'efficacité diminue, entraînant un collapsus qui réduit les flux sanguins cérébral et rénal.

La disparition des ions alcalins perturbe les mécanismes compensateurs de l'organisme, le pH sanguin diminue, l'acido-cétose devient considérable.

MATERIEL ET TECHNIQUES

MATERIEL BIOLOGIQUE

- A. RAPPELS ECOPHYSIOLOGIQUES
- B. CONDITIONS D'ELEVAGE DE L'ANIMAL
- C. REGIME ALIMENTAIRE NATUREL.

PROTOCOLE EXPERIMENTAL

- A. EXPERIMENTATION
- B. REGIME ALIMENTAIRE A POTENTIALITE DIABETOGENE
- C. THERAPEUTIQUE ANTI-DIABETIQUE

TECHNIQUES

- TECHNIQUES OPERATOIRES
- TECHNIQUES ANALYTIQUES
- TECHNIQUES D'ULTRASTRUCTURE
- TECHNIQUES HISTO-ENZYMOLOGIQUES

MATERIEL BIOLOGIQUE

Le rat des sables, Psammomys obesus est un rongeur strictement diurne, de la famille des Muridés, sous famille des Gerbillidés. En Afrique du Nord, cette espèce, trouvée le long des plaines alluviales, a été étudiée par certains auteurs, dont PETER (1952 et 1961), DALY et DALY (1973).

Cette espèce est représentée en Algérie par deux sous espèces : Psammomys algériens (Thomas, 1902) et Psammomys obesus algériens. Le rat des sables est également retrouvé au Moyen-Orient et dans les déserts de Californie.

A. RAPPELS ECOPHYSIOLOGIQUES

Psammomys obesus est de taille inférieure à celle du rat blanc de laboratoire. A l'état adulte, il peut peser de 80 à 200g. C'est une espèce qui peut être solitaire ou grégaire selon les études menées par PRANGE et al. (1968). Sa durée de vie est de 3 ans. Il vit généralement dans les lits des oueds où il construit son terrier dont l'entrée est recouverte de masses de buissons de plantes halophiles (FRANKEL et al., 1972).

Les terriers sont creusés profondément ; ils sont constitués de galeries étagées, séparées en loges à utilisations multiples (PRANGE et al., 1968). Dans ces terriers, le degré hygrométrique augmente proportionnellement à la profondeur et il atteint la saturation dans les galeries les plus profondes (CHIRVAN - NIA, 1973). La température y varie entre 19°C et 22°C.

Le rat des sables choisit les endroits à végétation verte permanente où prédominent les Chénopodiacées. Dans la région de Beni-Abbes, P. obesus consomme trois espèces végétales : Atriplex halimus ; Salicornia fructicosa et Traganum nudatum, mais cette dernière espèce est la plus consommée (DALY et DALY, 1973). Ces plantes sont riches en eau (plus de 80 %) et en sels minéraux ; le rat des sables peut en ingérer par jour un poids supérieur à son poids corporel (CHIRVAN - NIA et RATSIMAMANGA, 1973)

Biologie du rat des sables

Psammomys obesus est un Gerbillidé diurne du Sahara, caractérisé par un pelage fauve, une taille relativement limitée (130 - 160mm), de petites oreilles (10 - 12mm) et une longue queue (115 - 140mm) se terminant par un pinceau de poils (PETTER, 1961). La période de reproduction de cette espèce se situe entre Octobre et Mai. Selon PRANGE et al. (1968), la durée de gestation du rat des sables est de 23j ; pour CHOUMOVITCH (1966) elle est de 25j. Durant les premières semaines de la vie post-natale, l'animal présente un développement rapide. A la naissance, la peau est lisse et presque transparente ; les yeux fermés ne s'ouvrent qu'au 14ème jour (PRANGE et al ., 1968). A partir du 11ème jour, les petits ingèrent de la nourriture solide, bien que l'allaitement soit maintenu, et ce jusqu'à la 4ème semaine environ (DALY et DALY, 1973). Le rat des sables présente des périodes d'activité variables en fonction des saisons. En hiver, il s'active durant les heures les plus chaudes (au milieu de la journée) ; en été, il ne sort de son terrier qu'à l'aurore et au crépuscule.

B. CONDITIONS D'ELEVAGE DE L'ANIMAL

Après étude des conditions nécessaires à la survie du rat des sables au laboratoire, nous avons essayé de recréer, dans notre animalerie, des conditions se rapprochant le plus possible du biotope naturel de l'animal.

Capture de l'animal

Les animaux utilisés pour l'expérimentation proviennent de la région de Béni-Abbes (wilaya de Déchar, située à 30°7 latitude Nord et 2°10 longitude Ouest). Ils sont capturés par les chasseurs du Centre National de Recherches sur les Zones Arides (CNRZA) par piègeage au niveau des terriers ou par destruction de ces derniers. Après capture des animaux, ceux-ci sont regroupés dans de grandes cages et reçoivent des plantes halophiles "ad libitum" durant le voyage et les deux premières semaines de leur arrivée.

Elevage de l'animal

Dès réception des animaux, ceux-ci sont placés dans l'animalerie qui est maintenue à une température constante de 25°C environ, et à un degré hygrométrique compris entre 60 % et 80 %. Afin de recréer la luminosité naturelle du jour, une lampe à forte intensité est utilisée pendant la journée.

Chaque animal est placé dans une cage individuelle en matière plastique équipée d'une literie en sciure (renouvelée deux fois par semaine) et d'une petite cage en bois présentant des ouvertures, rappelant le terrier de l'animal dans son biotope (sécurité, accumulation de la nourriture, degré hygrométrique). Un fragment de bois est mis à la disposition de l'animal pour s'aiguiser les incisives.

C. REGIME ALIMENTAIRE NATUREL

Le régime alimentaire naturel est à base de plantes halophiles de la famille des Chenopodiacées : Suaeda mollis qui provient de la région de Tipaza (Alger), sa composition est la suivante :

- Eau	80,79 %
- Matières minérales	6,86 %
- Hydrates de carbone	8,42 %
- Matières protéiques	3,53 %
- Matières grasses	0,40 %

Les hydrates de carbone se répartissent de la manière suivante :

- Sucres totaux	0,18 %
- Lignine	1,12 %
- Hemicellulose	2,62 %
- Cellulose	2,23 %
- Indéterminé	2,27 %

La valeur énergétique de 100g de plantes fraîches serait estimée à moins de 45 calories.

L'animal consomme 50g de plantes par jour, ce qui équivaut à une prise journalière de 20 à 22 calories (84 à 92 joules).

PROTOCOLE EXPERIMENTAL

A. EXPERIMENTATION

Dans le cadre de l'expérimentation, après adaptation des rats des sables aux conditions du laboratoire, ceux-ci sont divisés en 2 lots principaux :

- Animaux témoins, qui sont soumis à l'alimentation naturelle, constituée uniquement de plantes halophiles. La prise journalière pour ce lot d'animaux est de 20 calories environ par individu (84 joules).

- Animaux traités, qui sont soumis au régime standard de laboratoire, ils perçoivent une ration alimentaire quotidienne de 32,5 calories (136 joules) qui est complétée par une solution de NaCl à 9% prise "ad libitum".

Afin de suivre l'évolution pondérale de chaque animal, la pesée est réalisée de façon hebdomadaire. Régulièrement, un prélèvement sanguin au niveau du sinus rétro-orbital est réalisé en vue du dosage du glucose, de l'insuline et des lipides.

Pour déterminer la présence du glucose, des corps cétoniques et de l'albumine dans l'urine, des tests sont réalisés à l'aide de bandelettes réactives appropriées (Clinistix, Ketostix et Albustix).

Des tests de tolérance au glucose sont réalisés sur les animaux des différents lots. Ce test consiste à effectuer une prise de sang chez l'animal à jeûn depuis 16 heures et à lui administrer du glucose par voie orale à raison de 2g par kilogramme de poids corporel.

Une seconde prise de sang est effectuée 1H 30minutes après l'ingestion du glucose. On considère qu'il y a hyperglycémie lorsque la valeur de la glycémie trouvée est supérieure à 110mg pour 100ml de plasma.

B. RÉGIME ALIMENTAIRE A POTENTIALITE DIABÉTOGENE

Il s'agit du régime standard de laboratoire, à base d'aliment équilibré, présenté sous forme de biscuits avec la composition centésimale suivante :

- Matières protéiques	25 %
- Matières grasses	7,50 %
- Cellulose brute	4,0 %
- Extractif non azoté	47,40 %
- Eau	9,0 %
- Matières minérales	7,10 %
- Vitaminés E, A, D3	

100g de cet aliment présentent une valeur énergétique de 325 calories (1365 joules). L'animal en consomme 10g par jour, donc une prise énergétique de 32,5 calories.

Ce régime hautement calorique (par comparaison au régime naturel) peut être à l'origine d'une obésité prédiabétique et instaurer un diabète.

C. THERAPEUTIQUE ANTI-DIABETIQUE

Chez le rats des sables traités présentant des manifestations diabétiques, trois types de traitement anti-diabétique ont été instaurés :

- les régimes hypocaloriques restrictifs, l'un naturel constitué uniquement de plantes halophiles, l'autre mixte constitué par un régime standard restrictif (à valeur calorique réduite).

- le traitement au sulfamide hypoglycémiant.
Le sulfamide utilisé est le gliclazide à raison de 10 à 20mg par kilogramme de poids corporel.

- le traitement au biguanide antidiabétique.
Pour ce traitement, la metformine ou N-N diméthyl biguanide a été utilisé. La dose administrée est de 5 à 25mg par kilogramme de poids corporel.

En cas de résistance aux traitements cités, un traitement de substitution par l'insuline, à raison de 5 à 10 UI par animal, est institué pour éviter le coma diabétique.

TECHNIQUES

TECHNIQUES OPERATOIRES

Prélèvements sanguins

TECHNIQUES OPERATOIRES

TECHNIQUES

-38-

-39-

TECHNIQUES

TECHNIQUES OPERATOIRES

Prélèvements sanguins

Le sang est prélevé par ponction dans le sinus rétro-orbital, à l'aide d'une pipette Pasteur héparinée. Le sang recueilli est centrifugé ; le plasma résultant est fractionné en parties aliquotes en vue de dosage du glucose, de l'insuline, des lipides et des ions minéraux.

Prélèvements d'organes

Après décapitation de l'animal, un certain nombre d'organes est prélevé ; entre autres, le rein, qui est immédiatement fixé dans du Bouin-Holland pour la microscopie photonique, et dans la solution de fixation appropriée pour la microscopie électronique.

TECHNIQUES ANALYTIQUES

1. Glucose

Le glucose plasmatique est dosé par la technique colorimétrique en présence d'ortho-toluidine.

2. Insuline

L'insuline est dosée au Kit Phadebas- Insuline dont le principe est basé sur la compétition entre l'insuline plasmatique à doser et l'insuline ¹²⁵I pour un même anticorps qui est fixé sur un support solide.

La radioactivité des différentes fractions est déterminée par un

plasmatiques est celle du DUNCOMBE [1964] basée sur le principe de la colorimétrie.

. Triglycérides

Ils sont dosés par la méthode enzymatique de FLETCHER [1966]. Le taux des triglycérides est apprécié par la teneur de NADH.H⁺ produit.

. Phospholipides

Après déprotéinisation du plasma, les phospholipides sont dosés par la méthode colorimétrique d'après COURTOIS et ANGERAY [1961]

. Cholesterol total

La teneur en cholesterol est déterminée par colorimétrie selon la technique de Biomerieux- Cholesterol- Kit

4. Les ions minéraux

. Sodium et potassium

Les ions Na⁺ et K⁺ plasmatiques et urinaires sont évalués par photométrie à flamme sur un appareil de type Beckman.

. Chlore

La teneur en chlore dans le plasma et dans l'urine est déterminée par la technique titrimétrique chlor- Kit ; décrite par GINDLER [1968], cette méthode permet le dosage des chlorures par réaction avec le nitrate mercurique, en présence d'acide 2 benzoïque.

5. Evaluation

Les résultats des différentes expériences sont consignés dans des tableaux récapitulatifs. Ces tableaux représentent les valeurs moyennes des paramètres biochimiques suivies de l'erreur standard à

la moyenne. Le test de student est utilisé pour déterminer le degré de signification P.

Les figures et planches relatives à chaque chapitre sont insérées dans le texte.

TECHNIQUES HISTOLOGIQUES

Les techniques histologiques réalisées sont décrites par GABE (1968), elles présentent les étapes suivantes :

- fixation dans du Bouin - Hollande
- déshydratation dans des alcools à degré croissant
- inclusion dans la paraffine
- coupe au microtome (5 à 6 μ)
- coloration

Les différentes colorations utilisées sont :

- la coloration au trichrome de Masson : coloration topographique qui révèle les noyaux en brun-noir, le cytoplasme en rose et les fibres de collagène en vert.
- la coloration à l'hémalum-éosine qui présente les noyaux en brun et le cytoplasme en rose.

TECHNIQUES HISTOCHIMIQUES

Ces techniques révèlent la composition biochimique des constituants tissulaires. Les réactions utilisées permettent la mise en évidence de :

- polysaccharides, mucosubstances, glycoprotéines, glycolipides ainsi que d'autres molécules tels que l'adrénaline et l'acide ascorbique par la réaction à l'acide périodique-Schiff ou réaction de Hotchkiss Mac-Manus
- glycosaminoglycane sulfatés par le bleu alcian et le bleu de toluidine à pH compris entre 1 et 3
- glycosaminoglycane non sulfatés par le bleu alcian et le bleu de toluidine à pH=4,6, ainsi que le RNA et certains lipides neutres
- substances lipidiques neutres par le noir Soudan

TECHNIQUES D'ULTRASTRUCTURE

Après sacrifice des animaux, les reins sont rapidement prélevés, et découpés en petits fragments ^(1mm) qui sont fixés dans le glutaraldéhyde à 2 %, tampon cacodylate 0,1M. Cette opération est suivie par le rinçage dans une solution tampon ; la post-fixation dans le tétroxyde d'osmium à 1 % puis la déshydratation progressive. Les fragments sont ensuite inclus dans de la résine (Epon 812) pour un découpage ultérieur à l'ultramicrotome réalisé dans le service de Cytopathologie de l'Université P. Sabatier de Toulouse.

TECHNIQUES HISTO-ENZYMOLOGIQUES

Les techniques histo-enzymologiques permettent une localisation topographique des métabolismes tissulaires par la mise en évidence d'activités enzymatiques dont le principe est le suivant : l'échantillon ou coupe est incubé dans un milieu spécifique contenant un activateur, des facteurs pour maintenir le pH constant, le substrat nécessaire à l'activité enzymatique recherchée. Ce substrat est transformé par l'enzyme de l'échantillon en produit qui peut être directement coloré ou qui peut être le substrat d'une réaction secondaire dont le produit est facilement détecté par microscopie photonique.

L'histo-enzymologie qualitative présente néanmoins certains inconvénients telle que la solubilité de certaines enzymes (cas des enzymes cytoplasmiques libres) lesquelles peuvent migrer librement, causant une fausse localisation, ou la diminution de l'activité enzymatique et parfois même la perte du produit formé.

Une réaction histo-enzymologique donnée ne peut être interprétable que si le substrat utilisé est particulièrement spécifique à l'enzyme étudiée. Mais, étant donné l'interaction des diverses voies métaboliques, l'addition d'inhibiteurs spécifiques devient indispensable dans certains cas, pour apprécier une activité enzymatique précise.

Dans le cas d'études comparatives, pour palier aux inconvénients

E.C	1.1.1. 42	Isocitrate déshydrogénase
E.C	1.4.1.2 et E.C 1.4.1.3	Glutamate déshydrogénase
E.C	1.4.3.4	Amine oxydase
E.C	1.3.99.1	Succinate déshydrogénase
E.C	1.6.99.3	NADH déshydrogénase
E.C	1.6.99.1	NADPH déshydrogénase

2. Techniques de précipitation

Les hydrolases sont mises en évidence par ces techniques, qui admettent le principe suivant : les hydrolases catalysent le transfert d'un groupement donné sur les molécules d'eau, les donneurs utilisés étant des esters d'acide phosphorique ou sulfurique, du naphтол monoester ou triester dépendant de l'enzyme à étudier. Les techniques de précipitation se font en deux étapes : dans un premier temps, il y a formation d'un précipité dans les cellules puis, ce précipité insoluble formé est révélé par du sulfure d'ammonium.

Protocole expérimental

Les techniques de précipitation ont permis de mettre en évidence les enzymes suivantes :

E.C	3.1.3.5	5' Nucléotidase
E.C	3.1.3.9	Glucose 6 phosphatase
E.C	3.6.1.3	Adénosine triphosphatase - Mg ⁺⁺
E.C	3.6.1.4	Adénosine triphosphatase - Ca ⁺⁺

Le protocole relatif à la mise en évidence de chaque enzyme est donné dans l'annexe histo-enzymologique.

3. Techniques de couplage

Par ces techniques, les phosphatases acide et basique, les peptidases et quelques estérases sont mises en évidence. Ces réactions sont basées sur le principe suivant : l'enzyme hydrolyse l'ester de naphтол ou de phénol ; le phénol ou le naphтол formés sont insolubles et incolores ; ils sont visualisés grâce à un couplage avec un sel de diazonium.

Protocole expérimental

Le mode opératoire des techniques utilisées est donné dans l'annexe histo-enzymologique, il intéresse les enzymes suivantes :

E.C	3.1.1.1	Estérase carboxylique
E.C	3.1.3.1	Phosphatase alcaline
E.C	3.2.1.3.31	β glucuronidase
E.C	3.4.11.1	Amino-peptidase

D'autres techniques sont utilisées pour la mise en évidence de certaines enzymes. Le protocole expérimental relatif à ces techniques est donné dans l'annexe histo-enzymologique. Les enzymes intéressées sont les suivantes :

E.C	2.4.1.1	Phosphorylase
E.C	2.4.1.11	Glycogène synthétase
E.C	3.1.1.8	Cholinestérase

Pour toute étude d'enzyme réalisée, une coupe témoin a été effectuée. Cette coupe est mise en incubation dans un même milieu que celui de l'essai, mais dépourvu du substrat spécifique de l'enzyme. Les coupes témoins obtenues ont donné un résultat négatif.

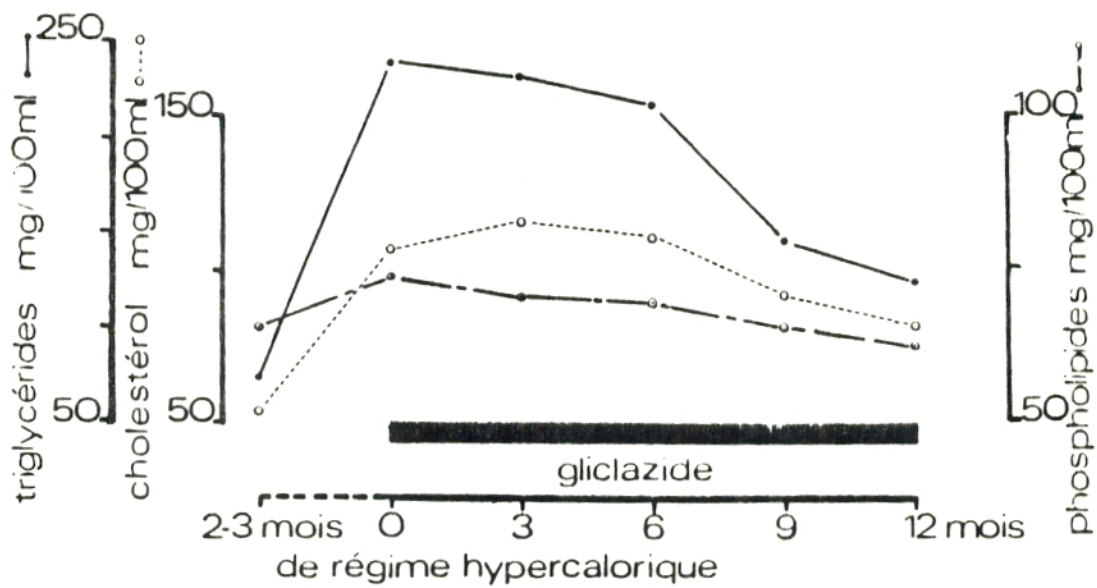


Fig 4 b - EFFETS DU GLICLAZIDE ADMINISTRÉ PENDANT 12 MOIS SUR LES LIPIDES PLASMATIQUES CHEZ LE RAT DES SABLES RENDEU DIABÉTIQUE PAR UN RÉGIME STANDARD.

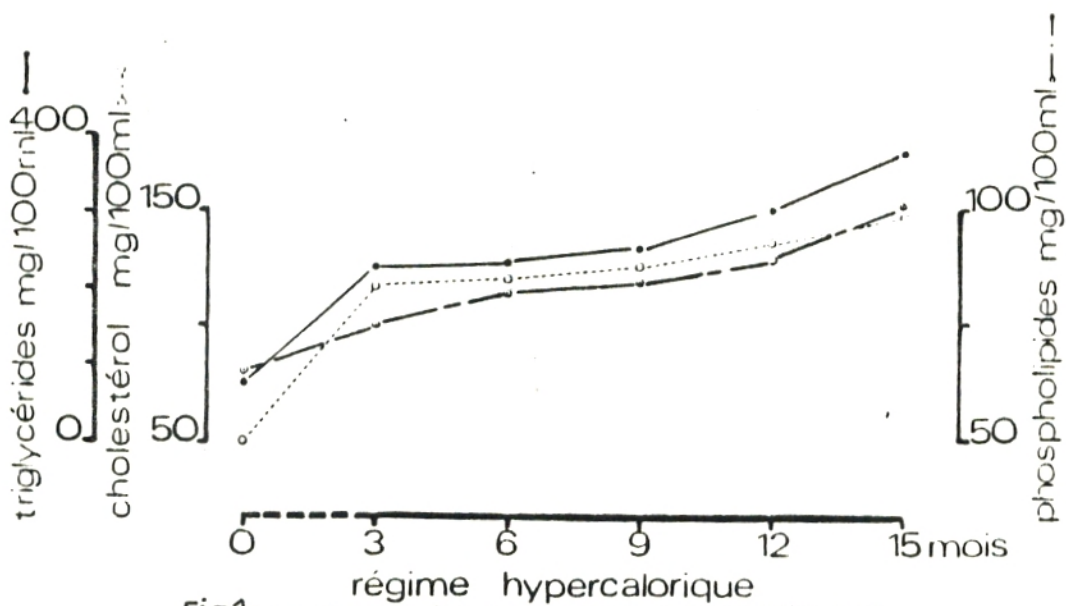


Fig.1 b ÉVOLUTION DES LIPIDES PLASMATIQUES CHEZ LE RAT DES SABLES SOUMIS À UN RÉGIME HYPERCALORIQUE PENDANT 15 MOIS.

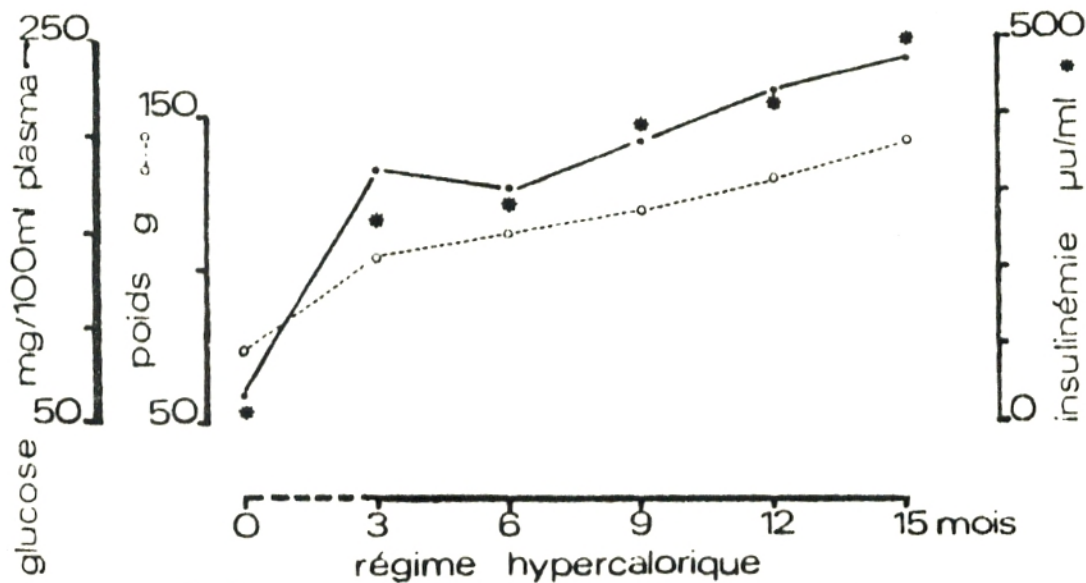


Fig. 1a EVOLUTION DE CERTAINS PARAMETRES CHEZ LE RAT DES SABLES SOUMIS A UN REGIME HYPERCALORIQUE PENDANT 15 MOIS.

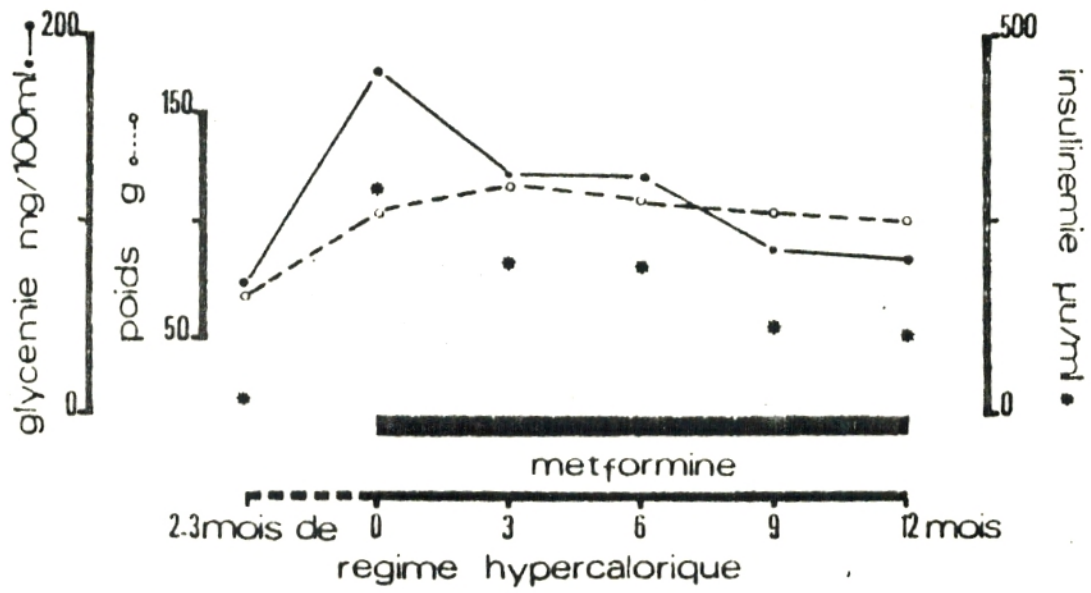


Fig 5a EFFETS DE LA METFORMINE ADMINISTREE PENDANT 12 MOIS SUR CERTAINS PARAMETRES CHEZ LE RAT DES SABLES RENDU DIABETIQUE PAR UN REGIME HYPERCALORIQUE.

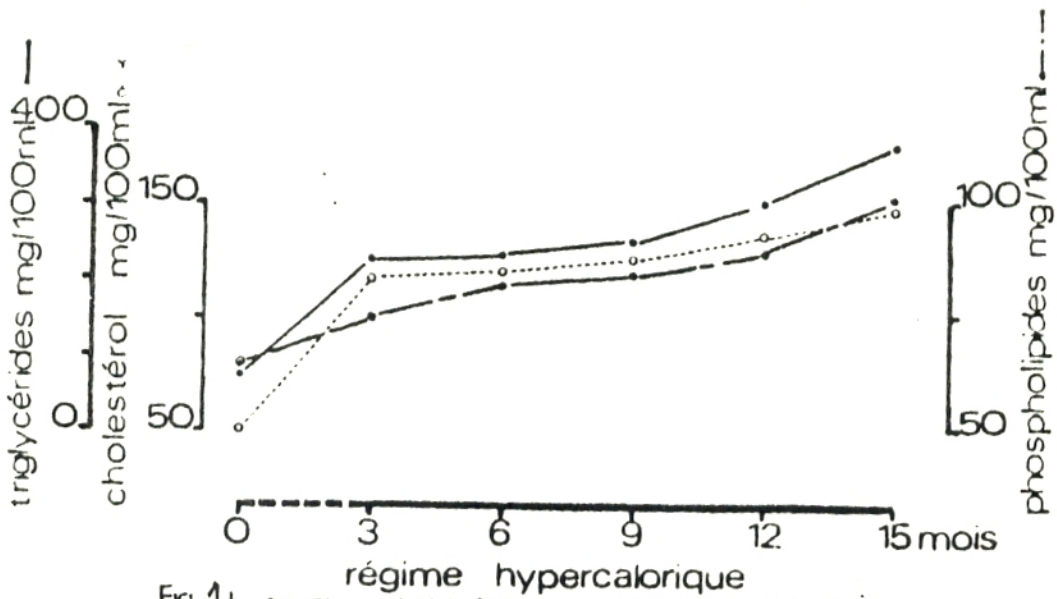


Fig 1b ÉVOLUTION DES LIPIDES PLASMATIQUES CHEZ LE RAT DES SABLES SUIVANT UN RÉGIME HYPERCALORIQUE PENDANT 15 MOIS

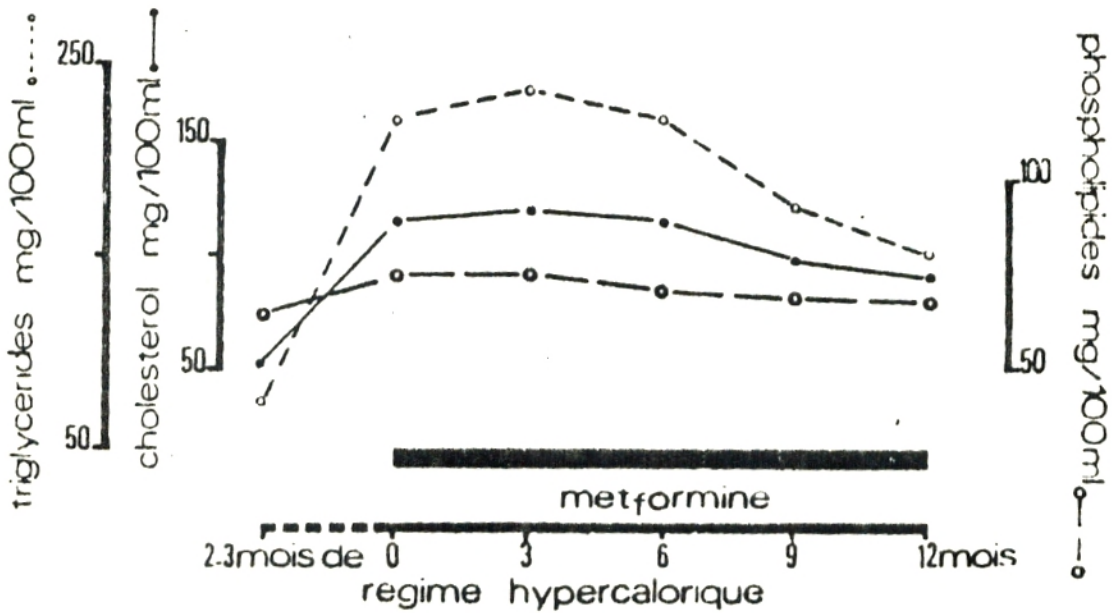


Fig 5b EFFETS DE LA METFORMINE ADMINISTRÉE PENDANT 12 MOIS SUR LES LIPIDES PLASMATIQUES CHEZ LE RAT DES SABLES DÉMARRÉ DIABÉTIQUE PAR UN RÉGIME STANDARD.

TABLEAU II Moyennes de certains paramètres biochimiques plasmatiques et urinaux chez le rat des sables soumis à un régime naturel hypocalorique.

Nombre	Poids en g	Durée du régime en mois	Test urinal- res G C A	Glycémie mg / 100ml	Insulinémie µU / ml	Phospholipides mg / 100ml	Cholestérol mg / 100ml	Triglycérides mg / 100ml
Moyenne 10	70,3 ± 2,2	Temps 0	G=0 C=0 A=0 --	64,3 ± 1,8	26,5 ± 1,9	65 ± 2,0	55,3 ± 2,4	73,3 ± 3,0
10	*** 65 ± 2,4	3 mois	G=0 C=0 A=0 --	63,0 ± 1,8	27,2 ± 2,3	64,3 ± 1,95	55,4 ± 2,5	70,7 ± 3,8
10	*** 99,8 ± 3,3	6 mois	G=0 C=0 A=0 --	64,7 ± 2	30,6 ± 2,06	67 ± 2,35	60,0 ± 2,9	75,7 ± 5,8
10	*** 106,2 ± 3,1	9 mois	G=0 C=0 A=0 --	69,5 ± 2,4	33,1 ± 2,5 *	71 ± 3	59,5 ± 3,0	81,0 ± 4,7
Moyenne 6	*** 106,5 ± 1,8	12 - 15 mois	G=0 C=0 A=0 --	66,2 ± 2,3	35 ± 2,7 *	68,5 ± 2,1	** 71 ± 4,1	* 87 ± 5,9

Les valeurs moyennes sont affectées de l'erreur standard à la moyenne.

Le degré de signification est calculé pour les animaux témoins par rapport aux valeurs du temps 0 (en début d'expérimentation)

* P < 0,05 ; ** P < 0,02 ; *** P < 0,01 ; **** P < 0,001

TABLEAU III Test de tolérance au glucose chez les animaux normaux obèses et diabétiques, et après traitements antidiabétiques

	Insuline plasmatique $\mu U/ml$	Glucose plasmatique		Tests anormaux %
		avant ingestion de glucose	1h 30 après	
Régime naturel (12 animaux)	26,5 \pm 1,7	54 \pm 4	113 \pm 17	38
Régime standard obèses (14 animaux)	267 \pm 18 ***	73 \pm 7 *	154 \pm 8 *	73
Diabétiques de la maturité (14 animaux)	573 \pm 37 ***	117 \pm 31	374 \pm 47 ***	100
Traitement antibiadiabétique (6 à 12 mois)	Insuline plasmatique /ml	Glucose plasmatique		Tests anormaux %
		avant ingestion de glucose	1h 30 après	
Régime naturel hypocalorique (10 animaux)	34,7 \pm 2,3 ***	51 \pm 3	115 \pm 18 ***	41
Régime mixte hypocalorique (8 animaux)	185 \pm 17,5	68 \pm 13	132 \pm 27	55
Traitement au sulfamide (11 animaux)	161 \pm 13,7 ***	57 \pm 8	118 \pm 19 ***	47
Traitement au biguanide (9 animaux)	137 \pm 11 ***	61 \pm 11	123 \pm 15 ***	51

Les valeurs moyennes sont exprimées avec leur erreur standard à la moyenne.

Le degré de signification est calculé pour les animaux obèses, diabétiques par rapport aux animaux témoins soumis au régime naturel pour les animaux traités par rapport aux animaux obèses et diabétiques.

* P 0,05 ; * P 0,02 ; ** P 0,01 ; *** P 0,001

Le glucose est administré à raison de 2g par kg de poids corporel. Les valeurs du glucose sont exprimées avant l'ingestion du glucose et 1h 30 min après. Il y a hyperglycémie quand la glycémie est

TABLEAU IV
Valeurs moyennes de certains paramètres biochimiques
plasmatiques et urinaux chez le rat des sables soumis
ou régime standard pendant 15 mois.

Nombre d'a- gime en mois	Durée du ré- gime en mois	Temps d	24 mois de régime		6 mois		9 mois		12 mois		15 mois						
			Poids en g	Glycémie mg/100ml	Testes urinaux Les G-C-A	Insuline μ U/ml	Phospholipides mg/100ml	Cholestérol mg/100ml	Triglycérides mg/100ml	Poids en g	Glycémie mg/100ml	Testes urinaux Les G-C-A	Insuline μ U/ml	Phospholipides mg/100ml	Cholestérol mg/100ml	Triglycérides mg/100ml	
24	24	74 ± 2	64,5 ± 1,8	0=0=0 A=Ca+	25,5 ± 1,8	65,5 ± 1,3	49,5 ± 2,9	76 ± 3,8	104 ± 3,1	181 ± 18	xxx	0=0 A++=0=0 A+	26,3 ± 21,2	74,5 ± 15	119 ± 11	224 ± 24,7	
17	17	Obèse D.M	411 ± 3	x ¹	171 ± 21	xxx	0=0 A++=0=0 A+	309 ± 27,3	84 ± 2,4	xxx	120,5 ± 12	230 ± 22	xxx	Obèse D.M	197,3 ± 25	xxx	187,3 ± 25
7	7	D. I. P.	87,3 ± 7	407 ± 36,5	xxx	133 ± 14	134,5 ± 7	377 ± 53	xxx	xxx	134,5 ± 4	101 ± 4	xxx	D. I. P.	407 ± 36,5	xxx	407 ± 36,5
17	17	Obèse D.M	118 ± 7	197,3 ± 25	xxx	384 ± 43	85 ± 2,1	xxx	124 ± 10,2	252 ± 27	xxx	xxx	xxx	Obèse D.M	197,3 ± 25	xxx	197,3 ± 25
7	7	D. I. P.	80,7 ± 3	428 ± 28	xxx	141 ± 19	114 ± 6,6	xxx	202 ± 12,5	676 ± 103	xxx	xxx	xxx	D. I. P.	428 ± 28	xxx	428 ± 28
17	17	Obèse D.M	129 ± 5	xxx	221 ± 31	xxx	0 A++=0 A+	438 ± 44	88 ± 2,2	xxx	134 ± 11	306 ± 34	xxx	Obèse D.M	129 ± 5	xxx	129 ± 5
7	7	D. I. P.	82 ± 3	xxx	399 ± 20	xxx	++ B++=++ B++	175 ± 47	126 ± 42,5	xxx	215 ± 27	xxx	xxx	D. I. P.	82 ± 3	xxx	82 ± 3
17	17	Obèse D.M	143 ± 7	240 ± 38	xxx	502 ± 47	105 ± 9	xxx	147 ± 15	xxx	379 ± 50	xxx	xxx	Obèse D.M	143 ± 7	xxx	143 ± 7
7	7	D. I. P.	28,5 ± 2	xxx	421 ± 27	xxx	+ B++=+ B++	217 ± 49	162 ± 10	xxx	300 ± 39	xxx	xxx	D. I. P.	28,5 ± 2	xxx	28,5 ± 2

x Les tableaux diabétiques (D.I.P.) relatifs à partir du 9e mois en traitement thérapeutique intensif.

- La valeur moyenne est affectée de l'erreur standard à la moyenne.

- Le degré de signification est calculé.

- Pour les tableaux diabétiques (par rapport aux témoins correspondants) :

* p < 0,05 ; ** p < 0,02 ; *** p < 0,01 ; **** p < 0,001

D.I.P. : Diabète insuline-privé de la matrice

Les valeurs glycémiques subissent des variations modérées mais significatives. Les valeurs de l'insuline plasmatique s'élèvent fortement, passant de 25 μ unités par ml (avant le début de l'expérimentation) à des valeurs moyennes de 250 μ unités par ml de plasma dès le 3ème mois de régime.

A partir du 3ème mois, nous distinguons deux groupes d'animaux qui évoluent différemment (fig. G).

Chez 60 % des animaux, la glycémie augmente modérément (mais les différences apparaissent significatives). Les tests de tolérance au glucose effectués chez ces animaux montrent que le pourcentage des épreuves anormales augmente fortement, il passe de 38 % chez les témoins à 73 % chez les obèses (tableau III). Les tests urinaires (glucose et corps cétoniques) restent négatifs mais l'albuminurie est positive chez plusieurs animaux.

Nous assistons tout au long des 15 mois de régime à une exagération de l'obésité qui se caractérise par une forte augmentation de la masse pondérale. Le poids des animaux est de l'ordre de 130 g après 15 mois de régime.

L'hypérinsulinémie devient importante, c'est ainsi que nous enregistrons des valeurs de 300 μ unités par ml de plasma au 15ème mois au lieu de 35 μ unités chez les témoins correspondants.

En définitive, les animaux présentant une obésité se caractérisent par un hyperinsulinisme consécutif à une résistance périphérique à l'insuline, continuent à assurer une certaine régulation de la glycémie pendant toute la durée de l'expérimentation, toutefois les tests de tolérance au glucose anormaux sont plus élevés que chez les témoins.

- 40 % des animaux soumis au régime hypercalorique développent un syndrome diabétique qui évolue en plusieurs stades (fig. G):

- Le 1er stade ou stade précoce est marqué par des élévations brutales de la glycémie suivies d'un retour à l'état normal. La glycosurie apparaît positive lors de l'installation de ces pics.

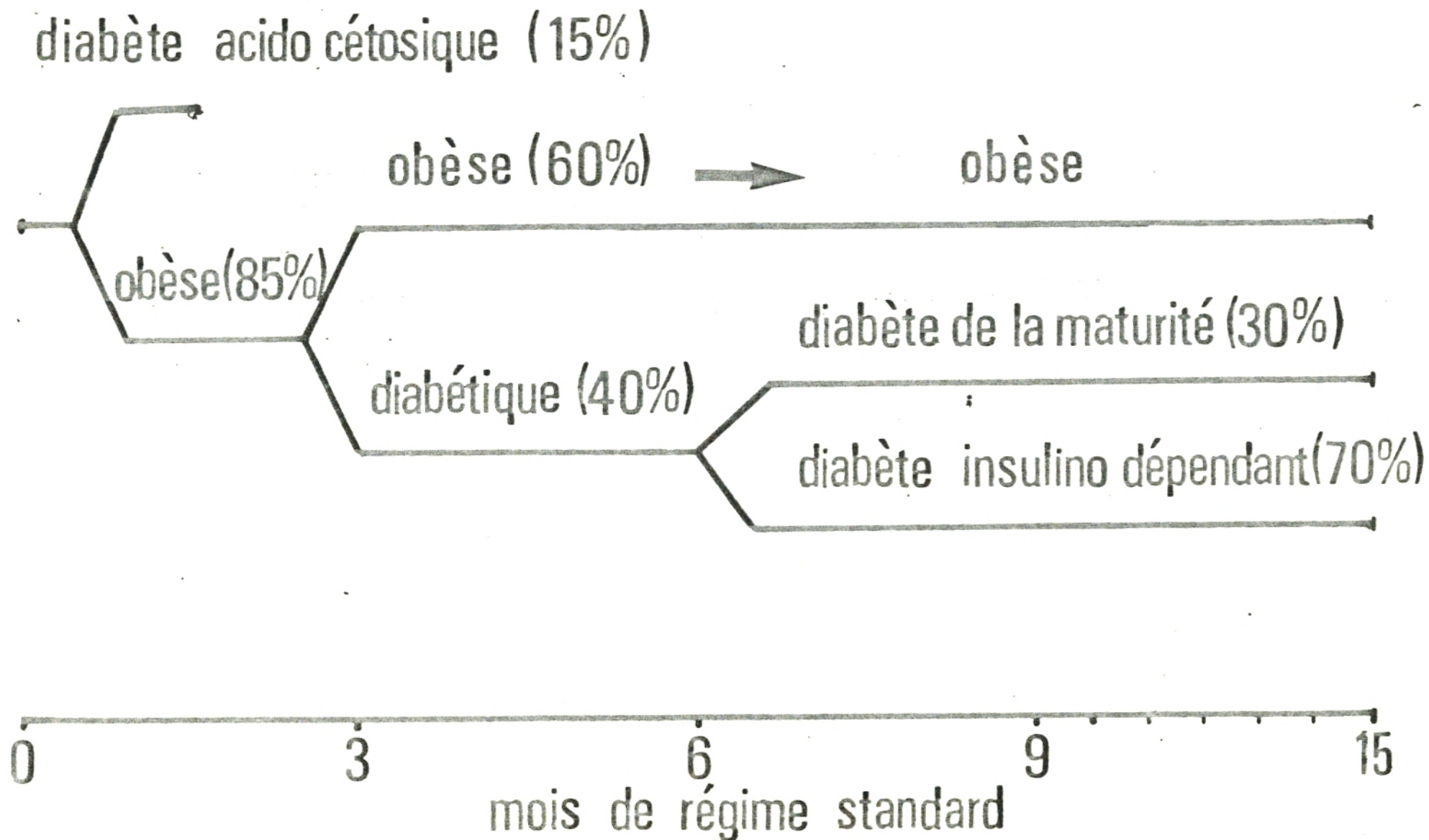


Fig. 6 - EVOLUTION DU SYNDROME DIABETIQUE CHEZ LES RATS DES SABLES SOUMIS
 À UN RÉGIME STANDARD PENDANT 15 MOIS.

hyperglycémiques, la cétonurie est négative et l'albuminurie se révèle positive chez beaucoup d'animaux. Ces symptômes traduisent l'instauration d'un diabète latent.

- Le 2ème stade se caractérise dès le 3ème mois par l'augmentation brutale de la glycémie [des valeurs de 200 à 350 mg pour 100ml de plasma sont enregistrées]. La cétonurie, mais surtout la glucosurie et l'albuminurie sont toujours positives. Il est à remarquer que la valeur du seuil rénal au glucose chez le Rat des sables est plus élevée que chez l'Homme (2,3 g/l au lieu de 1,6 g/l). Les tests de tolérance au glucose se révèlent anormaux dans tous les cas examinés [tableau III].

Corrélativement à ce trouble de la glycorégulation, nous assistons à une élévation considérable de l'insuline immuno-réactive qui peut atteindre chez certains animaux plus de 300 μ unités par ml de plasma. Il est à noter que ces animaux développent progressivement une nette résistance périphérique à l'insuline, puisque des doses de plus en plus élevées d'insuline exogène sont nécessaires pour rétablir une glycémie normale.

Les valeurs des lipides plasmatiques s'élèvent significativement en fonction de la durée d'administration des régimes [tableau IV]. Le cholestérol total et les phospholipides augmentent modérément ; par contre les triglycérides s'élèvent fortement (373 mg pour 100 ml de plasma au 15ème mois au lieu de 76 mg pour 100 ml chez les témoins correspondants). Il en est de même des acides gras libres plasmatiques qui augmentent, passant de 17,2 mg pour 100 ml au lieu de 3,5 mg chez les témoins correspondants [tableau V].

En définitive, l'ensemble des manifestations enregistrées : l'obésité, l'anomalie des tests de tolérance au glucose, la glucosurie, les troubles lipidiques sont caractéristiques du diabète de la maturité ou diabète pléthorique correspondant au diabète de type II chez l'Homme.

Le dernier stade débute à partir du 6ème mois de régime hypercalorique [fig. G]. Il se traduit par une chute pondérale considérable des animaux passant de 143 g en moyenne à 78 g. Nous

TABLEAU V Valeurs des acides gras libres plasmatiques chez le rat des sables normal, obèse, diabétique et traité par la thérapeutique antididiabétique

Nombre d'animaux		Acides gras libres mg/ 100 ml
11	Lot témoin normal	3,5 ± 0,4
12	Lot diabétique: obésité et diabète de la maturité	17,2 ± 1,2 ^{***}
7	Lot diabétique: diabète insulino-prive	23 ± 1,8 ^{***}
12	Lot diabétique soumis au régime naturel hypocalorique	5,0 ± 0,5 ^{***}
9	Lot diabétique traité au sulfamide	6,7 ± 0,7 ^{***}
8	Lot diabétique traité au biguanide	8,9 ± 0,8 ^{***}
4	Lot diabétique traité à l'insuline	17,5 ± 2,3 ^{***}

Les valeurs moyennes sont affectées de l'erreur standard à la moyenne. Le degré de signification est calculé :

- 1- Pour les animaux diabétiques (par rapport aux témoins normaux correspondants).
- 2- Pour les animaux diabétique traités par la thérapeutique (par rapport aux animaux diabétique correspondants).

*** P < 0,001

assistons conjointement à un effondrement de l'insuline immuno-réactive plasmatique qui était fortement élevée au stade précédent. L'adjonction intermittente d'insuline exogène s'est révélée nécessaire dans bon nombre de cas pour éviter la mort brutale des animaux en coma diabétique avec acidocétose. Nous observons également une forte élévation du glucose plasmatique ; des valeurs considérables de 420 mg pour 100 ml de plasma sont observées. Enfin, la glycosurie et la cétonurie sont fortement positives. L'apparition d'une glycosurie élevée suggère que le rein devient le régulateur essentiel du niveau glycémique.

Les lipides plasmatiques s'élèvent brutalement ; les triglycérides atteignent 1070 mg pour 100 ml de plasma après 15 mois de régime hypercalorique au lieu de 76 mg chez les témoins correspondants soumis aux plantes halophiles. Le cholestérol total est également augmenté ainsi que les phospholipides, mais dans une faible mesure pour ces derniers [tableau IV]. Enfin, les acides gras libres plasmatiques, qui traduisent un état de mobilisation intense à partir des réserves adipeuses sont également très élevés (26 mg pour 100 ml au lieu de 3,5 chez les témoins correspondants).

L'absence totale de tissu adipeux lors des examens des animaux en sacrifice confirme bien l'existence d'une mobilisation lipidique intense.

En définitive, l'ensemble des manifestations : chute pondérale, carence insulinaire, hyperglycémie exagérée, glycosurie, cétonurie, hyperlipidémie considérable traduisent l'existence d'un diabète insulino-prive correspondant au diabète de type I chez l'Homme. Ces animaux insulino-dépendants, caractérisés par une déficience en insuline métabolique, ont reçu un traitement intermittent d'insuline exogène afin d'éviter l'évolution rapide vers le coma diabétique avec acido-cétose.

Cette étude biochimique a été complétée par l'analyse des électrolytes plasmatiques (Na^+ , K^+ et Cl^-), les tableaux VI montrent une diminution de la teneur de ces trois électrolytes chez l'animal diabétique par rapport au témoin.

TABLEAU VI Taux plasmatiques de Na^+ , K^+ et Cl^- chez le rat des sables normal.

Animaux	Poids (g)	Na^+ (m.eq/l)	K^+ (m.eq/l)	Cl^- (m.eq/l)
93	86	163	6,6	85
94	85	156	7,2	-
95	102	158	6,0	9,9
96	-	164	7,5	96
97	72	152	6,9	97
98	78	161	7,3	88
101	81	169	7,0	-
102	100	166	7,0	-
110	134	149	5,9	93
112	62	155	7,2	98
118	58	165	6,8	-
119	140	166	5,8	112
120	84	151	5,5	95
122	-	158	6,4	106
125	105	172	6,5	90
127	71	160	6,3	97
128	86	164	6,3	94
129	91	-	-	108
133	78	-	5,8	109
131	79	149	7,1	112
$\bar{X} \pm \text{E.S.M.}$	88 ± 12	$159,8 \pm 1,66$	$6,58 \pm 1,39$	$98,5 \pm 2,18$

Les valeurs moyennes sont affectées de l'erreur standard à la moyenne.

Taux plasmatiques de Na^+ , K^+ et Cl^- chez le rat des sables diabétique.

Animaux	Poids (g)	Na^+ (m.eq/l)	K^+ (m.eq/l)	Cl^- (m.eq/l)
163	79	137	5,4	86
171	83	145	6,0	90
175	92	151	5,7	116
176	79	138	5,8	100
179	91	141	-	109
182	67	135	6,0	87
187	80	141	5,2	86
188	97	136	5,1	97
189	101	148	-	86
190	96	143	5,9	104
191	81	139	5,5	115
192	93	151	5,7	86
193	103	150	5,1	114
194	89	146	6,2	88
195	78	138	5,8	96
$\bar{X} \pm \text{E.S.M.}$	$72,8 \pm 6,2$	$142,6 \pm 1,49$	$5,64 \pm 0,10$	$97,4 \pm 3,31$

Les valeurs moyennes sont affectées de l'erreur standard à la moyenne.

*** $P < 0,001$

INFLUENCE DE LA THERAPEUTIQUE ANTIDIABETIQUE SUR L'EVOLUTION DU SYNDROME DIABETIQUE

Les effets des régimes hypocaloriques institués et les traitements antidiabétiques d'ordre nutritionnel et pharmacologique sont examinés successivement. Ces résultats qui ont fait l'objet de plusieurs thèses de ce laboratoire [S. BOUDERBA, S. BOUGUERRA, D. KHEMICI] ont été confirmés et complétés par des études morphologiques et ultrastructurales du rein.

A- EFFETS DES REGIMES HYPOCALORIQUES RESTRICTIFS

L'instauration d'un régime naturel constitué de plantes halophiles chez les rats des sables dès l'apparition des premières manifestations diabétiques entraîne le rétablissement de l'état euglycémique chez tous les animaux. Les tests urinaires (glucosurie et cétonurie) deviennent négatifs. L'insuline plasmatique présente des valeurs pratiquement normales (35μ unités par ml de plasma au lieu de 640μ unités en moyenne au cours du diabète pléthorique). Le poids des animaux se stabilise puis diminue. Les valeurs des lipides plasmatiques augmentées au cours des trois premiers mois du régime hypercalorique diminuent fortement, les triglycérides sont particulièrement affectés et dans une moindre mesure les phospholipides et le cholestérol. Enfin, les acides gras libres plasmatiques présentent des valeurs pratiquement normales, 5 mg pour 100 ml au lieu de 17 mg au cours du diabète de la maturité [tableau V].

Le régime standard restrictif a donné des effets moins importants que le régime hypocalorique précédent à base de plantes halophiles [tableau II].

B- INFLUENCE D'UN TRAITEMENT PAR UN SULFAMIDE HYPOGLYCEMIANT (LE GLICLAZIDE).

Le traitement par le gliclazide, institué précocément, dès l'apparition des premières manifestations diabétiques, et poursuivi pendant 12 mois entraîne le retour à un état euglycémique normal

chez la plupart des animaux. Quelques rares animaux présentent une sulfamido-résistance et ont dû recevoir un traitement de substitution par l'insuline. Chez tous les animaux sulfamido-sensibles, la glycémie est normale et les tests urinaires (glycosurie, cétonurie), à l'exception de l'albuminurie, sont négatifs. L'insuline immuno-réactive plasmatique, qui était fortement élevée chez les animaux diabétiques correspondants, se réduit sensiblement à (168 μ unités par ml au lieu de 502 μ unités au stade du diabète de la maturité). Les tests de tolérance au glucose redeviennent normaux chez plus de la moitié des animaux traités [tableau III]. Les valeurs des lipides plasmatiques diminuent progressivement au cours du traitement sulfamidé et affectent toutes les fractions lipidiques [tableau VII] ; les acides gras libres sont également diminués. En définitive, le traitement sulfamidé par le gliclazide poursuivi pendant 12 mois, rétablit dans nos conditions expérimentales l'état euglycémique chez la plupart des animaux en corrigeant fortement le dysfonctionnement lipidique plasmatique.

C- INFLUENCE D'UN TRAITEMENT PAR UN BIGUANIDE ANTIDIABETIQUE, LA METFORMINE.

Le traitement précoce par la metformine chez les rats des sables présentant les premières manifestations diabétiques, entraîne chez la plupart des animaux, le rétablissement de l'état euglycémique. Les rares animaux présentant une biguanide-résistance ont fait l'objet d'un traitement de substitution par l'insuline. Chez les animaux biguanido-sensibles, nous observons outre une glycémie normale, des tests urinaires (cétonurie, glycosurie) négatifs. Des tests de tolérance au glucose pratiqués chez ces animaux traités redeviennent normaux dans un grand nombre de cas. Chez ces animaux, l'évolution pondérale est marquée après plusieurs semaines, par une chute significative du poids des animaux. Les valeurs des lipides plasmatiques, qui étaient fortement élevées chez les animaux diabétiques correspondants, diminuent progressivement au

TABEAU VII Moyennes générales des paramètres biochimiques plasmatiques et urinaux chez le rat des sables diabétique et traité

Nombre d'a-niveaux	Durée du régime	Foids en g	Glycémie mg/100ml	Tests urinaux Res G C A	Insuline μ U/ml	Phospholipides mg/100ml	Cholesterol mg/100ml	Triglycérides mg/100ml
12 ani-	12 mois de régime natu- rel hypoco- lorique	106 \pm 3,1 xxx	64,3 \pm 2,4 xxx	G=0 C=0 A=0;+ xxx	35,3 \pm 2,4 xxx	68 \pm 2,7 xxx	69,5 \pm 3 xxx	79 \pm 3,5 xxx
10 ani- maux	12 mois de traitement sulfinidé	110,5 \pm 3,5 xxx	64 \pm 3 xxx	G=0 C=0 A=0;+ xxx	168 \pm 12,5 xxx	64,5 \pm 1,1 xxx	83,4 \pm 1,1 xxx	123 \pm 7 xxx
19 ani- maux	12 mois de traitement au biguan- nide	103,2 \pm 2,5 xxx	60,1 \pm 5,1 xxx	G=0 C=0 A=0;+ xxx	125 \pm 7 xxx	66,7 \pm 1,5 xxx	91 \pm 1,4 xxx	150 \pm 5,4 xxx
	Temps D	404 \pm 3,1 xxx	181 \pm 18 xxx	G=0 C=0 A=C;+ xxx	265,3 \pm 21,2 xxx	74,5 \pm 1,5 xxx	119 \pm 11 xxx	224 \pm 24,7 xxx

Les valeurs moyennes sont effectuées de l'anneau standard à la moyenne.

Le degré de signification est calculé pour les valeurs de temps D (par rapport aux niveaux témoins correspondants).
-Pour les autres traits par rapport aux autres diètes correspondantes.

*** P < 0,001

cours des 12 mois de traitement ; ces valeurs sont proches de celles que l'on a enregistrées chez les témoins correspondants, à l'exception des triglycérides (tableau VI).

En définitive, le traitement institué précocément par la metformine et prolongé pendant 12 mois, supprime l'état diabétique, rétablit l'état euglycémique et réduit fortement les désordres lipidiques plasmatiques.

En conclusion, la thérapeutique antidiabétique instituée (régimes hypocaloriques restrictifs, traitements au sulfamide hypoglycémiant et au biguanide antidiabétique) entraîne dans la majorité des cas une amélioration de l'état diabétique et des désordres lipidiques liés à ce syndrome.

ETUDE DES COMPLICATIONS DEGENERATIVES DU REIN CHEZ LES RATS DES SABLES DIABETIQUES (MORPHOLOGIE- HISTOCHIMIE- HISTO-ENZYMOLOGIE ET ULTRASTRUCTURE).

Chez le Rat des sables soumis au régime naturel, la structure du rein qui présente un aspect normal a été décrite en détail par BENAZZOUG (1981). Ses travaux nous serviront de référence bien que des études supplémentaires, en particulier sur le plan histochimique et histo-enzymologique aient été effectuées.

L'évolution du syndrome diabétique chez les rats des sables soumis au régime hypercalorique nous a permis de définir plusieurs stades de développement : obésité, diabète de la maturité et diabète insulino-dépendant.

Nous examinerons successivement les complications qui affectent cet organe à ces différents états diabétiques.

Rats des sables obèses.

Plus de 50% des animaux présente une structure normale des reins sur le plan microscopique. Les lumières des capillaires sont très bien visibles, les tubes, l'interstitium, les vaisseaux sont également normaux. On note parfois une hypercellularité endocapillaire ; il n'existe pas à ce stade de réaction épithéliale. Chez les autres animaux s'observe une densification segmentaire des axes mésangiaux (mise en évidence par la coloration à l'acide périodique-Schiff). On note également des épaissements PAS+ de la lame basale glomérulaire. Chez quelques animaux s'observent une dilatation et une congestion des anses capillaires. Enfin, au niveau des glomérules, quelques animaux présentent une fusion des capillaires glomérulaires formant des lacs.

L'examen histochimique et histo-enzymologique sera étudié conjointement avec les autres animaux diabétiques.

Sur le plan de l'ultrastructure, les observations confirment les données précédentes. De nombreux capillaires sont distendus et congestifs présentant des hématies dans les lumières. Chez certains animaux on note une discrète hypertrophie, chez d'autres des dépôts plus importants avec des phénomènes d'hypercellularité. Les épais-

PLANCHE I

MORPHOLOGIE DU REIN NORMAL : ZONE CORTICALE.

Figure 1 : Glomérule et tubules à paroi régulière.

C.B : capsule de Bowman

G : glomérule

T.C.P. : tube contourné proximal

T.C.D. : tube contourné distal

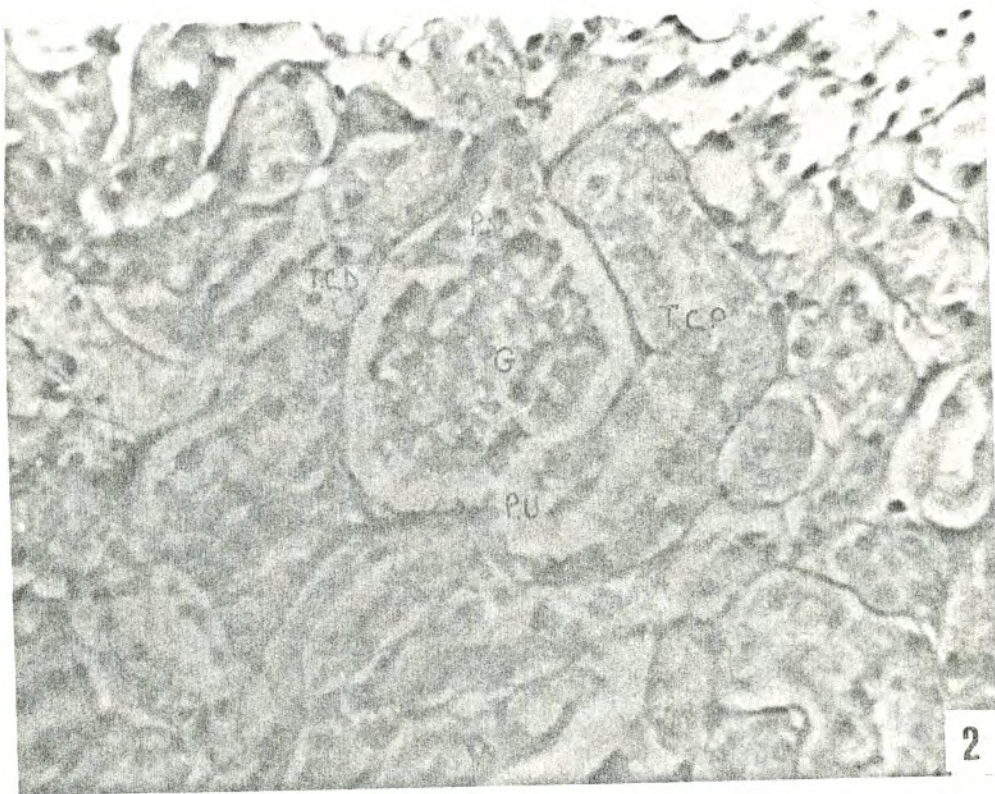
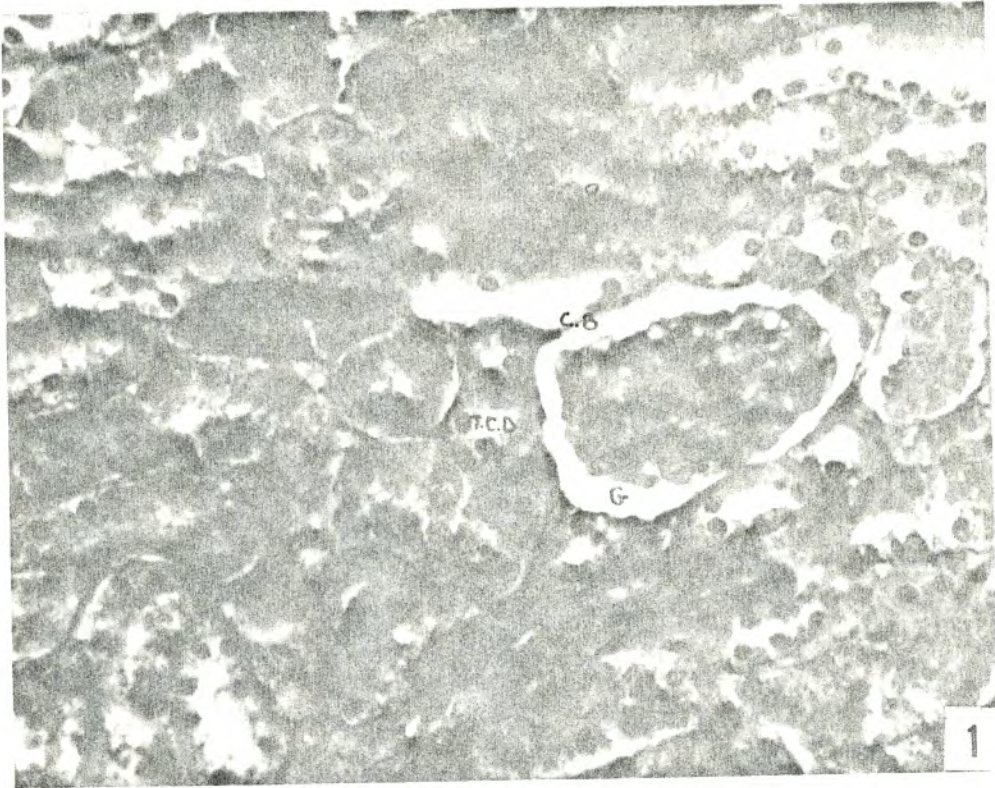
Coloration : trichrome de Masson Gr: x 320

Figure 2 : Glomérule avec ses deux pôles, vasculaire et urinaire.

P.V : pôle vasculaire

P.U : pôle urinaire

Coloration : acide périodique-Schiff Gr : x 640



épaississements des lames basales et capillaires sont très largement confirmés chez certains animaux.

Rats des sables au stade du diabète de la maturité.

Ce lot d'animaux regroupant le diabète latent et le diabète de la maturité se caractérise par des altérations rénales avec des différences individuelles très marquées.

Ces animaux présentent à des degrés variables, divers signes de néphropathie diabétique. Les interactions morphologiques affectent conjointement les glomérules, les tubes et les micro-vaisseaux. Les glomérules présentent plusieurs aspects lésionnaires. Les images les plus fréquentes sont l'épaississement de la lame basale de la capsule de Bowman et des lames basales des capillaires glomérulaires. Il y a également une augmentation du matériel PAS+ qui traduit la surproduction de protéines mésangiales chez un certain nombre d'animaux. Les anévrismes concernent un nombre limité de glomérules. Par contre la glomérulosclérose est encore peu répandue et n'intéresse que 15% des animaux.

Les tubes rénaux présentent deux aspects pathologiques. On observe un épaississement modéré de la lame basale limitant l'épithélium de nombreux tubes disséminés ou groupés par îlots. 60% de ces animaux présentent ce type d'altération. Enfin des lésions dégénératives caractérisées par un épithélium vacuolaire ou desquamé et la présence de cylindres s'observent chez 60% de ces animaux (Pl. II, III, IV)

Les micro-vaisseaux rénaux : on note chez près de 50% des animaux une PAS positivité accrue qui rend plus saillantes les petites artères corticales (interglomérulaires, afférentes, éfférentes) (Pl. II).

L'histo-chimie et l'histo-enzymologie seront examinées conjointement par rapport aux témoins normaux.

Ultrastructure.

Sur le plan glomérulaire, des images de microscopie électronique réalisées sur un nombre élevé d'animaux montrent des épaississements des lames basales de la capsule de Bowman. L'augmentation de dépôts PAS+* au sein du glomérule est également confirmée (Pl. IX). Par contre les anévrismes de type sacculaire situés près du pôle vasculaire du glomérule ne concernent qu'un nombre limité de glomérules. Les images de glomérulosclérose sont rares. Les lames basales

* déjà observée en microscopie photonique

PLANCHE II

MORPHOLOGIE ET HISTOCHIMIE DU REIN DIABETIQUE : ZONE CORTICALE.

Figure 1 : Cortex rénal vu au faible grossissement.

Densification mésangiale (*) et réduction glomérulaire (/)

Coloration : acide périodique-Schiff Gr : x 94,5

Figure 2 : Les glomérules montrent des basales épaissies (capsule de Bowman et glomérulaires), les tubules dont les basales sont épaissies et les cellules altérées apparaissent sous forme de cylindres (/).

Coloration : acide périodique-Schiff Gr : x 126

Figure 3 : Rétraction glomérulaire avec densification mésangiale
La basale de la capsule de Bowman présente des épaississements locaux.

P.V : pôle vasculaire

C.B : capsule de Bowman

Coloration : acide périodique-Schiff Gr : x 500

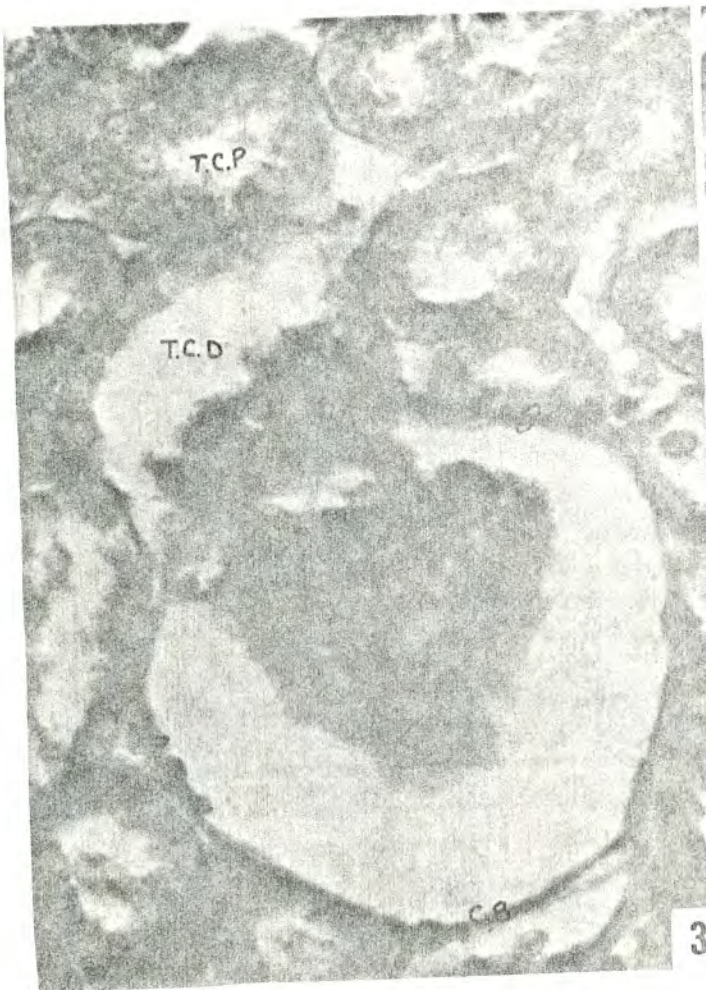
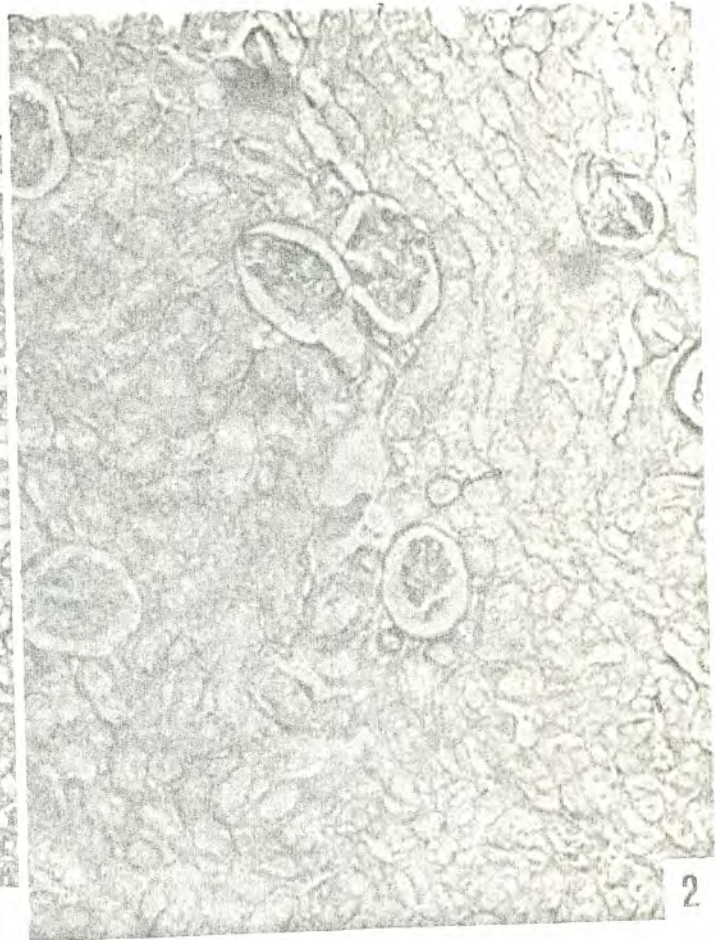
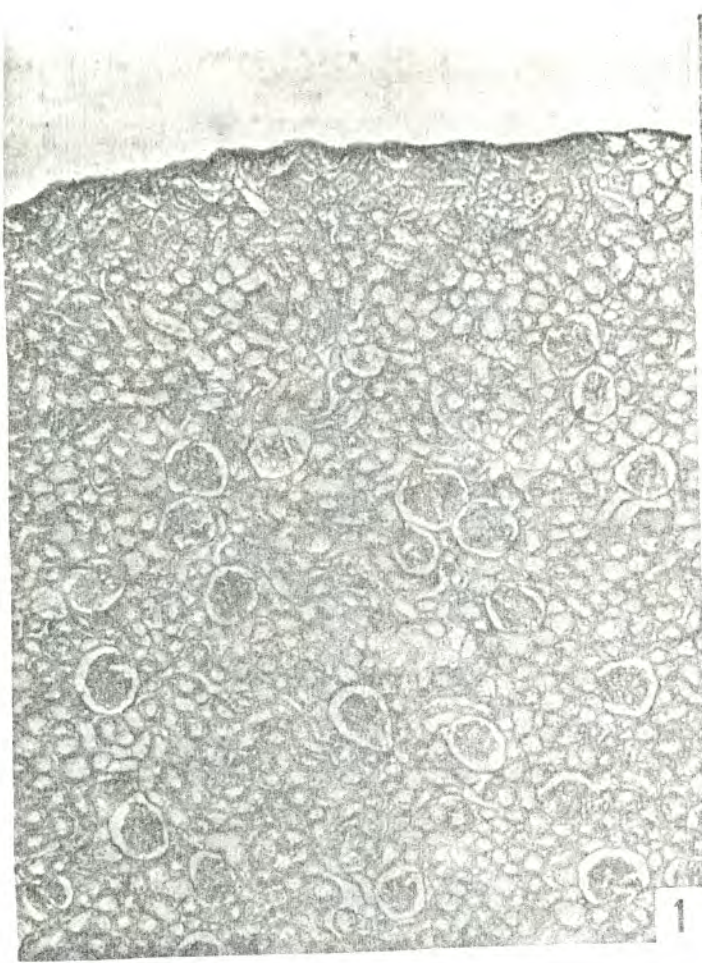
Figure 4 : Glomérule (G) montrant une densification mésangiale avec phénomène d'exsudation, voisin de deux artérioles atteintes d'artériolosclérose.

A : artériole ; G : glomérule

TCP : tube contourné proximal

TCD : tube contourné distal

Coloration : acide périodique-Schiff Gr : x 800



de nombreux tubes sont épaissies, elles deviennent très saillantes suite à un dépôt abondant de glycoprotéines. Enfin, les lésions dégénératives sont confirmées. Au niveau des micro-vaisseaux, la PAS positivité exagérée est bien visible au niveau des petites artères corticales [Pl. IX; Pl. X, fig. 1].

Rats des sables au stade du diabète insulino-prive.

Il est évident que ces animaux présentent des lésions rénales plus importantes. Elles concernent à la fois le néphron en entier et les micro-vaisseaux.

En microscopie photonique.

Les glomérules présentent plusieurs lésions fondamentales. L'épaississement de la lame basale de la capsule de Bowman, concerne la majorité des animaux étudiés. L'augmentation des dépôts PAS+ du glomérule qui caractérise la surproduction de glycoprotéines mésangiales et l'épaississement des lames basales des capillaires glomérulaires concernent la totalité des animaux diabétiques. Les images montrent que la majorité des glomérules sont atteints. Les anévrismes de type sacculaire affectent plus de 50% des animaux. Une rétraction et même dans certains cas une atrophie glomérulaire s'observent ayant pour conséquence la disparition du glomérule. Enfin, les images de glomérulosclérose sont visibles chez un très grand nombre d'animaux [Pl. II, III, IV, V].

Les tubes rénaux présentent des images pathologiques avec des fréquences beaucoup plus importantes que dans les deux lots précédents :

- épaississement des lames basales de nombreux tubes, disséminés ou groupés par îlots qui affecte la totalité des animaux [Pl. II, IV],
- des lésions dégénératives marquées par des cellules tubulaires desquamées ou en dégénérescence [Pl. III]
- une néphrose glycogénique qui touche en particulier les cellules épithéliales tubulaires proximales [Pl. IV]
- une néphrose lipoïdique caractérisée par une richesse en lipides soudanophiles [Pl. VI]
- une accentuation de la basophilie des cellules tubulaires (richesse en ARN).

En ce qui concerne les micro-vaisseaux, la totalité des animaux présente une PAS positivité accrue qui met en évidence les petites

PLANCHE III

MORPHOLOGIE ET HISTOCHIMIE DE REIN DIABETIQUE : ZONE CORTICALE.

Figure 1 : Glomérule montrant une densification mésangiale .
Coloration : trichrome de Masson Gr : x 800

Figure 2 : Glomérulosclérose exsudative.
Glomérule avec un pôle vasculaire et la macula densa.
Coloration : acide périodique-Schiff Gr : x 500

Figure 3 : Image de l'épaississement de la lame basale de la capsule de Bowman (↔), avec densification mésangiale (G).
Les cellules épithéliales tubulaires présentent une altération **
Coloration : acide périodique-Schiff Gr : x 800
G : glomérule
C.B : capsule de Bowman
M.D : macula densa
TCD : tube contourné distal
L.B : lame basale
TCP : tube contourné proximal.

PLANCHE IV

MORPHOLOGIE ET HISTOCHIMIE DE LA ZONE CORTICALE DU REIN DIABETIQUE.

Figure 1 : Image de glomérulosclérose exsudative avec épaississement des basales glomérulaire et tubulaires.

Coloration : acide périodique-Schiff Gr : x 800

Figure 2 : Epaississement des basales glomérulaires et tubulaires [↗].

Coloration : acide périodique-Schiff Gr : x 800

Figure 3 : Epaississement des basales glomérulaires et tubulaires avec néphrose glycogénique qui touche les cellules épithéliales du proximal [↗] et lésion dégénérative de certaines cellules tubulaires [*].

Coloration : acide périodique-Schiff Gr : x 160

G : glomérule

TCD : tube contourné distal.



PLANCHE V

MORPHOLOGIE DE LA ZONE CORTICALE DU REIN DIABETIQUE.

Figure 1 : Artériolosclérose

Artériole corticale saillante [A]

Coloration : trichrome de Masson Gr : x 500

Figure 2 : Densification mésangiale et artériolosclérose.

Le glomérule présente un épaissement des basales glomérulaires et de la capsule de Bowman [G].

L'artériolosclérose touche le vaisseau sanguin [A].

Coloration : trichrome de Masson Gr : x 232

Figure 3 : Glomérulosclérose et épaissement des basales capsulaires de Bowman.

La glomérulosclérose (*) atteint les trois glomérules [G] ainsi que l'épaississement des lames basales de la capsule de Bowman [C.B].

Coloration : trichrome de Masson Gr : x 200

Figure 4 : Fibrose interstitielle (⊗)

Coloration : trichrome de Masson Gr : x 200

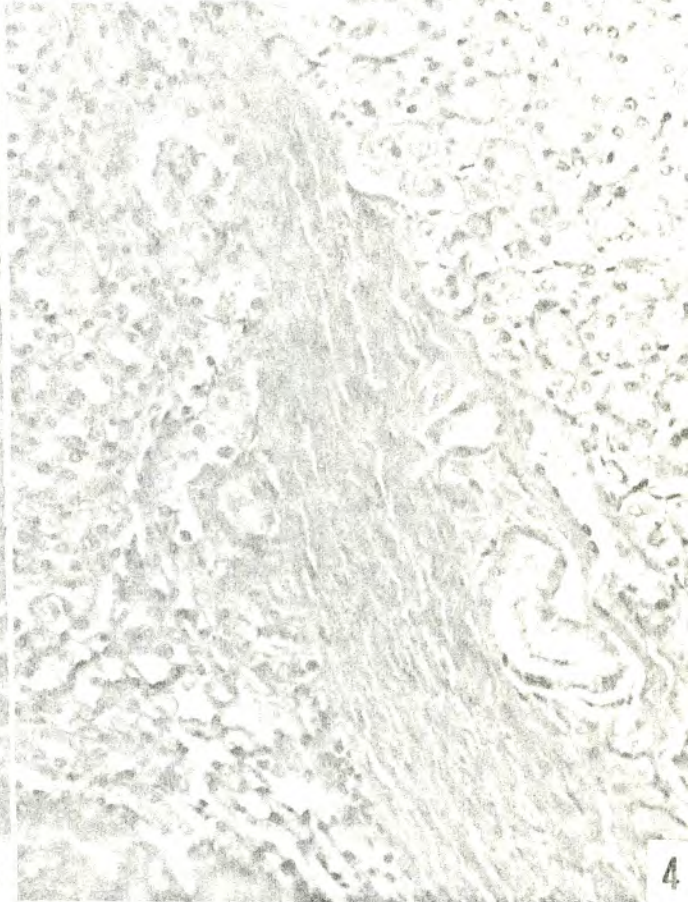
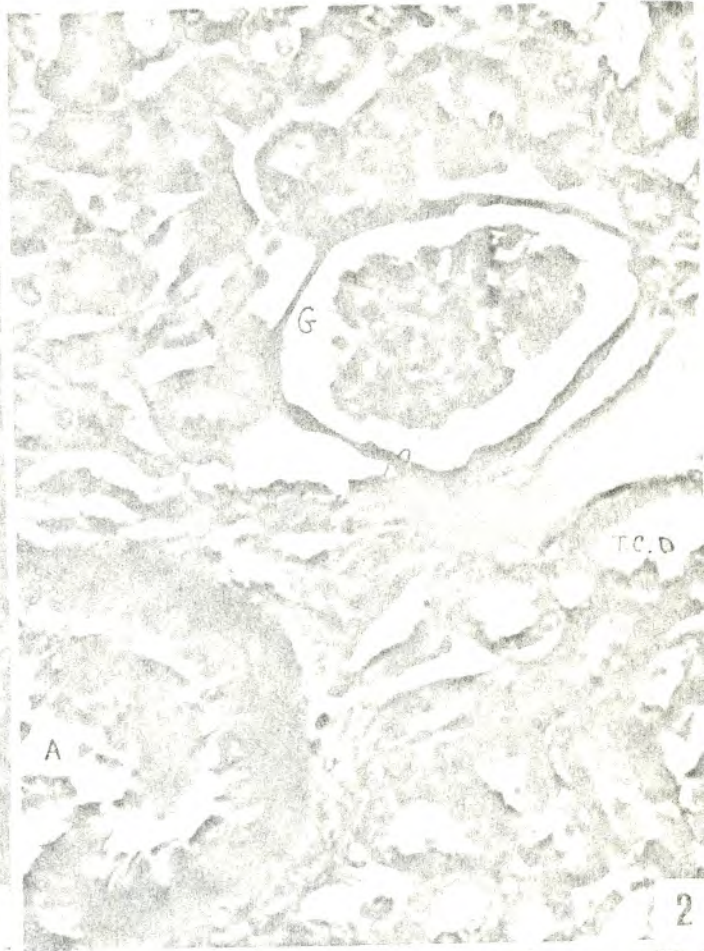
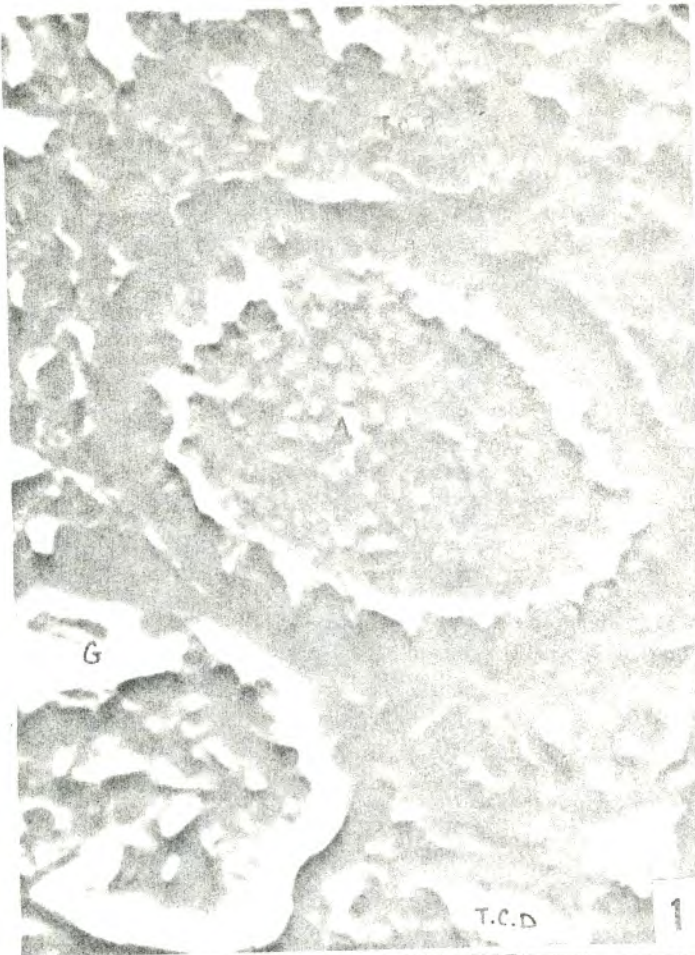
G : glomérule

A : artériole

CB : capsule de Bowman

TCP : tube contourné proximal

TCD : tube contourné distal.



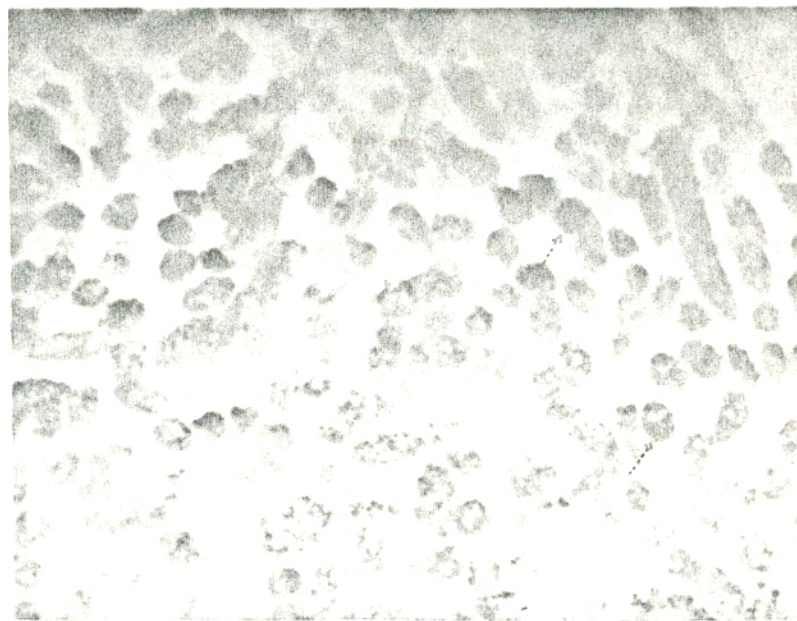


FIGURE 1: MISE EN EVIDENCE DES LIPIDES DANS LES ANSES DE HENLÉ (↗).
RÉACTION AU NOIR SOUDAN.
Gr: x 10

PLANCHE VII

ULTRASTRUCTURE DU TUBE CONTOURNE PROXIMAL DE REIN NORMAL ET
DIABETIQUE.

Figure 1 : Rein normal.

La lame basale du tube contourné proximal est uniforme
(/).

L.B : lame basale

M : mitochondrie

Coloration : acétate d' uranyle - citrate de plomb.

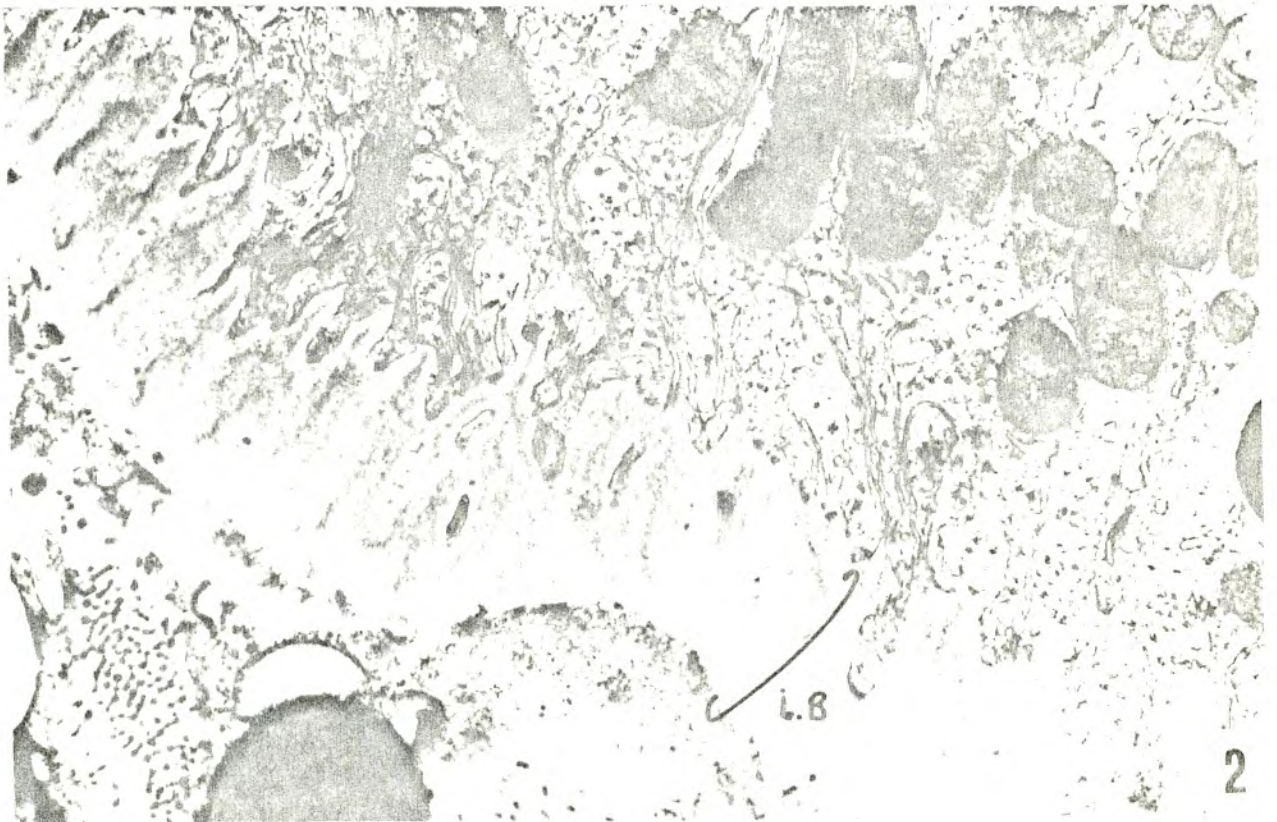
Gr : x 30 000 .

Figure 2 : Rein diabétique..

La lame basale du tube proximal est épaissie et irrégulière avec des digitations dans les replis basaux des cellules tubulaires.

Coloration : acétate d' uranyle - citrate de plomb

Gr : x 30 000.



artères corticales et les artérioles jouxtant les anses de Henlé [PL. II]
Chez certains animaux s'observe en outre une artériolopathie obstructive proliférative qui se caractérise par une atteinte des artérioles rénales dont certaines paraissent entièrement obturées. L'exsudation avec oedème et la prolifération cellulaire ne sont visibles que chez quelques animaux.

Il est évident que la protéinurie généralisée observée chez ces animaux lors de l'analyse hebdomadaire des urines s'explique aisément par les lésions rénales qui les affectent.

En microscopie électronique [PL. IX, fig. 1; PL. VII]

Les images de lésions concernant le néphron entier sont largement confirmées : hypertrophie glomérulaire, augmentation de la quantité du matériel des lames basales, prolifération cellulaire mésangiale, lésion exsudative, glomérulosclérose, hyalinose artériolaire. Il en est de même des lésions tubulaires [dégénérescence cellulaire, épaissement des lames basales, dépôts glycogénique et lipogénique].

Histochimie - Histo-enzymologie.

Les résultats ont été effectués sur un nombre limité d'animaux regroupant les données des animaux obèses et diabétiques par rapport aux témoins normaux servant de référence.

Des prélèvements de reins de rats des sables normaux, obèses et diabétiques ont été juxtaposés, assemblés dans le même bloc, ont subi le même traitement histochimique et sont observés et interprétés sur une même coupe.

Les résultats histochimiques et histo-enzymologiques sont présentés dans le tableau VIII. Les chiffres représentent la moyenne et l'appréciation subjective semi-quantitative de l'intensité des résultats enzymatiques. L'index de positivité de ces réactions est le suivant :

- 0 pour une réaction négative
- 0,5 pour une réaction douteuse
- 1 pour une réaction faiblement positive
- 2 pour une réaction moyennement positive
- 3 pour une réaction fortement positive
- 4 pour une réaction très fortement positive.
- pour une réaction inchangée

Sur le plan histo-chimique, les animaux diabétiques présentent des réactions PAS fortement positives, caractéristiques de l'existence de dépôts abondants de glycoprotéines et d'autres carbohydrates. Par contre, les réactions au dimédon-PAS mettant en évidence le glycogène, la réaction au bleu de toluidine montrant l'existence de glycosaminoglycannes, enfin la réaction de Brachet, spécifique des ribonucléoprotéines sont négatives, tant chez les diabétiques que chez les normaux. On note toutefois une réaction légèrement positive au noir soudan montrant la présence de dépôts extrêmement légers de triacylglycérols.

En définitive, le rein des animaux obèses et diabétiques se caractérise essentiellement par l'importance des dépôts de glycoprotéines et autres carbohydrates qui constituent comme on le sait les matériaux structurels des lames basales fortement épaissies chez les animaux diabétiques aussi bien au niveau des glomérules qu'au niveau des tubes.

Sur le plan histo-enzymologique :

* la glucose 6 phosphatase [E.C.3.1.3.9.], intervient dans la transformation du glucose 6 P en glucose ; elle apparait fortement positive chez les animaux témoins normaux en particulier au niveau des tubes.

* la glucose 6 P déshydrogénase [E.C.1.1.1.49], enzyme intervenant dans la voie des pentoses, par oxydation du glucose 6 P en 6 P gluconolactone, présente une certaine activité chez les témoins normaux en particulier au niveau tubaire ; cette activité est maintenue ou légèrement augmentée chez les diabétiques.

* la β glucuronidase [E.C.2.1.3.31], enzyme lysosomiale catalysant la rupture de la liaison β de l'acide glucuronique de nombreux glucides complexes, présente une activité non modifiée chez le rat diabétique par rapport au témoin.

* la sorbitol déshydrogénase [E.C.1.1.1.14], enzyme de conversion du fructose en sorbitol et inversement, a une activité maintenue ou légèrement augmentée chez les diabétiques.

* la lactate déshydrogénase [E.C.1.1.1.27] impliquée dans la glycolyse anaérobie, permettant la transformation du pyruvate en lactate. Elle présente une très forte activité chez les témoins normaux tant au niveau des tubes, qu'au niveau des anses de Henlé. Cette activité tend à diminuer chez les diabétiques.

ABREVIATIONS UTILISEES

HISTO-ENZYMOLOGIE

G 6 Pase	: Glucose 6 phosphatase
G 6 P DH	: Glucose 6 phosphate déshydrogénase
Glu	: glucuronidase
S D H	: Sorbitol déshydrogénase
L D H	: Lactate déshydrogénase
G P DH	: glycérol 3 phosphate déshydrogénase
I C D H	: Isicitrato déshydrogénase
Su D H	: Succinate déshydrogénase
M D H	: Malate déshydrogénase
G P R	: Glycogène phosphorylase
U D P G GT	: Uridyl diphosphoglucose glycogène synthétase
N A D H, H ⁺ TR	: NADH déshydrogénase
N A D P H ₂ TR	: NADP déshydrogénase
Glu DH	: Glutamate déshydrogénase
L A P	: Aminopeptidase
5' Nase	: 5' Nucléotidase
M A O	: Monoamine oxydase
A T Pase-Ca ⁺⁺	: Adénosine triphosphatase
Pase alc	: Phosphatase alcaline
Pase ac	: Phosphatase acide
C H O E A	: Cholinestérase
N Est A	: Estérase naphtyl
Est A I	: Indoxyl estérase
H D D H	: hydroxybutyrate déshydrogénase

HISTOCHIMIE

P A S	: Réaction à l'acide périodique - Schiff
B T	: Bleu de toluidine
G	: glomérule
t	: tubules proximal et distal
h	: anse de Henlé
A	: artériole

* α glycérol 3 phosphate déshydrogénase [E.C.1.1.1.8], intervenant dans l'oxydation du glycérol 3 P en dihydroxyacétone P dans la mitochondrie, est absente au niveau du glomérule et abondante au niveau des anses de Henlé. Ces différentes activités ne sont pas modifiées chez les diabétiques.

* l'isocitrate déshydrogénase [E.C.1.1.1.41], enzyme du cycle de KREBS, présente une activité positive au niveau des tubes, relativement faible au niveau de l'anse de Henlé. Son activité est soit maintenue, soit légèrement diminuée.

* La succinate déshydrogénase [E.C.1.3.99], catalysant la transformation réversible du succinate en fumarate, présente au niveau des glomérules et des anses de Henlé une activité modérée ; cette activité est très importante au niveau des tubes contournés proximaux et distaux. On note un maintien de cette forte activité au niveau des tubes.

* la malate déshydrogénase [E.C.1.1.1.37], intervenant dans le cycle de KREBS en transformant le malate en oxaloacétate, est modérée au niveau des tubes contournés, à peine présente au niveau des glomérules. Cette représentation topographique n'est pas altérée au cours du diabète.

* la glycogène phosphorylase [E.C.2.4.1.1], catalyse le transfert d'un résidu glucosyl initial sur une molécule d'orthophosphate, d'où libérations successives de molécules d' α glucose 1 P. Cette enzyme présente une augmentation de son activité chez l'obèse et le diabétique, au niveau du glomérule.

* l'U.D.P.G. - Glycogène synthétase [E.C.2.4.1.11], permet le transfert d'un glucosyl porté par l'U.D.P. glucose sur une amorce linéaire de glycogène, permettant l'allogement de la molécule de glycogène. Son activité n'est pas modifiée au cours du diabète.

* NADH déshydrogénase [E.C.1.6.99.3] et NADPH₂ déshydrogénase [E.C.1.6.99.1], catalysent le transfert des protons de NADH, H⁺ et NADPH₂ sur l'accepteur. L'activité de ces deux enzymes, fortement positive chez les témoins normaux au niveau des tubes et anses de Henlé, se trouve conservée chez les diabétiques.

* la glutamate déshydrogénase [E.C.1.4.1.2], catalysant la transformation réversible de l' α céto-glutarate en glutamate présente chez les témoins normaux une activité faible au niveau des

glomérules, positive au niveau des tubes et anses de Henlé. Ses différentes activités sont soit maintenues chez les diabétiques, soit diminuées.

* la leucyl peptidase (E.C.3.4.1.1), enzyme lysosomiale spécifique dans la dégradation des peptides présente une réaction intensément positive au niveau des tubes, faible ou inexistence au niveau des glomérules. Cette réaction est légèrement réduite chez les animaux diabétiques.

* la monoamine oxydase (E.C.1.4.3.4), enzyme intervenant dans la désamination oxydative des catécholamines et autres amines biologiques. Cette enzyme qui présente une réaction positive essentiellement localisée au niveau des tubes contournés et relativement faible au niveau des glomérules voit son activité maintenue chez les animaux diabétiques avec cependant des variations d'un individu à l'autre.

* la 5' nucléotidase (E.C.3.1.3.5) détache les résidus phosphates des nucléotides phosphorylés en 5' du pentose. Cette enzyme, qui interviendrait dans les mécanismes d'échanges et de transports transmembranaires, présente une localisation proximale. Son activité est faiblement représentée au niveau des tubes contournés, aucune modification de cette intensité n'est notée chez les diabétiques.

* ATPase -Ca⁺⁺ (E.C.3.6.1.4) qui intervient dans la dégradation de l'ATP présente une réaction fortement positive à la fois au niveau des glomérules et des tubes contournés normaux. Cette activité est maintenue au niveau des glomérules chez les diabétiques mais présente des variations individuelles au niveau des tubes.

* la phosphatase alcaline (E.C.3.1.3.1), localisée au niveau de la bordure en brosse du tube contourné proximal, cette enzyme intervient dans les échanges et transports transmembranaires. Elle est faiblement positive au niveau des tubes contournés chez les témoins, et devient fortement positive chez les animaux diabétiques.

* la phosphatase acide (E.C.3.1.3.2), enzyme lysosomiale qui présente une localisation marquée au niveau de l'anse de Henlé, modérée dans les autres segments tubulaires, et négative dans le

glomérule du Rat témoin. Onnote chez les diabétiques une réaction plus intense au niveau des tubes et anses de Henlé.

* la choline - estérase [E.C.3.1.18], impliquée dans la dégradation de l'acétylcholine, est essentiellement localisée au niveau des artères interlobulaires et artérioles afférentes. Son activité est beaucoup plus intense au niveau des vaisseaux des animaux diabétiques.

* la naphthyl estérase [E.C.3.1.1.2/6], intervenant dans la lipolyse et dans le processus de détoxication rénale présente une localisation essentiellement tubulaire chez les témoins. Cette activité est maintenue ou légèrement diminuée chez les diabétiques.

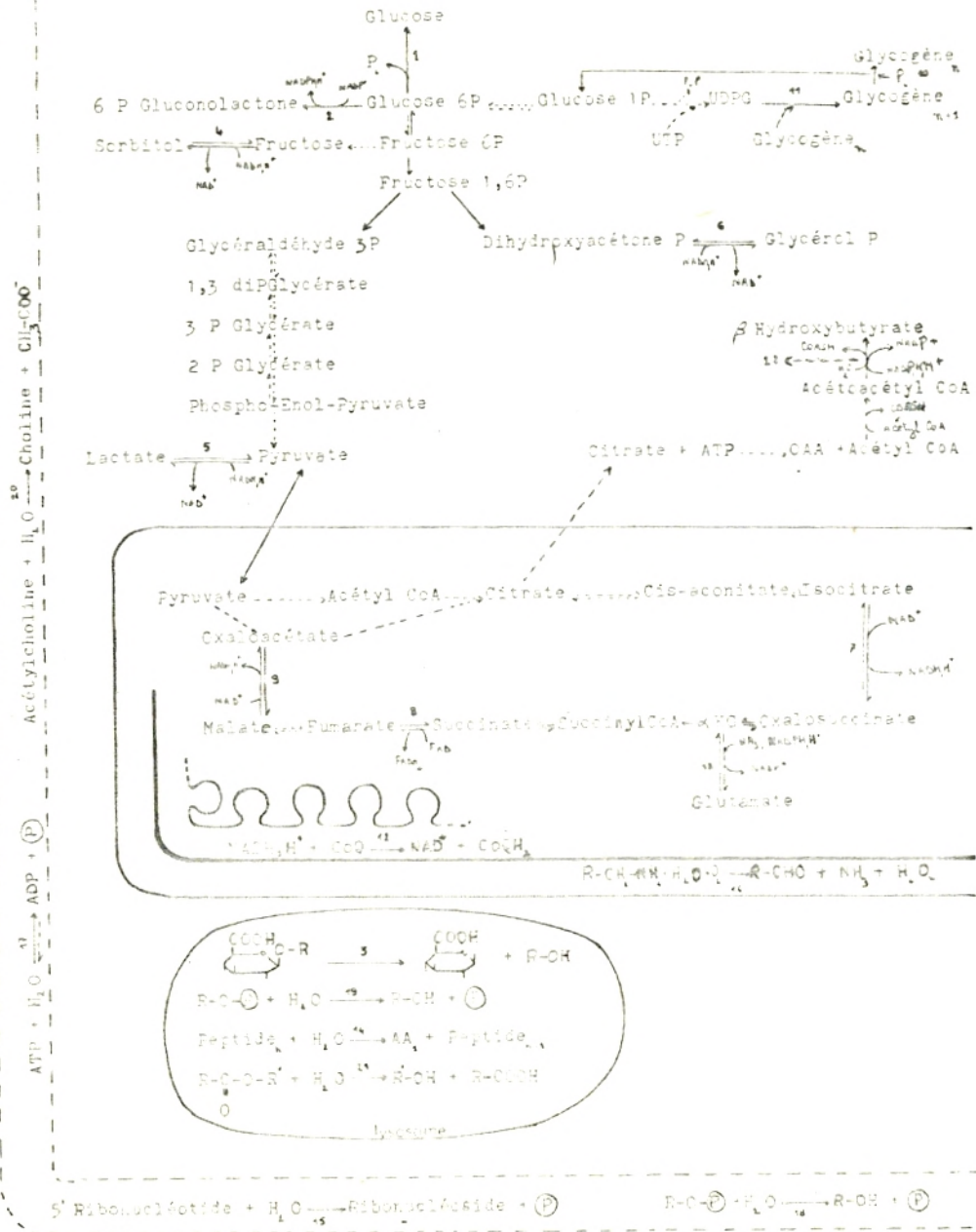
* l'indoxyl estérase [E.C.2.1.1.2/6], enzyme d'hydrolyse des esters de corps cétoniques, présente une localisation essentiellement tubulaire. Chez les diabétiques, cette enzyme présente soit un maintien, soit une légère diminution de son activité.

* la β hydroxybutyrate déshydrogénase [E.C.1.1.1.30], impliquée dans l'anabolisme des acides gras, dans la transformation réversible de l'acétoacétate en β hydroxybutyrate, présente une activité positive au niveau des anses de Henlé et des tubes contournés. Cette activité est soit maintenue ou peu diminuée chez les diabétiques.

En conclusion,

- sur le plan histochimique, chez les animaux diabétiques, les dépôts macromoléculaires, en particulier les glycoprotéines et autres carbohydrates sont extrêmement abondants par rapport aux animaux témoins normaux. Les dépôts glycogéniques et les lipides neutres ne sont pas modifiés.
- bien que les modifications histo-enzymologiques apparaissant au cours du syndrome diabétique ne soient pas d'une très grande ampleur, il faut noter toutefois quelques variations importantes :
 - . l'activité enzymatique de la phosphorylase, strictement médullaire chez le témoin nourri au régime restrictif naturel, apparaît de façon marquée au niveau de la zone corticale du rein de Rat diabétique.
 - . la phosphatase alcaline faiblement active au niveau tubulaire chez le témoin, augmente chez l'obèse et apparaît très forte chez les diabétiques.

- . la phosphatase acide présente également une légère augmentation de son activité au niveau tubulaire.
- . la choline-estérase, déjà positive chez le témoin, devient particulièrement active lors du syndrome diabétique.



Localisation des enzymes citées au niveau cellulaire.

Enzymes correspondantes

1	Glucose 6 Phosphatase	E.C. 3.1.3.9
2	Glucose 6 P Déshydrogénase	E.C. 1.1.1.49
3	β Glucuronidase	E.C. 2.4.3.31
4	Sorbitol Déshydrogénase	E.C. 1.1.1.14
5	Lactate Déshydrogénase	E.C. 1.1.1.27
6	Glycérol 3 P Déshydrogénase	E.C. 1.1.1.10
7	Isocitrate Déshydrogénase	E.C. 1.1.1.41
8	Succinate Déshydrogénase	E.C. 1.3.9.9
9	Malate Déshydrogénase	E.C. 1.1.1.37
10	Glycogène Phosphorylase	E.C. 2.4.1.1
11	Uridyl Di P Glucose-Glycogène Synthétase	E.C. 2.4.1.11
12	NADH, H ⁺ Déshydrogénase	E.C. 1.4.99.3
13	Glutarate Déshydrogénase	E.C. 1.4.1.2
14	Leucyl-Amino-Peptidase	E.C. 3.4.1.1
15	5' Nucléotidase	E.C. 3.1.3.5
16	Monamine Oxydase	E.C. 1.4.3.4
17	Adénosine Triphosphatase	E.C. 3.6.1.4
18	Phosphatase Alcaline	E.C. 3.1.3.1
19	Phosphatase Acide	E.C. 3.1.3.2
20	Cholinestérase	E.C. 3.1.1.8
21	Tatérases (Naphtyl Indoxyl)	E.C. 3.1.1.1/6; E.C. 2.1.1.2/6
22	β Hydroxybutyrate Déshydrogénase	E.C. 1.1.1.30

CHAPITRE III

EFFETS DE LA THERAPEUTIQUE ANTIDIABETIQUE SUR LES COMPLICATIONS
DEGENERATIVES RENALES CHEZ LE RAT DES SABLES DIABETIQUE.

- A. EFFETS DES REGIMES HYPOCALORIQUES
- B. INFLUENCE DU TRAITEMENT PAR LE SULFAMIDE
- C. INFLUENCE DU TRAITEMENT BIGUANIDIQUE.

Nous allons examiner successivement la thérapeutique anti-diabétique instituée (régimes hypocaloriques standard restrictif et naturel, sulfamide hypoglycémiant et biguanide antidiabétique) administrée dès les premières manifestations diabétiques sur les complications dégénératives et athéroscléreuses qui affectent le rein du Rat des sables diabétique.

A. EFFETS DES REGIMES HYPOCALORIQUES

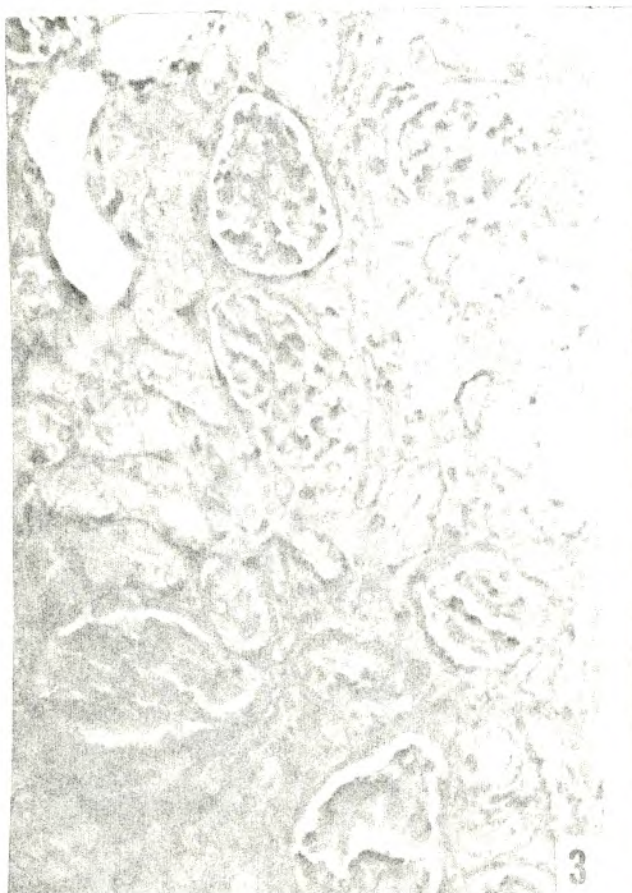
Examinons tout d'abord le régime naturel :

Sur le plan morphologique, les lésions rénales observées chez les animaux diabétiques soumis au régime nutritionnel, apparaissent beaucoup moins sévères que chez les animaux non traités (Pl. VIII, Fig. 2). L'amélioration du score lésionnel global est sensible. Ainsi la fréquence de l'épaississement de la lame basale de la capsule de Bowman diminue de moitié. L'amélioration est du même ordre en ce qui concerne l'épaississement des lames basales tubulaires. L'effet du régime est encore plus favorable sur l'accumulation de substances PAS+ au niveau du glomérule. Il faut noter seulement la présence de lésions glomérulaires focales dues à la congestion des capillaires (Pl. VIII, Fig. 2). Au niveau des micro-vasseaux rénaux, on note une amélioration sensible du score du paramètre PAS positivité indiquant que ceux-ci sont beaucoup moins affectés.

Sur le plan ultrastructural, les examens effectués sur un nombre limité montrent des glomérules apparaissant souvent normaux, avec seulement des dilatations kystiques, dues à la réunion de capillaires très congestifs (Pl. IX, Fig. 2,3).

Sur le plan histochimique, on note une forte diminution de la PAS positivité qui affecte les glycoprotéines et autres carbohydrates qui constituent comme chacun sait les éléments fondamentaux des épaissements des lames basales (Tableau VIII). Par contre le glycogène, les lipides neutres, les ribonucléoprotéines ne sont pas affectés.

Sur le plan histo-enzymologique, les modifications qui affectent les animaux diabétiques ne sont pas sensiblement améliorées après



ULTRASTRUCTURE DU GLOMERULE RENAL.

Figure 1 : Rat des sables diabétique.

Le matériel mésangial (M) est important, les lames basales (↗) des capillaires présentent des épais-
sissements.

Coloration : acétate d'uranyle - citrate de plomb

Gr : x 5 000

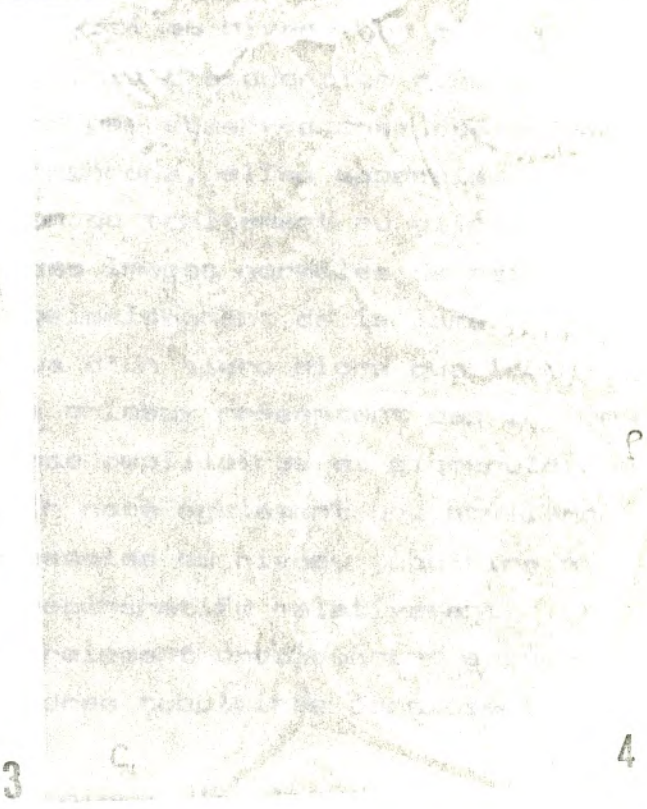
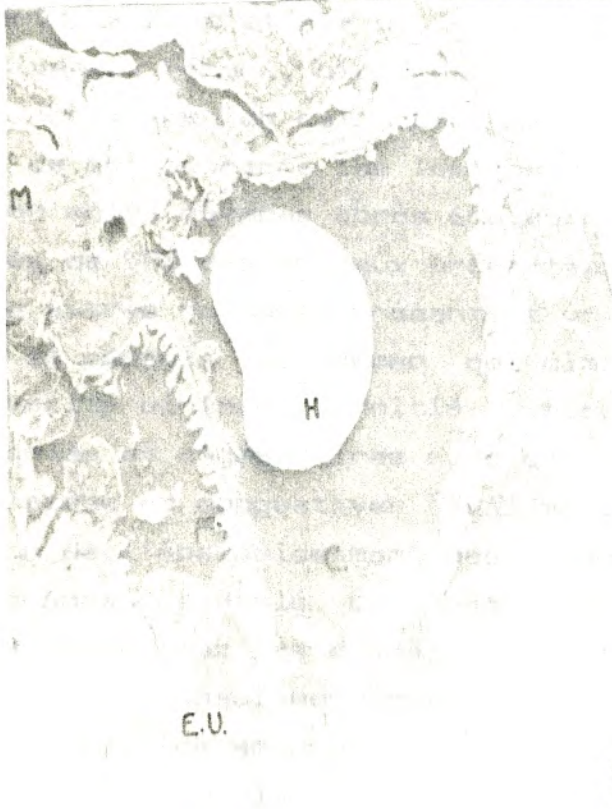
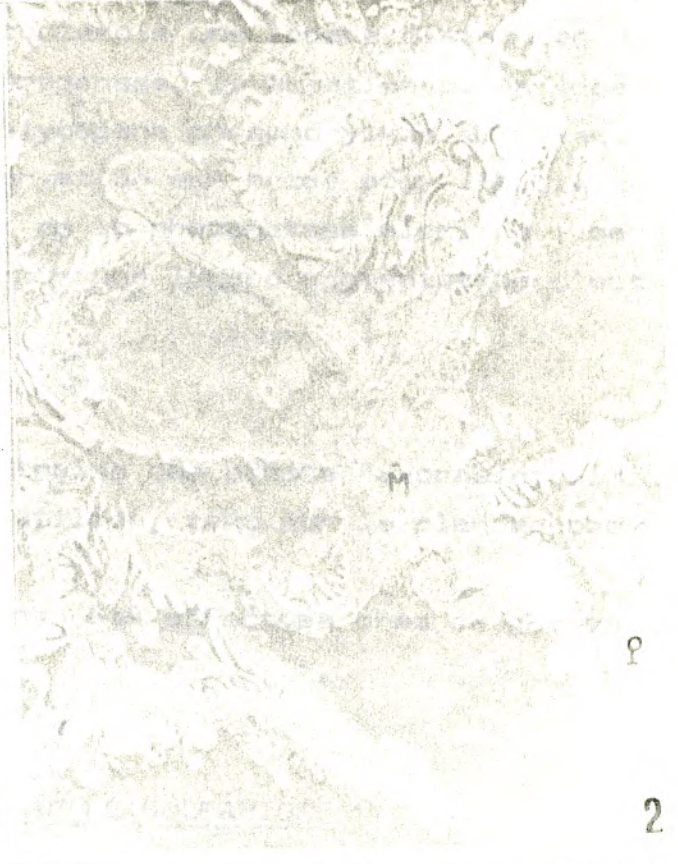
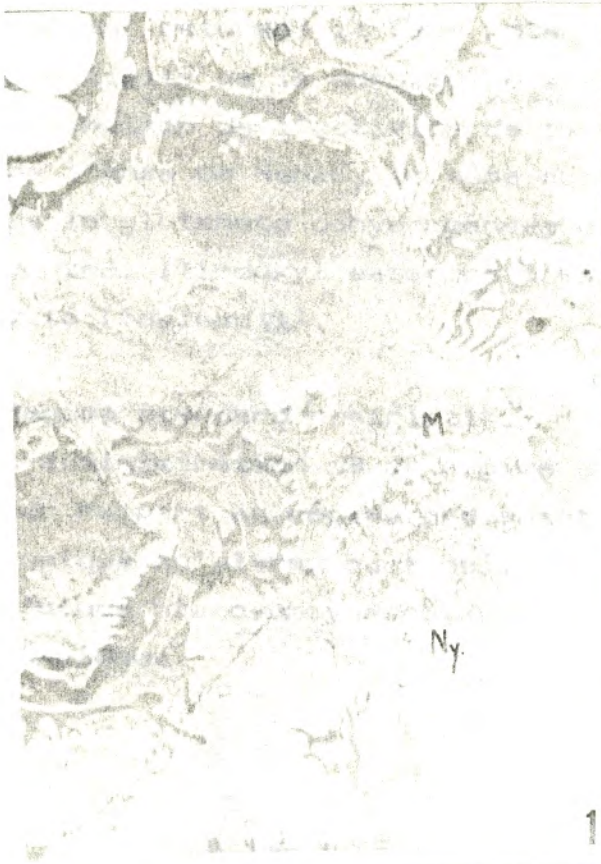
Figures 2, 3, 4 : Rat des sables traité au régime naturel.

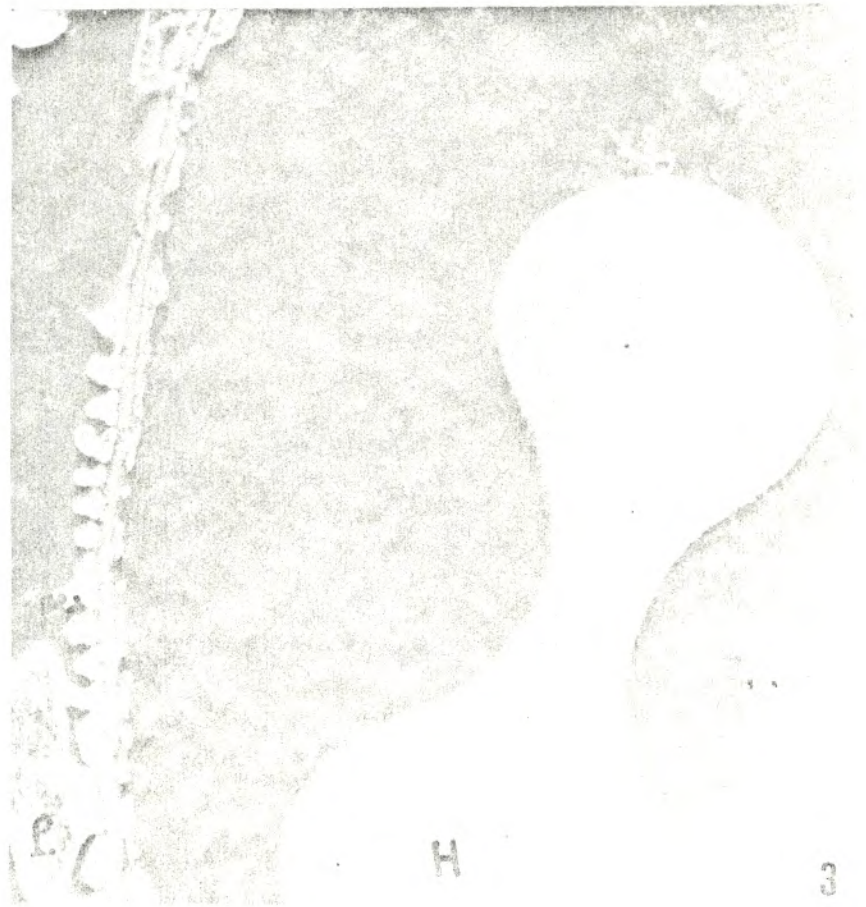
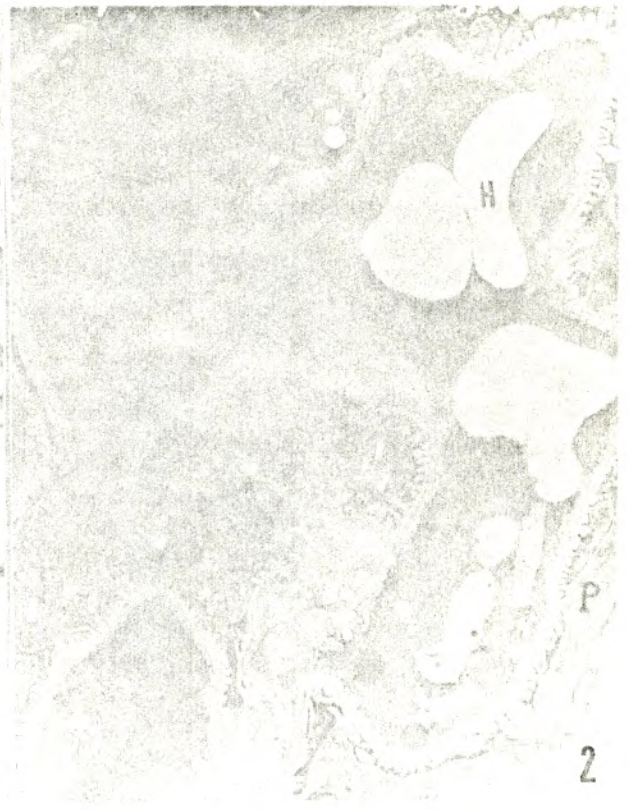
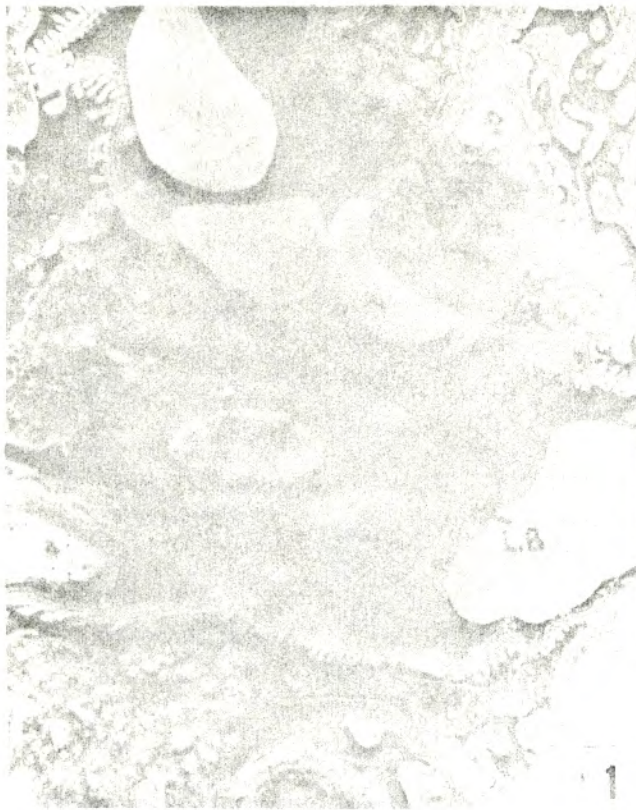
Le matériel mésangial est réduit, les anses capillaires sont dilatées, les lames basales sont régulières.

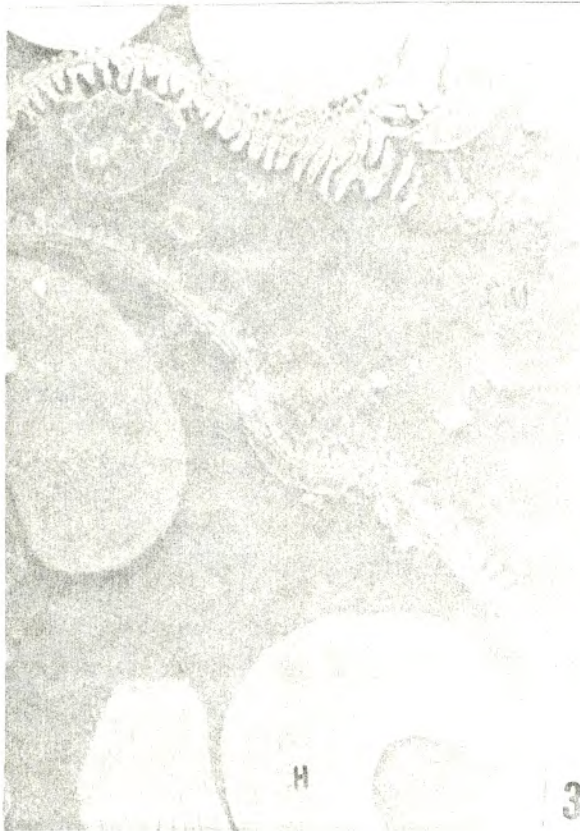
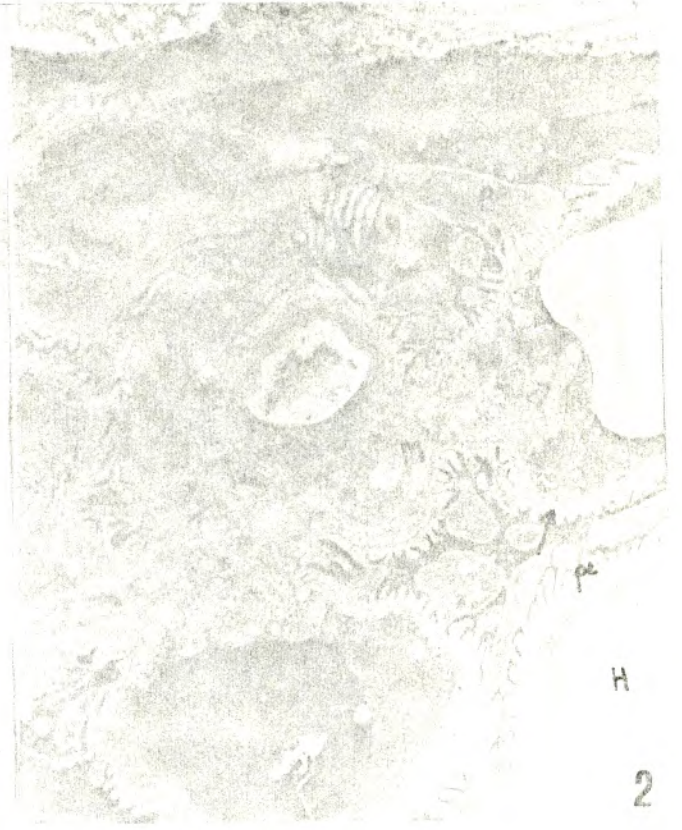
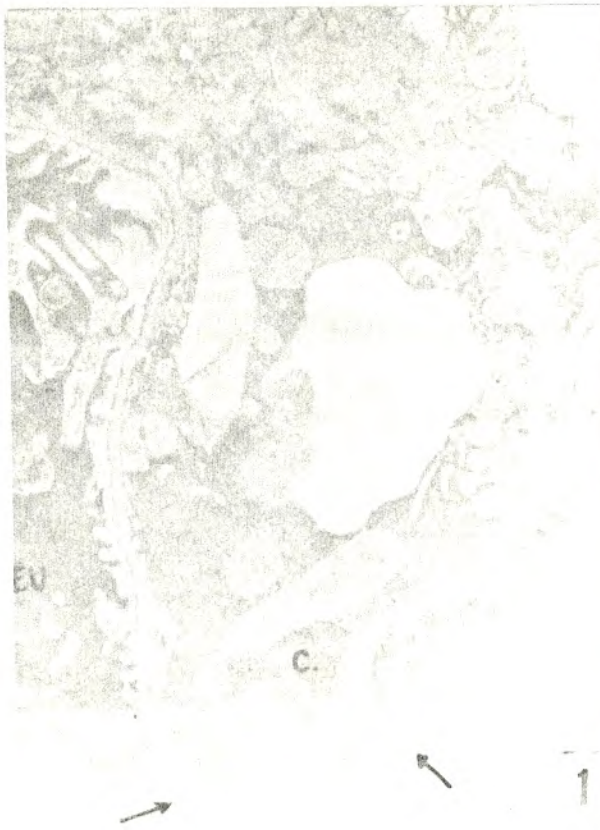
Coloration : acétate d'uranyle - citrate de plomb

Gr : x 7 000

M : mésangium
Ny : noyau de cellule mésangiale
C : capillaire
P : podocyte
Pe : pedicelle
E.U : espace urinaire
H : hématie
End : cellule endothéliale.







certaines cas glomérulosclérose, sont fortement diminuées en fréquence et en gravité ; seuls persistent des axes mésangiaux légèrement épaissis, des anses capillaires dilatées et congestives, on n'observe pas de multiplication épithéliale. Enfin, sur l'ensemble des animaux étudiés, 50% se retrouvent indemnes de toute lésion morphologiquement décelable.

Sur le plan ultrastructural, des images capillaires congestives et distendues sont visibles, de nombreux axes sont normaux sans hypercellularité ; l'ensemble de ces résultats ultrastructuraux complète en tout point l'étude morphologique précédente [Pl. XI, Fig. 2, 3, 4]

Sur le plan histochimique [TABLEAU VIII], il faut signaler la forte réduction de la PAS positivité au niveau des glomérules et des capillaires de Bowman . Cette réaction est en bonne corrélation avec les aspects morphologiques montrant une forte réduction de l'épaississement des lames basales aussi bien glomérulaires que tubulaires. Les autres réactions histochimiques : Dimédon-PAS, noir soudan, bleu de toluidine pH 4, Brachet, qui étaient peu marquées chez les diabétiques ne sont pas modifiées par le traitement biguanidique [Tableau VIII] .

Sur le plan histo-enzymologique, les activités enzymatiques sont peu modifiées après traitement par rapport aux diabétiques. Il faut signaler soit un maintien, soit une diminution de la sorbitol déshydrogénase ; il en est de même de l'indoxyl estérase, qui peut même diminuer fortement chez certains animaux. Enfin, la glycogène phosphorylase et plus encore la phosphatase alcaline présentent soit un maintien de l'activité, soit une réduction chez certains animaux.

Les variations constatées, souvent peu marquées et limitées, ne nous ont pas permis de rattacher ces modifications aux interactions morphologiques constatées.

En conclusion, le traitement préventif par la metformine entraîne une prévention importante des lésions rénales de type diabétique. C'est ainsi que 50% des animaux traités sont indemnes de toute lésion rénale, 33% présentent des épaississements des capsules de Bowman et des glomérules localisés en foyers, et 17% seulement présentent des lésions rénales comparables aux animaux diabétiques.

DISCUSSION GENERALE

RELATIONS ALTERATIONS RENALES - DIABETE

THERAPEUTIQUE ANTIDIABETIQUE NUTRITIONNELLE ET EVOLUTION DE LA
NEPHRO-ANGIOPATHIE DIABETIQUE.

THERAPEUTIQUE SULFAMIDEE ET EVOLUTION DE LA NEPHROPATHIE
DIABETIQUE.

THERAPEUTIQUE BIGUANIDIQUE ET EVOLUTION DE LA NEPHROPATHIE
DIABETIQUE.

CONCLUSION.

RELATIONS ALTERATIONS RENALES - DIABETE

Le rein, de par sa fonction et sa riche vascularisation, constitue un des organes cibles des perturbations engendrées par le diabète. La forte fréquence des complications touchant cet organe a poussé de nombreux auteurs à étudier l'impact du diabète sur le rein, et à envisager par la même, la prévention des lésions dégénératives qui en découlent. Aussi, la pathologie diabétique rénale a-t-elle fait l'objet d'un nombre important d'études qui ont intéressé aussi bien l'Homme que certains modèles animaux.

CHEZ L'HOMME

Il est estimé que plus de 50% de patients souffrant de diabète de plus d'une vingtaine d'années meurent de néphropathie [IRMSCHER 1977]. Selon BALADIMOS 1971, ANDERSEN et al. 1983, et BLUMBERG. 1986, la néphropathie diabétique humaine se manifeste dans 40% de diabète insulino-dépendant [type 1], alors que son incidence est de 5% dans le diabète non insulino-dépendant [type 2]. La néphropathie dégénérative englobe aussi bien la microangiopathie [glomérulosclérose diffuse nodulaire et exsudative] que la macroangiopathie [artériolo- et artériolosclérose rénales] et se trouve fréquemment aggravée par des infections de type pyélonéphrite [BERNING 1974].

Les angiopathies rénales dégénératives

L'incidence des néphroangiopathies dégénératives se trouve élevée du fait de l'allogement de la vie des diabétiques. Contrairement à la macroangiopathie, la microangiopathie est spécifique du diabète [PINSARD et al., 1983]. Définie par BLOODWORTH [1963] comme étant un épaissement de la lame basale des capillaires, la microangiopathie a des répercussions cliniques au niveau du rein conduisant à l'apparition de lésions gloméruloscléreuses diffuses, nodulaires et exsudatives, des lésions artérielles et tubulaires avec néphrose des cellules épithéliales [OSTERBY, 1973 ; KUSSMAN et al., 1976]. Chez 30 à 50% des patients, la glomérulosclérose diffuse évolue vers une forme nodulaire caractérisée d'après KIMMELSTIEL et WILSON [1936]

par des dépôts sphéroïdes hyalins , au centre du glomérule, entourés de cellules mésangiales et endothéliales à noyau pycnotique. La macroangiopathie diabétique correspond à l'artériosclérose des artérioles afférentes et éférentes [IRMSCHER, 1968]. Les travaux de MAUER et al. (1975) ont montré que cette affection, qui consiste en une hyalinisation artériolaire, touche 9 diabétiques sur 12. Le malade diabétique est plus exposé à l'infection bactérienne que le sujet sain ; de ce fait, la pyélonéphrite est retrouvée dans le diabète avec une fréquence relativement élevée [PETRIDES et al., 1981].

En 1974, BERNING rapporte que la pyélonéphrite peut évoluer et provoquer une nécrose papillaire qui serait à l'origine d'une insuffisance rénale.

Dans une étude récente, BLUMBERG (1986) déduit que la néphropathie diabétique est la conséquence de deux mécanismes de grande importance pathogénique : les altérations biochimiques de la lame basale glomérulaire et le changement hémodynamique qui se déroule au niveau des structures rénales.

Les altérations biochimiques de la lame basale

Les altérations biochimiques et ultrastructurales de la lame basale glomérulaire coïncident avec la néphropathie diabétique. Pour certains auteurs, les altérations biochimiques de la lame basale, se traduisant histologiquement par un épaissement, sont le résultat d'un déséquilibre diabétique et, seraient fonction du degré et de la durée de l'hyperglycémie, comme le préconisent KILLO et al. (1972). Une première hypothèse avait été émise auparavant par le groupe de SIPERSTEIN (1968), hypothèse qui trouve aujourd'hui de moins en moins de protagonistes, et qui attribuait à ce changement morphologique une étiologie héréditaire du fait de l'existence d'un épaissement de la lame basale chez les sujets normoglycémiques à prédisposition diabétique.

La lame basale, tamis moléculaire filtrant les échanges entre le plasma et le milieu extra-cellulaire, est constituée essentiellement de glycoprotéines et de collagène de type IV [ROBERT, 1979 ; PINSARD et al., 1983] dont la synthèse serait assurée selon DAUMERIE- GOFFINET et LAMBERT (1978) par les cellules endothéliales.

Une augmentation brutale du taux de collagène IV est observée dans le diabète insulino et non insulino-dépendant (ALLAND et al., 1984). FARQUHAR et al. (1982) ont trouvé que les glycoprotéines non collagènes sont : la laminine, l'entactine et la fibronectine. Une augmentation de la fibronectine tissulaire est notée chez les patients diabétiques par LABAT- ROBERT et al. (1984).

Dans le cas du diabète, les protéines constitutives de la lame basale subissent des modifications post-ribosomiales consistant en une hydroxylation des résidus lysine et proline (SPIRO, 1976 ; DICK et al., 1980), et une fixation de radicaux glucogalactosyl sur l'hydroxylysine du collagène membranaire, dont le résultat est une accumulation de glycoprotéines anormales (GRIMALDI, 1982).

Plusieurs auteurs s'accordent pour démontrer l'augmentation de la synthèse de collagène avec modification de sa structure. C'est ainsi que REGNAULT et KERN (1979) estiment qu'il existe une modification du collagène de la lame basale qui présente en plus du collagène de type IV et V, du collagène du type III. MAQUART (1979) estime que le tissu conjonctif diabétique subit des altérations assimilables à un vieillissement précoce, du fait de la réduction de l'élastine et des glycosaminoglycanes.

SCHLEICHER et WIELAND (1984) ont noté la présence de l'albumine et l'immunoglobine G au niveau de la lame basale glomérulaire de reins de patients diabétiques. Selon ces mêmes auteurs, l'élévation de la perméabilité de la lame basale glomérulaire est due à l'augmentation de la taille des pores et à la diminution des sites anioniques (protéoglycanes) ; ce qui explique le passage transglomérulaire de protéines négatives, telles que l'albumine (pH 4,7).

Mis à part l'épaississement de la lame basale glomérulaire, d'autres lésions sont observées ; en effet, BELL et HYE (1983) constatent une prolifération des cellules mésangiales avec à ce niveau des dépôts de complément, des anévrismes glomérulaires, des dépôts glycogéniques au niveau de l'épithélium tubulaire. MAUER et al. (1984), notent, en plus, une occlusion capillaire et une fibrose intersti-tielle.

Le changement hémodynamique

L'évolution du rein des diabétiques passe par différentes étapes, dont le début se caractérise selon Ditzel et Schwartz (1967), MOGENSEN et ANDERSEN (1975) et CHRISTIANSEN et al. (1981) par une hypertrophie des structures composant le rein, ainsi qu'une augmentation de la fonction rénale mesurable par le taux de filtration glomérulaire (GFR). Cette première phase, ou phase de latence est non détectable cliniquement.

Durant la phase suivante ou période symptomatique, il apparaît une protéinurie avec diminution de la fonction rénale. MOGENSEN et al. (1983) et WISEMAN et al. (1984) notent une augmentation de la pression sanguine chez les diabétiques avec microalbuminurie. PARVING et al. (1983) considèrent la pression sanguine comme le déterminant majeur de l'évolution de la néphropathie diabétique, et son contrôle, selon BLUMBERG (1986), permet de freiner la détérioration de la fonction rénale. Le stade ultime ou insuffisance rénale est le signe d'un dommage irréversible ; il se traduit par une glomérulosclérose avancée, un mélange hétéromorphe de glomérules ouverts et fermés (GUNDERSEN et OSTERBY, 1977).

A ce stade, un traitement approprié, à savoir hémodialyse, dialyse péritonéale continue ou transplantation rénale, devient indispensable pour permettre la survie du patient diabétique (BLUMBERG, 1986). Contrairement à ce qui est observé dans le diabète de type 1, le diabète de type 2 se caractérise par une protéinurie clinique précoce et une progression lente.

CHEZ LES DIFFERENTS MODELES ANIMAUX

La néphropathie observée chez les animaux ayant un diabète chimique ou spontané n'est pas identique morphologiquement à celle observée chez le rein humain diabétique ; ces modèles animaux permettant cependant une approche intéressante de la maladie rénale diabétique. Les altérations rénales causées par le diabète spontané ont été mentionnées par bon nombre d'auteurs. C'est ainsi que LIKE et al. (1972) ont observé un épaississement de la lame basale, des dépôts de complexes immunes et une filtration glomérulaire défectueuse au niveau du

rein de la souris db/db. En plus de la croissance diffuse de la lame basale glomérulaire, LANG et al. (1977) ont noté une fibrose de la capsule de BOWMAN chez la souris ob/ob.

Le diabète chimique, qui est le résultat d'une destruction sélective des cellules β des îlots pancréatiques par l'alloxane ou la streptozotocine, développe les critères histologiques de la néphropathie diabétique dans un temps relativement court (WEHNER et al., 1980).

Les lésions notées chez les modèles animaux présentent certaines analogies avec celles retrouvées chez le patient diabétique, à savoir :

- augmentation de la taille du rein chez le rat streptozotocino-diabétique (MAUER et al., 1975 ; RASCH, 1980).

- augmentation du taux de filtration glomérulaire (chez le rat alloxanodiabétique par BELL et HYE, 1983 ; chez la souris db/db par LIKE et al., 1972).

- Epaissement de la lame basale glomérulaire (OSTERBY HANSEN et LUNDBACK, 1970 ; KANWAR et al., 1983 ; BROWNLEE et SPIRO, 1979).

A ces premières altérations, s'ajoutent les dépôts d'immunoglobines et de complément au niveau du mésangium et des capillaires glomérulaires (MAUER et al., 1974 ; RASCH, 1980), les anévrysmes glomérulaires constatés par WEHNER et al., 1980, ainsi que les épaissements de membranes tubulaires avec dépôts glycogéniques comme le rapportent ARISON et al., 1967 et BELL et HYE, 1983.

Ces derniers auteurs font remarquer cependant que les dépôts hyalins au niveau des artérioles afférentes et éférentes, typiques chez le patient diabétique, sont absents chez les modèles diabétiques chimiques. De même, les vrais nodules de KIMMELSTIEL-WILSON, qui sont pathognomoniques de la néphropathie diabétique humaine, sont retrouvés uniquement chez le chien alloxanique et pas chez le rat, lequel présente une courte durée de vie.

La principale manifestation clinique de ces altérations rénales, est une augmentation de l'excrétion d'albumine, qui apparaît après 12 mois de diabète chez le rat comme le rapporte HÄGG en 1974.

La néphropathie diabétique a été étudiée chez d'autres modèles animaux, tels que la souris KK par NAKAMURA (1962), le rat fa/fa par

ZUCKER et ZUCKER (1961), le hamster chinois *Cricetulus griseus* par MEIER, YERGANIAN (1959), le Cobaye par MUNGER et LANG (1973), le singe Rhésus par JONES et al. (1984), le babouin par STOUT et al. (1986).

Les modèles animaux étudiés s'avèrent être de bons outils pour l'étude de la relation diabète- altérations rénales ; c'est la raison pour laquelle, nous nous sommes intéressés au rat des sables, dont le choix en tant que modèle diabétique, n'est plus à justifier.

Le rat des sables constitue un modèle expérimental de diabète induit par un régime hypercalorique, comme l'ont démontré SCHMIDT-NIELSEN et al., (1964), et HOWARD et al. (1965). Cette étude approfondie par MARQUIE et al. (1984), a confirmé que le *Psammomys obesus* est un modèle expérimental diabétique, et qu'il présente en plus d'une obésité, tous les syndromes évolutifs du diabète ; à savoir, le diabète latent, le diabète de la maturité et le diabète insulino-prive.

Des lésions dégénératives rénales ont été observées aux différents stades du diabète, dont la gravité est en relation avec l'état diabétique. C'est ainsi qu'au stade de l'obésité, un épaississement de la lame basale glomérulaire et une densification mésangiale avec accumulation de matériel PAS+ sont notés, résultats déjà mentionnés par BENAZZOUG en 1981.

Nos résultats ne sont pas accord avec les travaux antécédents de HACKEL et al. (1967) et CAFFIER et al. (1977) qui n'ont pas mentionné d'altérations de ce genre chez les rats des sables diabétiques. Les rats des sables en état de diabète-pléthorique présentent des épaississements de lames basales aussi bien glomérulaires que de cellules épithéliales. Des résultats similaires ont été trouvés sur le souris db par LIKE et al. (1972), OSTERBY et LUNDBACK (1970) et KANWAR et al. (1983) sur d'autres espèces.

De même, des anévrismes et des altérations tubulaires apparaissant à ce stade, ont fait l'objet de remarques par ARISON et al. (1967) et WEHNER et al. (1980).

Des lésions aussi bien glomérulaires que tubulaires traduisent l'état diabétique insulino-prive au niveau du rein de rat des sables. En plus de l'épaississement des lames basales glomérulaires, des lésions gloméruloscléreuses ainsi que des atrophies glomérulaires sont notées comme le rapporte BENAZZOUG [1981]. Une hypertrophie glomérulaire est remarquée dans certains cas ; ce développement mentionné par SEYER-HANSEN [1980] peut être interprété comme étant une compensation de l'atrophie qui touche certains glomérules. L'enrichissement des cellules tubulaires en ARN observé à ce stade et rapporté également par CORTES et al [1980] traduit une stimulation de la synthèse protéique, à l'origine de la formation de glycoprotéines qui se déposent au niveau des lames basales. Au niveau tubulaire, des dégénérescences cellulaires sont remarquées avec néphrose glycogénique caractérisée par une accumulation de glycogène au niveau des cellules tubulaires [ARISON et al., 1967 et CAFFIER et al., 1977], une néphrose lipoïdique se traduisant par un dépôt de lipides soudanophiles. Outre ces altérations cellulaires, des lésions vasculaires sont remarquées à savoir une hyalinose artériolaire qui est considérée comme typique au malade diabétique par BELL et HYE [1983], ainsi qu'une obstruction artériolaire confirmée par BENAZZOUG [1981]. Toutes ces dégénérescences concourent à induire des perturbations fonctionnelles au niveau du rein, se traduisant par une protéinurie, essentiellement sous forme d'albuminurie.

En définitive, nous notons que les lésions dégénératives les plus marquées se retrouvent au stade du diabète insulino-prive, ce qui est aisément admis quand on sait que le stade insulino-prive constitue l'étape ultime du diabète.

Aucune figure de nodule de KIMMELSTIEL-WILSON n'est observée chez les rats des sables diabétiques, ce qui est en accord avec les travaux de BELL et HYE [1983] qui l'ont retrouvé uniquement chez le chien alloxanique. La raison peut être attribuée à la courte durée de vie des rats des sables, qui ne peut, par conséquent, développer des altérations rénales sévères.

Conformément aux travaux de BOUGUERRA et al. (1985) des troubles lipidiques sont notés chez le *Psammomys obesus* diabétique, entre autres, une augmentation du taux des phospholipides.

Ces constituants seraient d'une part sollicités pour la biosynthèse de nouvelles membranes en cas d'hypertrophie rénale, d'autre part, intégrés au niveau des lames préexistantes, aboutissant à leur épaissement, d'où la microangiopathie rénale.

D'autres perturbations fonctionnelles traduisent les désordres métaboliques causés par le diabète. C'est ainsi que les concentrations plasmatiques de Na^+ , K^+ et Cl^- sont trouvées plus basses chez les rats des sables diabétiques que chez les témoins (tableau VI), ce qui est en parfait accord avec les résultats obtenus, chez le Rat, par HEBDEN et al. (1986).

RASCH (1984) note en plus la présence d'anomalies au niveau de la partie basale du tube distal, se manifestant par une perturbation du transport de $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ dans les cellules épithéliales ; ce trouble peut être à l'origine de la diminution des taux d'électrolytes Na^+ , K^+ et Cl^- dans le sang.

Les modifications histo-enzymologiques observées au cours du syndrome diabétique concernent quelques enzymes, et ce, à des degrés variables. C'est ainsi que l'activité de la glycogène phosphorylase se trouve stimulée au niveau du glomérule d'animaux obèses et diabétiques. Absente au niveau glomérulaire chez le *Psammomys obesus* normal, la glycogène phosphorylase apparaît chez le diabétique de façon marquée. Cette modification, non observée par CORTES et al. (1983) mais déjà notée par BENAZZOUG (1981), témoigne d'une grande activité catabolique du glycogène contribuant à l'augmentation du taux de glucose sanguin, et par la même à l'accumulation de résidus glucosés au niveau des lames basales.

Contrairement à ce qui est mentionné dans la littérature sur certains modèles, les enzymes du métabolisme glucidique étudiées ne semblent pas être affectées par l'état diabétique chez le rat des sables.

En effet, la β glucuronidase dont l'activité est diminuée selon FUSHIMI et TARUI [1976] chez le rat diabétique, se trouve inchangée chez le *Psammomys obesus* diabétique.

De plus, la glycogène synthétase qui fournirait un renseignement précieux dans l'état diabétique est absente chez le témoin ; de ce fait, aucune interprétation plausible n'est possible.

L'activité de la phosphatase acide se trouve stimulée dans le cas du diabète, ce qui est en accord avec les résultats de CANTIN et al. [1979].

La phosphatase alcaline qui présente par contre une activité diminuée chez le diabétique, selon DUBACH et RECANT [1960] et BENAZZOUG [1981] montre une activité rehaussée dans notre cas. Cette augmentation d'activité peut s'expliquer par une stimulation des transports à travers la bordure en brosse, notamment pour l'absorption du glucose qui se trouve à un taux élevé. La choline estérase du rein de *Psammomys obesus* diabétique présente une activité élevée par rapport au normal, cette activité peut témoigner d'une active lipolyse artérielle qui tend à s'opposer aux dépôts lipidiques artériolaires qui ont toutes les chances de se développer dans cet état métabolique, où le taux des lipides circulants est très élevé.

La glutamate déshydrogénase, enzyme de jonction entre le métabolisme glucidique (cycle de Krebs) et le métabolisme protéique (synthèse de glutamate) a une activité maintenue ou diminuée. Comme cette enzyme est la seule étudiée, dans ce cas, se rapportant à l'anabolisme protéique, nous ne pouvons que déduire une stimulation même faible, de la synthèse des protéines constitutives de la lame basale.

Etant donné les rares variations d'activités des enzymes étudiées au niveau du rein chez le rat des sables diabétiques, il apparaît difficile de préciser les principales voies métaboliques

perturbées au cours du diabète d'une part, d'autre part d'expliquer l'origine des dépôts glycoprotéïques, au niveau des différentes lames basales, caractéristiques du diabète.



THERAPEUTIQUE ANTIDIABETIQUE NUTRITIONNELLE ET EVOLUTION DE LA NEPHRO-ANGIOPATHIE DIABETIQUE

Nos travaux de recherche ont pour but l'étude de l'influence de la thérapeutique antidiabétique sur l'évolution du syndrome diabétique et les complications dégénératives rénales qui en découlent. De ce fait, il importe de déceler le diabète le plus tôt possible, de le soigner de manière continue et rigoureuse. Pour un meilleur contrôle de la maladie, il convient d'instituer la thérapeutique antidiabétique dès les premières manifestations cliniques, afin de prévenir, entre autres, les perturbations réno-vasculaires qui en découlent.

Thérapeutique antidiabétique chez l'Homme

La thérapeutique antidiabétique instituée chez l'Homme est parfaitement maîtrisée en fonction du type de diabète (fig. H) La condition sine qua non pour équilibrer le diabète, consiste d'une part à retrouver le poids corporel normal, d'autre part, à normaliser les constantes biologiques, telles que l'hyperglycémie, la glycosurie, la cétonurie et l'hyperinsulinémie.

La restriction calorique et la perte de poids s'avèrent être de règle pour le contrôle de la glycémie chez les diabétiques obèses ; recommandations diététiques établies depuis les études antérieures de NEWBURGH (1942). Ce régime devient suffisant si l'état euglycémique est maintenu. Si ce n'est pas le cas, on a recours aux biguanides antidiabétiques qui présentent, en plus de leurs propriétés antidiabétiques, un effet inhibiteur sur la lipogénèse déjà mentionné par LONGCOPE et WILLIAMS (1962) et par MARQUIE (1979), contribuant ainsi à la normalisation du poids corporel.

Le traitement biguanidique suffit si la maladie diabétique est bien contrôlée. Dans le cas contraire, l'utilisation des sulfamides hypoglycémisants devient indispensable, ces substances étant connues pour l'effet positif qu'elles exercent sur l'insulino-sécrétion (LOUBATIERES, 1957). Au stade ultime, c'est à dire si la glycémie

n'est toujours pas contrôlée, le traitement à l'insuline s'avère obligatoire (Fig.H).

Dans le cas d'un diabète ne présentant pas d'excès de poids, la thérapeutique instituée est quelque peu modifiée. La chute pondérale n'étant plus nécessaire, le régime administré doit être équilibré. Si le diabète échappe à ce contrôle, les sulfamides sont utilisés dans un premier temps. Dans le cas où ceux-ci ne donnent pas les résultats escomptés, un traitement combiné sulfamides-biguanides est institué ; de même, le maintien des perturbations glycémiques nécessite le recours à un traitement à l'insuline.

Le modèle diabétique expérimental utilisé dans notre cas, présente un diabète avec surcharge pondérale, et la thérapeutique antidiabétique a été choisie de manière à faire ressortir au mieux ses effets.

Dans le cadre de notre travail, nous nous sommes penchée sur les trois procédés de la thérapeutique antidiabétique, à savoir les régimes hypocaloriques, les thérapeutiques sulfamidées et biguanidiques.

Régimes hypocaloriques et évolution biochimique du diabète

L'administration d'un régime naturel hypocalorique entraîne une normalisation de la tolérance au glucose des animaux rendus diabétiques, d'une façon comparable à celle qu'on observe chez les témoins nourris au régime naturel. La totalité des animaux soumis à ce régime atteint l'état euglycémique avec rétablissement des troubles liés au fonctionnement rénal tel que l'albuminurie, la cétonurie et la glycosurie.

Les animaux traités présentent une chute pondérale significative durant les premiers mois, et qui se stabilise par la suite sous l'effet du régime (fig.3a). Des résultats analogues ont été trouvés par WALL et al. (1973) et STOCKHOLM et al. (1980) chez les patients diabétiques soumis à un régime hypocalorique et par KAY et al. (1981) et LEE (1982) sur la souris db/db et HERBERG et al. (1972)

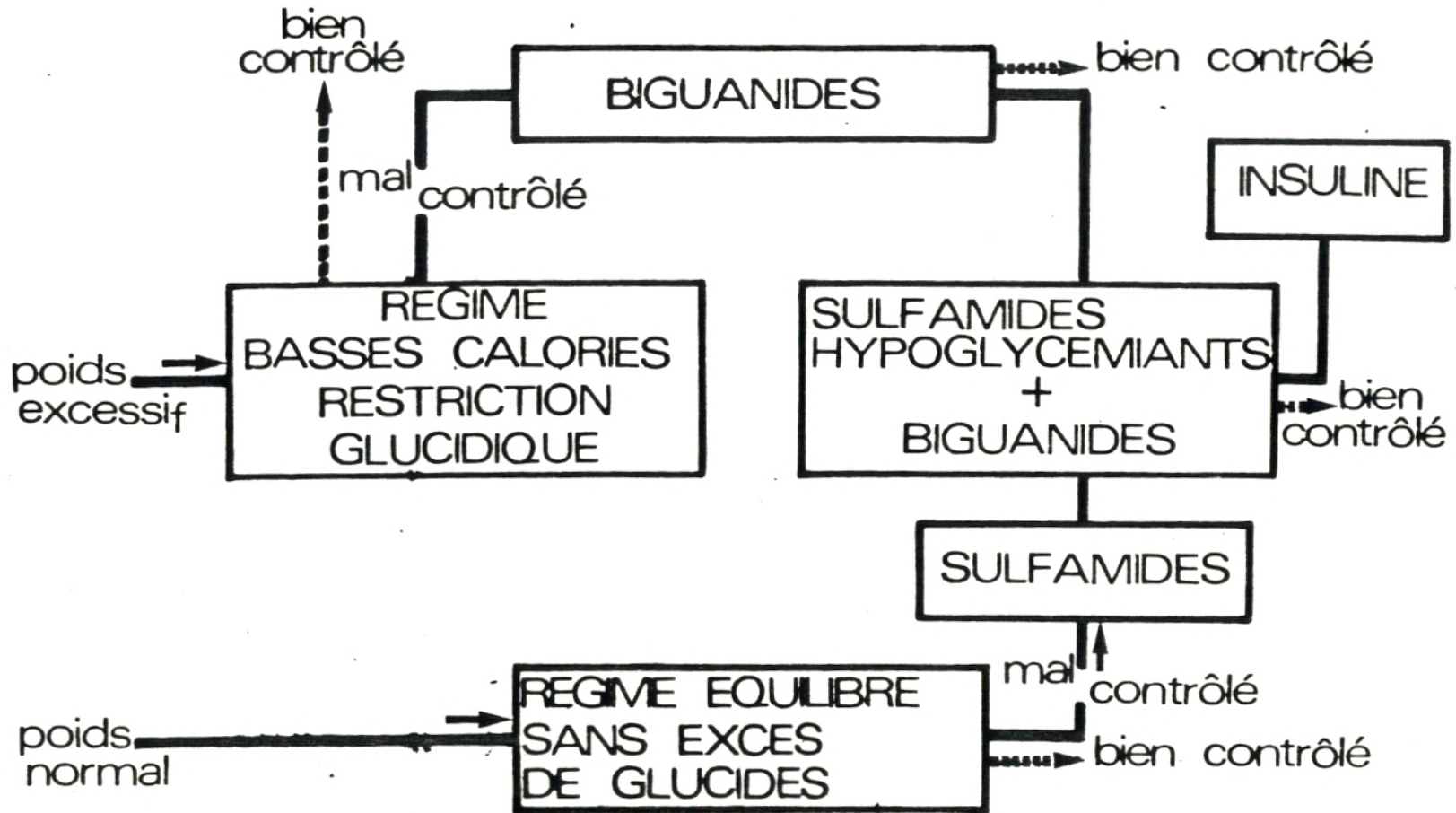


Fig H. LEFEVRE P.G. ET LUTCKY A.S
INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON BIGUANIDES - MOSCOU 1977

sur la souris obèse ob^+ et NZD.

Quant à l'insuline immuno-réactive, elle présente une diminution marquée de son taux plasmatique durant la période du régime hypocalorique, puis se maintient à un taux normal.

La restauration de l'état insulinémique normal sous l'effet d'un régime hypocalorique a été mentionnée par de nombreux auteurs ; chez l'Homme, elle a été notée par ANDERSON et KYLLEN (1979), WAHLQIRST (1980) et par JENKINS et JENKINS (1985), chez le rat des sables par KARAM et al. (1965), HACKEL et al. (1966) et SCHAFER et HAUPT (1980), ainsi que chez la souris obèse db/db étudiée par GREY et KIPNIS (1971).

Le traitement au régime hypocalorique rétablit les troubles lipidiques enregistrées au cours de la maladie diabétique (fig.3b)

La normalisation des fractions lipidiques sous l'effet d'un régime hypocalorique a été également obtenue chez l'Homme par RIVELLESE et al.(1983), chez le rat présentant un diabète moyen par TEPPER et KANARCK (1985), ainsi que chez le rat des sables par KOHLER et KNOSPE (1977).

Le régime standard hypocalorique provoque un ralentissement de l'augmentation du poids corporel chez les animaux diabétiques (fig.3a) une normalisation des paramètres biochimiques dans une mesure limitée par rapport au régime précédent. La glycémie n'atteint une valeur normale qu'après une période prolongée de régime. Bien que la fréquence des tests de tolérance au glucose anormaux soit légèrement plus élevée que celle des animaux soumis au régime naturel, elle reste néanmoins plus faible par rapport à la fréquence des rats des sables diabétiques.

L'insuline immuno-réactive ainsi que les lipides plasmatiques diminuent progressivement sans pour cela atteindre les valeurs enregistrées lors de l'administration de régime naturel (fig.3a). La valeur calorique étant sensiblement égale pour les deux régimes, la différence de leurs effets respectifs résulte de la nature des

composés qui les constituent.

En effet, l'efficacité du régime naturel hypocalorique peut s'expliquer par sa forte teneur en fibres (79%), et il a été démontré par de nombreux auteurs que la fibre diététique a des effets bénéfiques sur le contrôle métabolique (KIEHM, 1976 ; TROWELL, 1978 ; SIMPSON 1981 et LEE, 1982).

Régimes hypocaloriques et actions sur l'angio-néphropathie diabétique

L'impact des régimes hypocaloriques chez les animaux diabétiques est positif aussi bien sur le plan biochimique que morphologique. Cet effet est confirmé par l'étude ultrastructurale qui montre une nette amélioration de l'état glomérulaire et tubulaire. Conformément aux travaux de BOUDERBA (1985), la fréquence de développement des microangiopathies affectant le rein se trouve significativement réduite par les régimes hypocaloriques. Bien que partielle, la regression des lésions intéresse aussi bien les lames basales glomérulaires que tubulaires.

Des expériences menées sur des modèles animaux ont montré que l'alimentation à base de faibles quantités de carbohydrates peut être bénéfique pour la réduction des signes associés au diabète (TEPPER et KANARCK, 1985). De même, LEE et BRESSLER (1981) ont montré qu'une restriction diététique est suffisante pour prévenir le développement de lésions pathologiques au niveau du rein chez la souris db/db. Plusieurs autres modèles animaux ont été utilisés pour examiner l'interaction entre le régime et le diabète comme l'ont démontré MORDES et ROSSINI (1981).

En comparant les effets respectifs des deux régimes hypocaloriques sur le diabète, nous ne pouvons nier le rôle majeur joué par les constituants de ces régimes. Vu la forte teneur en fibres du régime naturel, le rôle important joué par cette substance apparait nettement lors de l'administration du régime hypocalorique naturel aux rats des sables diabétiques.

Plusieurs auteurs, dont BURKITT et TROWELL (1975), HUTTUNEN et al. (1982), JENKINS et JENKINS (1985) s'accordent pour montrer l'effet bénéfique de la fibre sur le diabète. JENKINS et JENKINS (1985) expliquent cet effet positif par la capacité que possède la fibre de réduire l'absorption des carbohydrates et donc celle du glucose par ralentissement des transits gastrique et intestinal tout en produisant une certaine satiété chez les animaux qui s'en nourrissent.

L'hypothèse émise par AHARONSON et al. (1969) et retenue par BOUDERBA (1985) concernant l'existence de substances à principe hypoglycémiant dans les plantes halophiles constituant le régime naturel est à considérer également et devrait faire l'objet de recherches ultérieures.

Effets des régimes hypocaloriques sur les activités enzymatiques rénales.

Sur le plan histo-enzymologique, le maintien ou la diminution de l'activité de la sorbitol déshydrogénase enregistrés peuvent être dûs à la faible quantité de substrat, à savoir le sorbitol. En effet, l'administration du régime riche en fibres réduit l'absorption du glucose (JENKINS et JENKINS, 1985), sa transformation en sorbitol, et par la même l'intervention de la sorbitol déshydrogénase. La faible diminution de la glutamate déshydrogénase notée chez les animaux traités par rapport aux diabétiques montre que les échanges entre cycle de KREBS et le glutamate sont réduits, il semblerait donc que la synthèse du glutamate à partir de précurseurs glucidiques soit amoindrie du fait de la non disponibilité de ces derniers.

La phosphatase alcaline, qui est impliquée dans le transport du glucose, présente une activité diminuée du fait de la réduction de la teneur de ce sucre dans le sang dûe à la présence de fibres végétales dans le régime naturel.

L'indoxyl estérase est légèrement augmentée sous l'effet du régime hypocalorique, indiquant une importante lyse des produits estérifiés, en l'occurrence, des esters d'acides gras. Ceci peut être en accord avec les travaux de RIVELLESE et al. (1983) qui ont montré

une réduction significative des taux de cholestérol total et de triglycérides par administration d'un régime hypocalorique.

Relation entre la progression de l'angiopathie diabétique et le degré de contrôle du diabète

Parmi les facteurs étiopathogéniques responsables de l'angiopathie diabétique, l'hyperglycémie joue le rôle primordial (PIRART, 1977). Les effets bénéfiques des régimes hypocaloriques sur les différents paramètres intervenant dans l'angiopathie diabétique chez le rat des sables ont été déjà abordés par BOUDERBA (1965) et font l'objet de notre part de précisions complémentaires.

Effets des régimes hypocaloriques sur le métabolisme glycoprotéique

L'état euglycémique atteint par administration de régimes hypocaloriques conduit à la régression de l'angiopathie chez les rats diabétiques. Au niveau du rein, cet effet se caractérise par une réduction de l'épaississement des lames basales glomérulaires et tubulaires consécutive à la diminution de dépôts glycoprotéiques, résultats confirmés en microscopie électronique. Des résultats similaires ont été trouvés par LEE et BRESSLER (1981), qui ont montré que la néphropathie chez la souris db/db pouvait être prévenue par restriction diététique.

Effets des régimes hypocaloriques et métabolisme du sorbitol

Les figures d'oedème et d'exsudation observées chez les animaux diabétiques, au niveau des glomérules disparaissent après administration de régimes hypocaloriques ; les effets étant plus marqués avec le régime naturel hypocalorique. Ces images d'altération, qui traduisent l'accumulation du sorbitol au niveau cellulaire, disparaissent en présence d'un régime hypocalorique riche en fibres, lequel réduit la glycémie et donc la concentration cellulaire du sorbitol. Ceci est confirmé par la diminution de l'activité de la sorbitol déshydrogénase, enregistrée au niveau du rein des animaux traités ; l'activité optimale étant atteinte en présence d'une certaine concentration de substrat, à savoir le sorbitol.

Effets des régimes hypocaloriques sur le métabolisme lipidique

La disparition de la lipoïdose au niveau glomérulaire et tubulaire observée chez les rats des sables soumis au régime hypocalorique naturel (plantes) que nous avons constatée est dûe à la richesse en fibres du régime naturel, dont l'effet bénéfique a été longuement discuté par RIVELLESE et al. [1983]. Ces auteurs ont montré que par réduction des taux de cholestérol et des triglycérides, le régime riche en fibres constitue un moyen préventif contre le diabète et l'athérosclérose.

Effets des régimes hypocaloriques sur la circulation sanguine

a- Déficit d'oxygénation tissulaire

L'hypoxie tissulaire qui affecte les malades diabétiques est la conséquence d'un taux élevé d'hémoglobine glycosylée Hb a_{1c}. Bien qu'aucune étude sur l'hémoglobine n'ait été réalisée chez le rat des sables, il serait légitime de penser qu'une régulation de la glycémie par le biais d'un régime hypocalorique riche en fibres réduirait la glycosylation de l'hémoglobine et entraînerait un rétablissement de l'oxygénation tissulaire.

b- Troubles de la microcirculation

Les troubles de la microcirculation, attribués aux concentrations élevées de lipides et de lipoprotéines plasmatiques, se trouvent éliminés par institution d'un régime naturel hypocalorique vu le rôle exercé par la fibre diététique sur la réduction des taux de cholestérol et triglycérides plasmatiques comme le rapportent RIVELLESE et al. [1983].

Effets des régimes hypocaloriques sur les facteurs hormonaux

L'insuline

L'évolution du taux d'insuline au cours du syndrome diabétique a fait l'objet des études détaillées de BOUDERBA, BOUGUERRA et KHEMICI [1985], pour notre part, nous arrivons à des conclusions semblables. Il est à noter toutefois, que l'administration du

régime naturel hypocalorique rétablit l'insulinémie à un niveau normal. Ces résultats sont en accord avec ceux mentionnés par EIZIRIK et MIGLIORINI (1984) qui trouvent chez les animaux soumis à un régime riche en carbohydrates, des stocks d'insuline pancréatique plus élevés que ceux des témoins ; RIVELLESE et al. (1983) et JENKINS et JENKINS (1985) notent les mêmes observations chez l'Homme.

L'hormone de croissance

Bien que le rôle de l'hormone de croissance dans le développement de la microangiopathie ait été démontré par maints auteurs, aucune étude portant sur l'effet du régime sur l'hormone de croissance chez les patients diabétiques n'a été mentionnée, à notre connaissance.

Régimes hypocaloriques et lame basale

Sans revenir sur les résultats contradictoires obtenus par différents auteurs concernant l'épaississement des lames basales lors de l'évolution du syndrome diabétique, nous pouvons confirmer les résultats de BOUDERBA (1985) à savoir que le rétablissement de l'état euglycémique par administration d'un régime hypocalorique précoce est favorable à la régression de la microangiopathie diabétique rénale.

En effet, le régime hypocalorique naturel, de par sa composition à prédominance fibreuse, diminue le taux glucose circulant, réduit la synthèse des glycoprotéines glycosylées, et par conséquent leur dépôt au niveau des lames basales préexistantes, que l'investigation en ultrastructure a largement confirmé.

L'intérêt du contrôle glycémique précoce dans la régression des lésions dégénératives conséquentes au diabète a été démontré par GRIMALDI (1982), PINSARD et al. (1983) chez les patients diabétiques et par MAUER et al. (1974) et RASCH (1979) au niveau de rein de modèles diabétiques expérimentaux. De même, LEE et BRESSLER (1981) ont montré qu'une restriction calorique suffit pour prévenir la néphropathie chez la souris db/db.

Le contrôle de la glycémie par le régime hypocalorique naturel, principalement, institué au début du diabète rétablit les troubles fonctionnels de la lame basale et entraîne une réversibilité de la protéinurie, comme le rapportent VIBERTI et KEEN (1984).

Pour notre part, nous avons pu montrer que les régimes hypocaloriques réduisent l'hyperglycémie entraînant la réduction de tous les processus liés aux glycoprotéines, ainsi qu'une diminution du métabolisme lipidique. Le catabolisme lipidique se trouve stimulé par le régime, visualisé par une chute des taux des fractions lipidiques et par une augmentation de l'activité d'estérase (indoxyl estérase), enzyme de la lipolyse pariétale qui empêche la lipoi-dose artérielle (HADJIISKY et al, 1974) et prévient donc l'athérosclérose.

En conclusion, il ressort de cette étude que l'administration de régimes hypocaloriques qui constituent un des volets de la thérapeutique antidiabétique a des effets positifs sur l'évolution du syndrome diabétique et des lésions dégénératives qui affectent le rein précisément. Cette thérapeutique antidiabétique employée également en clinique humaine, donne des résultats aussi satisfaisants (SIMPSON, 1981 ; HUTTUNEN et al., 1982 ; HOLLENBECK et al., 1985).

Thérapeutique sulfamidée et évolution de la néphropathie diabétique.

Rappels du rôle des sulfamides dans la thérapeutique générale clinique.

Depuis les années 50, les agents hypoglycémiant sont de plus en plus utilisés dans le traitement du diabète non insulino-dépendant. Les travaux de LOUBATIERES [1955, 1968] et GRODSKY [1970] ont mis en évidence le rôle stimulateur des sulfonylurées sur l'insulino-sécrétion. Alors que DEBRY et LAURENT [1966] ont montré que le traitement oral aux sulfamides pouvait diminuer considérablement les doses d'insuline chez certains diabétiques maigres, GERICH [1985] contre-indique les sulfamides pour les patients atteints de diabète insulino-dépendant.

Depuis 1969, une deuxième génération de sulfamides, actifs à faible dose, qui comprend entre autre le gliclazide, est venue s'ajouter à la première. Les sulfamides de la nouvelle génération se lient fortement aux protéines sériques [JUDIS, 1972] ; de ce fait, la validité biologique devient moins variable. De plus, KARAM et al. [1986] notent un maintien de l'effet insulino-trope des nouveaux sulfamides après un traitement prolongé.

Les sulfamides exercent leur effet hypoglycémiant en intervenant à différents niveaux du métabolisme glucidique. L'efficacité du traitement dépend de plusieurs facteurs, tels que l'âge du diabète, le poids du patient et le traitement préalable à l'insuline. D'après les constatations de CAMPBELL [1984], le pouvoir hypoglycémiant des sulfamides est plus important que celui de la metformine ; selon HELLMAN et al. [1973], cette efficacité est due à leur faible taux de dégradation par rapport à l'utilisation faite par les îlots de Langerhans.

Traitement sulfamidé et évolution biochimique du diabète.

Le traitement au gliclazide administré dès les premières manifestations du diabète chez les rats des sables, entraîne une diminution du poids corporel ; ce qui est en accord avec les observations de FORETTE [1977] et DONNET [1982]. Une normalisation des tests de tolérance au glucose est également notée, comme cela a été constaté par GREENFIELD et al. [1982] et par MARCHAND et al. [1983]

chez les patients diabétiques. L'administration du gliclazide entraîne chez la plupart des animaux traités un retour à l'état euglycémique, conformément aux résultats cliniques. Les troubles lipidiques enregistrés avant traitement, accusent un ralentissement dans l'évolution sous l'effet du gliclazide ; les triglycérides essentiellement, diminuent de plus de la moitié, il en est de même pour les phospholipides et le cholestérol total, mais de manière moins importante. Des résultats analogues ont été trouvés chez le Lapin et le Rat soumis à un régime hypercholestérolé et traités au gliclazide [MARQUIE, 1977 ; SMIT SIBINGA et WIERINGA, 1980] et chez les patients diabétiques traités [ASMAL et al., 1980 ; VILLIGER, 1982].

L'insuline, dont la sécrétion est stimulée par le gliclazide active la lipogénèse, et l'acétyl-CoA issu du glucose est dévié vers l'anabolisme des lipides ; il en résulte sur le plan urinaire la disparition de la glycosurie, la cétonurie et dans certains cas de l'albuminurie.

Traitement sulfamidé et action sur la néphropathie diabétique.

La normalisation de l'état glycémique sous l'effet du gliclazide diminue de moitié l'épaississement des lames basales glomérulaires observé chez l'animal diabétique. Une disparition des altérations de type oedémateux est constatée grâce à la réduction de l'accumulation cellulaire du sorbitol due au retour de l'état euglycémique. De même, les accumulations lipidiques notées au niveau des glomérules et des tubes rénaux disparaissent après traitement ; comme les lipides circulants ne sont plus en excès, leur dépôt au niveau du rein devient rare.

Sur le plan histo-enzymologique, la sorbitol déshydrogénase montre une faible diminution de son activité, ce qui démontre qu'elle est faiblement sollicitée étant donné que le glucose n'est plus en excès.

Sous l'effet du gliclazide, la glycogène phosphorylase présente une diminution d'activité. Cette enzyme étant à l'état normal inhibée par l'insuline, le gliclazide la freine indirectement par une augmentation de la sécrétion de cette hormone. Sous l'effet du traitement, le glucose en excès est pris par les cellules ;

comme il se trouve en quantité suffisante, sa synthèse à partir de l' α céto-glutarate est réduite, d'où une diminution de l'activité de la glutamate déshydrogénase.

Effets des sulfamides sur les différents processus incriminés.

Action du gliclazide sur le métabolisme glycoprotéique.

Le traitement précoce au gliclazide réduit les dépôts PAS+ au niveau du néphron. Ces améliorations résultent de la normalisation de la glycémie, grâce à la mise en jeu de différents processus. SALHANICK et al. (1983) et LOUBATIERES (1955) ont montré une stimulation de l'insulino-sécrétion sous l'effet des sulfamides. Stimulant la glycogénogénèse, l'insuline inhibe également la glycogénolyse caractérisée par la diminution de l'activité de la glycogène phosphorylase. Selon HELLMAN et al. (1969), les sulfamides affectent le métabolisme du glucose et la consommation d'oxygène ; et l'insulino-sécrétion résulterait de la faculté que possèdent ces drogues de découpler la phosphorylation oxydative et d'altérer le potentiel phosphate des cellules β du pancréas. MANDARINO et GERICH (1984) et GERICH (1985) observent une diminution de la résistance insulinique des patients de diabète non insulino-dépendant traités aux sulfamides ; pour KARAM et al. (1986) ces drogues potentialisent les effets périphériques de l'insuline. Au niveau rénal, la disparition de l'état oedémateux observé chez les animaux traités découle de la réduction de l'activité de la sorbitol déshydrogénase sous l'effet du gliclazide.

Effets du gliclazide sur le métabolisme lipidique.

Le traitement au gliclazide réduit les troubles lipidiques engendrés. Sous l'effet de l'insuline stimulée par le sulfamide, le glucose en excès est stocké en glycogène au niveau du foie ; comme la lipogénèse est stimulée et la lipolyse réduite (MEYER, 1983), les taux circulants des fractions lipidiques notamment les

triglycérides sont diminués, d'où la disparition des dépôts lipidiques au niveau du néphron. Ces résultats sont en accord avec ceux trouvés chez les patients diabétiques (VILLIGER, 1982). Le gliclazide administré précocément aux animaux diabétiques diminue le cholestérol total plasmatique constituant ainsi un moyen préventif contre l'athérosclérose ; cet effet anti-athéromateux a déjà été mentionné par SMIT SIBINGA et WIERINGA (1975) et MARQUIE (1975).

Effets du gliclazide sur la circulation sanguine.

Sous l'effet du traitement au gliclazide, la glycémie et donc le taux d'hémoglobine glycosylée (Hb_{1c}) se normalisent ; les lipides plasmatiques, notamment les acides gras libres, atteignent des valeurs proches de la normale ce qui se traduit par une diminution de la viscosité sanguine. De plus, ce sulfamide provoque une diminution de l'agrégation plaquettaire en inhibant la synthèse de prostaglandines proagrégantes et en stimulant la formation de prostacycline anti-agrégante, comme l'ont mentionné FUJITANI et al. (1983). Ces différents effets concourent à faciliter la circulation sanguine chez les rats diabétiques traités.

Effets du gliclazide sur l'insulinémie.

Comme il a été vu plus haut, le gliclazide entraîne non seulement la stimulation de la sécrétion d'insuline par les cellules β du pancréas (LOUBATIERES, 1955 ; SKILLMAN et FELDMAN, 1981), mais également la diminution de la résistance insulinique (MANDARINO et GERICH, 1984) aboutissant à la réduction de l'insulinémie.

Effets du gliclazide sur la lame basale.

La régulation de la glycémie rétablit l'hyperglycosylation des protéines constituant la lame basale, visualisée sur le plan histologique par une réduction marquante des dépôts PAS + au niveau du néphron. Cette normalisation de structure de la lame basale aboutit au rétablissement de la fonction de filtre de glomérule, se traduisant par la disparition de la perméabilité aux macromolécules telle que l'albumine.

THERAPEUTIQUE BIGUANIDIQUE ET EVOLUTION DE LA NEPHROPATHIE DIABETIQUE.

Rappels du rôle des biguanides dans la thérapeutique générale clinique.

Depuis les travaux de WATANABE (1918), les biguanides sont connus pour diminuer la glycémie chez les patients diabétiques tout en restant sans effet sur les non diabétiques. Chez les malades diabétiques à poids normal le traitement biguanidique est instauré lorsqu'il y a échec thérapeutique au sulfamide, cette dernière drogue ayant la propriété de stimuler la sécrétion d'insuline. Sans effet sur le diabète insulino-dépendant, les biguanides constituent le traitement primordial du diabète de la maturité (RAMBERT et al., 1961 ; LUYCKX et al., 1974).

Parmi les biguanides étudiés, la metformine présente le plus grand intérêt clinique, vu qu'elle présente le plus faible risque de toxicité (SCHÄFER., 1983). Cette particularité est dûe à son fort taux d'élimination, lequel est en rapport avec sa faible liaison aux protéines membranaires.

Grâce à ses propriétés amphiphiliques, la metformine se lie aux phospholipides membranaires ; de ce fait, les membranes plasmiques et mitochondriales deviennent ses premières cibles, comme le concluent SCHÄFER et al. (1974). La fixation des molécules de biguanide sur le système membranaire modifie le potentiel électrostatique, d'où perturbation des fonctions biologiques membranaires, telles que l'accroissement des récepteurs insuliniques et la modulation de l'activité de l'adenyl cyclase (SCHÄFER., 1983).

A l'instar des autres biguanides, la metformine présente un mode d'action multifactoriel. D'après les travaux de STERNE (1958), la metformine a un effet hypoglycémiant chez plusieurs espèces animales et chez l'Homme. Selon PEARSON et al. (1980), la metformine interfère avec les petites molécules au niveau de l'intestin ; de ce fait, l'absorption du glucose se trouve réduite ; cette observation a été mentionnée auparavant par BLOCH et al. (1973). Selon les études menées par SCHÄFER (1976) et CZYZYK (1977), ce biguanide semble inhiber la néoglucogenèse hépatique et rénale aussi bien chez les patients que chez les animaux diabétiques. D'autre part, l'assimilation tissulaire du glucose se trouve améliorée sous traitement biguanidique comme le mentionnent IRSIGLER (1969) et KAKEMI et al.

[1983]. Sous l'effet de cette drogue, JANGAARD et al. [1968] et STROHFELDT et al. [1977] remarquent une modulation du métabolisme glycogénique, alors que STERNE et al. [1979] notent une recharge en glycogène au niveau hépatique.

Ces différentes variations métaboliques induites par ce biguanide, aboutissent à la réduction de la glycémie.

D'autre part, de nombreux auteurs, dont LISCH et al. [1980] imputent cette diminution glycémique à la réduction de l'insulino-résistance dont le mécanisme intime reste méconnu.

En ce qui concerne l'effet produit par la metformine sur les lipides, FÖRSTER et RUDAS [1971] observent une perturbation de l'absorption intestinale des lipides chez les patients traités aux biguanides. D'après les observations de SCHWARTZ et al. [1966] et confirmées par nos travaux, la metformine diminue la cholestérolémie et la triglycéridémie. De même, l'incorporation du cholestérol au niveau des parois aortiques est diminuée sous l'effet de ce traitement, ce qui constitue un moyen de protection contre le développement de l'athérosclérose ; ce rôle préventif est largement mis en évidence par les travaux de MARQUIE [1978, 1980].

Bien que la metformine ne présente qu'un faible risque d'acidose lactique, grâce à sa faible affinité pour les protéines plasmatiques et à son taux d'élimination rénale élevé [SIRTORI et al., 1978], une hyperlactémie est observée dans certains cas. D'après SCHAFER [1983], l'origine de cette acidose lactique est la dégradation anaérobie du glucose avec inhibition de la respiration mitochondriale. Cette défaillance serait associée, selon HERMANN [1981] à une insuffisance rénale préexistante.

Traitement biguanidique et évolution biochimique du diabète.

Le traitement biguanidique institué de manière précoce chez les animaux diabétiques entraîne une diminution de leur poids corporel, constatation déjà faite par CLARKE et DUNCAN [1968]. Les tests de tolérance au glucose se normalisent dans la plupart des cas comme le constate SCHAFER [1983] chez l'Homme. Cette amélioration peut s'expliquer par une augmentation de la sensibilité du glucose à l'insuline, comme le préconisent LISCH et al. [1980].

Chez la plupart des animaux diabétiques, l'état euglycémique est rétabli après un traitement prolongé à la metformine, ce qui est en parfait accord avec les nombreux résultats obtenus chez les patients diabétiques. Cette normalisation glycémique est l'aboutissement de plusieurs modifications biochimiques : augmentation de l'utilisation périphérique du glucose [IRSIGLER., 1969], stimulation de la synthèse glycogénique [JANGAARD et al., 1968], inhibition de la néoglucogénèse.

Les tests urinaires, à savoir la glycosurie, la cétonurie et l'albuminurie dans certains cas, se révèlent négatifs, conséquence du rétablissement de l'état euglycémique. L'effet inhibiteur exercé par la metformine sur l'oxydation des acides gras libres [SCHAFER., 1983], serait à l'origine de la diminution du taux des corps cétoniques dans le sang, et de la disparition de la cétonurie.

Après traitement, la glycémie se normalise, il y a rétablissement de la structure des lames basales, c'est à dire le contenu en acides sialiques n'augmente plus, l'incorporation des résidus glucosés est réduite, les pores retrouvent l'état normal ; de ce fait la macromolécule protéique qu'est l'albumine ne traverse pas ou rarement le filtre glomérulaire. Seulement, certains animaux présentent une faible albuminurie, signe d'une altération du pouvoir filtrant de la lame basale glomérulaire qui se produit au stade avancé du diabète.

Traitement biguanidique et action sur la néphropathie diabétique.

En réduisant le fort taux circulant de glucose qui caractérise l'état diabétique, la metformine diminue l'incorporation glucidique au niveau des lames basales et par la même diminue la PAS positivité aussi bien glomérulaire que tubulaire. La glomérulosclérose qui est observée au stade avancé du diabète, se trouve diminuée en fréquence et en gravité sous l'effet de cette drogue. De même, les phénomènes d'exsudation sont éliminés ce qui s'expliquerait par la réduction de l'accumulation cellulaire du sorbitol, conséquence du rétablissement de l'état euglycémique.

Sur le plan histo-enzymologique, une légère diminution de la sorbitol déshydrogénase est notée sous l'effet du traitement biguanidique. Tout comme il a été interprété plus haut, le glucose

sanguin ne se trouvant plus en excès, sa transformation en sorbitol se fait plus rarement et donc l'intervention de la sorbitol déshydrogénase se trouve limitée. Du fait de la réduction du taux d'esters, notamment les esters d'acides gras et les corps cétoniques, comme il a été remarqué antérieurement sous l'effet de ce traitement, l'activité de l'indoxyl estérase, enzyme de dégradation des corps cétoniques se trouve diminuée.

De même, la glycogène phosphorylase montre une légère diminution d'activité, signe d'une inhibition modérée de la dégradation du glycogène en résidus "glucose". Ce processus qui intervient dans le rétablissement de l'état euglycémique, a été déjà observé par JANGAARD et al. [1968] sur des rats normaux.

PEARSON et al. [1980] ont observé une réduction de l'absorption intestinale du glucose et d'autres molécules sous traitement biguanidique. Comme dans notre cas, l'activité de la phosphatase alcaline se trouve réduite sous le même traitement, il serait aisé de penser que la metformine inhibe l'absorption intestinale du glucose en contrôlant l'activité de la phosphatase alcaline, enzyme de transport transmembranaire.

Effets des biguanides sur les différents processus incriminés.

Action de la metformine sur le métabolisme glycoprotéique.

L'instauration d'un traitement précoce à la metformine régularise les perturbations du métabolisme glucidique observées lors du syndrome diabétique, caractérisées essentiellement par des dépôts PAS+ au niveau du néphron. Ces résultats rejoignent ceux de STERNE. [1958], SIRTORI et al. [1976] et LISCH et al. [1980] chez l'Homme, et KAKEMI et al. [1983] chez le Rat diabétique. De même, les images d'œdème et d'exsudation, observées au niveau de reins de rats diabétiques traités, régressent ; cette amélioration est corrélée avec la diminution de l'activité de la sorbitol déshydrogénase observée chez ces mêmes animaux.

Effets de la metformine sur le métabolisme lipidique.

D'après les travaux de SCHWARTZ et al. (1966), confirmés par notre étude, les biguanides réduisent les taux sanguins de cholestérol et de triglycérides. D'autre part, le rein étant un organe où se concentre la metformine (SCHAFER., 1983) son impact à ce niveau serait à l'origine de la réduction de la lipodose glomérulaire et tubulaire observée après traitement ; d'autant plus que cette drogue inhibe la voie des pentoses phosphates, et donc la lipidogénèse.

Le rôle protecteur exercé par la metformine vis à vis de l'athérosclérose, constaté par AGID et MARQUIE (1972) et BOUISSOU et al. (1980) est dû, selon FERLITO et al. (1980) à son action positive sur l'enzyme de transformation des VLDL (very low density lipoprotein) et LDL (low density lipoprotein) en HDL (high density lipoprotein).

Effets de la metformine sur la circulation sanguine.

En rétablissant l'état euglycémique, la N-N diméthylbiguanide ne peut que favoriser l'oxygénation tissulaire, en réduisant, d'une part le taux d'hémoglobine glycosylée (Hb a_{1c}) responsable de l'hypoxie cellulaire (JUNIEN et al., 1981) et d'autre part en réduisant les lipides plasmatiques ce qui entraîne la diminution de la viscosité sanguine.

Effets de la metformine sur l'insulinémie.

L'institution d'un traitement précoce à la metformine réduit l'hyperinsulinémie observée au stade du diabète pléthorique. D'après STERNE et al. (1979), ce biguanide permet une utilisation économe de l'insuline ; SCHAFFER (1983) constate que la metformine n'augmente pas l'insulino-sécrétion bien qu'une petite quantité d'insuline soit pré-requis pour obtenir l'effet thérapeutique.

La lame basale.

En régulant la glycémie, la metformine diminue l'hyperglycosylation des protéines constitutives des lames basales glomérulaires et tubulaires. Le taux d'acide sialique et de protéoglycannes sulfatés est alors normalisé avec rétablissement des charges négatives

en surface ; de ce fait, il se produit une répulsion électrostatique entre ces lames basales et les protéines plasmatiques, comme le note GREENFELL (1986). La diminution de la perméabilité du filtre basal aux macromolécules protéiques est visualisée par la réduction, voire même la disparition de l'albuminurie des animaux traités à la metformine. Cette amélioration se caractérise sur le plan histologique par la réduction des dépôts de matériel protéique dans le mésangium glomérulaire.

CONCLUSION

la régulation de la glycémie, par administration de régimes hypocaloriques ou par instauration d'une thérapeutique anti-diabétique appropriée, entraîne une régression des lésions microangiopathiques observées sur différents organes étudiés, et notamment au niveau du rein.

Notre étude, qui porte sur la comparaison de l'efficacité de ces trois traitements sur les altérations rénales, montre que la plus nette amélioration est obtenue par restriction calorique, conformément aux observations faites en clinique humaine.

Les stades de développement du diabète ont pu être standardisés sur ce modèle ; ils présentent plusieurs points communs avec ceux notés chez le patient diabétique [MARQUIE et al. 1980 ; MARQUIE et al. 1984] et ce, contrairement aux travaux de CAFFIER et al. [1977].

Les pathologies conséquentes à ce syndrome, à savoir les lésions microangiopathiques et athéroscléreuses, qui évoluent en parallèle, ont pu être également étudiées sur ce modèle expérimental [BENAZZOUG, 1981 ; MAHTOUT, 1981].

Les lésions rénales, de nature microangiopathique ou oedémateuse, qui apparaissent chez les animaux diabétiques, sont réduites et parfois même éliminées sous l'effet du traitement institué, qu'il soit biguanidé, sulfamidé, ou à base de régime hypocalorique. Sur le plan histo-enzymologique, ces améliorations s'expliquent par la levée de l'inhibition exercée par ces traitements sur certaines enzymes, dont l'activité a été réprimée par l'hyperglycémie. Les nombreuses études témoignant de l'effet positif de la thérapeutique antidiabétique appliquée sur le patient diabétique s'accordent avec les résultats trouvés chez le Psammomys obesus.

En conclusion, nous pouvons réaffirmer l'intérêt que présente le Psammomys obesus en tant que modèle expérimental pour une étude plus approfondie du diabète humain et comme matériel de choix pour l'étude de l'efficacité de drogues pharmacologiques nouvelles.

R E S U M E

L'objet de ce présent mémoire est d'étudier les effets de la thérapeutique antidiabétique administrée préventivement (régimes hypocaloriques, sulfamide, biguanide) sur le Rat des sables rendu diabétique nutritionnellement.

1. La thérapeutique antidiabétique administrée à long terme entraîne, à des degrés divers, la disparition progressive de l'état diabétique chez la plupart des animaux diabétiques traités précocément, et la réduction des dysfonctionnements lipidiques

2. Les effets favorables de cette thérapeutique sur le développement des lésions rénales liées à la maladie diabétique sont bien mis en évidence.

* Le régime naturel hypocalorique entraîne une régression importante des lésions glomérulaires et tubulaires observées chez les animaux diabétiques, la disparition de la glomérulosclérose, seuls persistent certains épaisissements affectant la capsule de Bowman, le glomérule et les tubes.

Le régime standard restrictif conduit à des effets moins marqués que le régime précédent.

* Le traitement sulfamidé, administré dès les premières manifestations diabétiques entraîne une prévention importante de l'angio-pathie rénale, 59% des animaux sont indemnes de toute lésion.

* Le traitement biguanidique, par la metformine, conduit également à une prévention importante des lésions rénales liées à la maladie diabétique, seuls des épaisissements glomérulaires ou tubulaires persistent chez près de la moitié des animaux.

Le Rat des sables, Psammomys obesus, constitue à notre avis non seulement un modèle animal de choix pour une meilleure approche de la maladie diabétique avec ses complications dégénératives, mais également un modèle pharmacologique pour l'étude de nouvelles thérapeutiques pouvant être utilisées ultérieurement chez l'Homme.

B I B L I O G R A P H I E

- ABDALLAH A. and TAWFIK J. [1969]. The anatomy and histology of the kidney of sand rats. *Z. Versuchstierk*, 11, 261-275.
- AGID R. and MARQUIE G. [1972]. Influence d'agents antidiabétiques sur l'athérosclérose expérimentale nutritionnelle du lapin. Symposium de Biologie.
- AHARONSON A., SHANI J. and SULMAN P.G. [1969]. Hypoglycaemic effect of the salt bush (*Atriplex halimus*) a feeding source of the sand rat (*Psammomys obesus*). *Diabetologia*, 5, 379-383.
- ALLAND A., HARTMANN D.J., LOUPY G., LECHEVALIER D., VILLE G., COTISSON A., ULRICH J.Y. [1984]. Etude de la fibronectine et du collagène de type IV plasmatique chez le diabétique. Influence de la thérapeutique. *Path. Biol.*, 32, 2, 115-121.
- AMIRAT Z., KHAMMAR F. and BRUDIEUX R. [1975b]. Variations pondérales saisonnières de l'appareil reproducteur de la surrénale et du rein chez le Rat des sables (*Psammomys obesus*) du Sahara occidental algérien. *Bull. Soc. Hist. Nat. Afr. Nord, Alger*, 66, 31-60.
- ANDERSON A.R., CHRISTIANSEN J.S., ANDERSEN J.K., KREINER S. and DECKERT T. [1983]. Diabetic nephropathy in type I (insulin-dependent) diabetes. An epidemiological study. *Diabet.*, 25, 496-501.
- ANDERSON J.A. and KYLLEN W. [1979]. High carbohydrate, high fiber diets for insulin treated men with diabetes mellitus. *Amer. J. Clin. Nutr.*, 32, 2312-2321.
- ARDAILLOU R. [1975]. Kidney and calcitonin. *Nephron.*, 15, 250.
- ARISON R.N., CIACCIO E.I., GLITZER M.S., CASSARO J.A. and PRUSS M.P. [1967]. Light and electron microscopy of lesions in rats rendered diabetic with streptozotocin. *Diabetes.*, 16, 51-56.
- ASMAL A.C., LEARY W.P., THANDROYEN F., JAILAL I., PILLAY N. and BENTLEY-PHILIPS C. [1980]. An evaluation of the efficacy and safety of gliclazide compared to chlorpropamide in Keen et al. (Eds) Gliclazide and the treatment of diabetes. *Int. Cong. Symp. Ser. 20. Proceed. Int. Symp.*, 113-123. Acad. Press. Roy. Soc. Med., London.

- BAILLY C., ROINEL N. and AMIEL C. (1985). Stimulation by glucagon and PTH of Ca and Mg reabsorption in the superficial distal tubule of the kidney. *Pflügers Arch.*, 403, 28-34.
- BANKIR L., TRINH TRANG M.M. (1980). Anatomie du rein in la fonction rénale. Acquisitions et perspectives. Edit. Flammarion, 11-26.
- BALODIMOS M.C. (1971). Diabetic nephropathy, in MARBLE A., WHITE P., BRADLEY R.F. and KRALL L.P. (Eds) *Joslin's diabetes mellitus*, 11th eds, Philadelphia : Lea and Febiger.
- BARAJAS L. and MÜLLER J. (1973). The innervation of the juxtaglomerular apparatus and surrounding tubules : a quantitative analysis by serial section electron microscopy. *J. Ultrastruct. Res.*, 43, 107.
- BARKA T. and ANDERSON P.J. (1962). Cellular localization of acid phosphatase activity. *J. Histochem. Cytochem.*, 10, 231-233.
- BARRET J.M., KRIZ W., KAISLING B. and DE ROUFFIGNAC C. (1978). The ultrastructure of the nephrons of the desert rodent (*Psammomys obesus*) kidney. The thin limbs of Henle of short and of long nephrons. *Amer. J. Anat.*, 151, 487-514.
- BARRON K.D. and BOSHERS R. (1961). Histochemical demonstration of 5' Nucleotidase in the central nervous system. Effects of manganous ion and pH. *J. Histochem. Cytochem.*, 9, 455-457.
- BELL R.H. and HYE R.J. (1983). Animal modeles of diabetes mellitus : physiology and pathology. *J. Surg. Res.*, 35, 433-460.
- BENAZZOUG Y. (1981). Approche biologique d'un modèle expérimental pour l'étude du diabète : le Rat des sables (*Psammomys obesus*). Morphologie, histo-enzymologie et ultrastructure du rein, du myocarde et de la peau après régimes hypo et hypercalorique, mise en évidence de microangiopathies. Thèse 3ème cycle, Alger.
- BERNING G. (1974). In PETRIDES et al. (1981).
- BIELSCHOWSKY M. and BIELSCHOWSKY F. (1953). A new strain of mice with hereditary obesity. *Proc. Univ. Otago. Med. Sch.*, 31, 29-31.

- BLOCH R., MENGE H., SCHAARSCHMIDT W.A. (1973). Biochemische, histochemische, histologische und funktionelle Untersuchungen zur Phenforminwirkung auf die Dünndarmschleimhaut. *Klin. Wschr.*, 51, 235-241.
- BLOODWORTH J.M. (1963). Diabetic microangiopathie. *Diabetes.*, 12, 99.
- BLUMBERG A. (1986). Früherkennung und Behandlungsmöglichkeiten der diabetischen nephropathie. *Schweiz. Med. Wschr.*, 116, 275-281.
- BOUDERBA S. (1985). Effets de régimes hypocaloriques sur le syndrome diabétique chez le Rat des sables (*Psammomys obesus*) et les complications vasculaires. Thèse de Magister, Alger.
- BOUGUERRA S. (1985). Effets d'un biguanide (N-N-dimethyl biguanide) sur le syndrome diabétique chez le Rat des sables (*Psammomys obesus*) et les complications vasculaires. Thèse de Magister, Alger.
- BOUISSOU H., THIERS J.C., DOUSTE-BLAZY L., PIERAGGI M.Th and JULIAN M. (1980). Chronic lathyrisms and atheromatosis in the rat : protective effect of metformin. *Gerontology.*, 16, 188-199.
- BOURDEAU J.E., CARONE F.A. and GANOTE C.E. (1972). Serum albumin uptake in isolated perfused renal tubules. Quantitative and electron microscope radioautographic studies in three anatomical segments of the rabbit nephron. *J. Cell. Biol.*, 54, 382-398.
- BRAY G.A. (1977). The zucker-fatty rat : a review. *Federation Proc.*, 36, 148-153.
- BROWNLEE M. and SPIRO R.G. (1979). Glomerular basement membrane metabolism in the diabetic rat. In vivo studies. *Diabetes.*, 28, 121-125.
- BUERKERT J., MARTIN D. and TRIGG D. (1982). Ammonium handling by superficial and juxtamedullary nephrons in the rat : evidence for an ammonia shunt between the loop of Henle and the collecting duct. *J. Clin. Invest.*, 70, 1-12.
- BUERKERT J., MARTIN D. and TRIGG D. (1983). Segmental analysis of the renal tubule in buffer production and net acid formation. *Am. J. Physiol.*, 224, F442-F454.

- BURKITT D.P. and TROWELL H.C. (1975). Refined carbohydrate Foods and disease. Some indications of dietary fibre. New York, London. Academic Press., 333-345.
- CAFFIER P., FUCHS U., WOHLRAB F., WOHLGEMUTH B., SHADE J., SORBER K., FIEDLER H., KÖHLER E. and SCHAFER H. (1977). The problem of diabetic angiopathy in sand rats (*Psammomys obesus*). *Endokrin.*, 70, 269-288.
- CAMERON P. and al. (1975). In PTRIDES and al. (1981).
- CAMPBELL I.W. (1984). Macrovascular disease in diabetes mellitus. Pathogenesis and prevention. Metformin and the sulfonylureas. The comparative risk. *Horm. and Metab. Res.*, 15, 105-111.
- CANTIN M., ARTIZZU M., MAMMELI L. and GIANETTO L. (1979). Hydrolytic enzymes of the ischemic kidney. *Proceedings. Soc. Exp. Biol. Med.*, 162, 121-127.
- CHABARDES D., IMBERT-TEBOUL M., MONTEGUT H., CLIQUE A., HUSCITHAREL A. and MOREL F. (1980). Régulation hormonale des fonctions du tubule rénal. Action des hormones polypeptidiques et des catécholamines. In la fonction rénale. Acquisitions et perspectives. Bonvalet Ed. INSERM. Flammarion Médecine., 157-169.
- CHIQUOINE A.D. (1953). The distribution of glucose 6 phosphatase in the liver and in the kidney of the mouse. *J. Histochem. Cytochem.*, 1, 429-435.
- CHIRVAN-NIA P. and RATSIMAMANGA A.R. (1973). Conditions permettant une plus longue survie et la reproduction de *Psammomys* [Rat des sables] maintenu en laboratoire. *C. R. Acad. Sc. Paris.*, 277, 2727-2730.
- CHRISTIANSEN J.S., GAMMELGAARD J., FRANSEN H. and PARVING H.H. (1981). Increased kidney size, glomerular filtration rate and renal plasma flow in short-term insulin-dependent diabetes. *Diabetologia.*, 20, 451-456.
- CLARKE B.J. and DUNCAN L.J.P. (1968). Comparison of chlorpropamide and metformin treatment on weight and blood glucose response of uncontrolled obese diabetes. *Lancet.*, 1, 123-125.
- COLEMAN D.L. and HUMMEL K.P. (1967). Studies with the mutations diabetes in the mouse. *Diabet.*, 3, 238-248.

- CORTES P., LEVIN N.W., DUMLER F. and RUBENSTEIN A.H. (1980). Uridine triphosphate and RNA synthesis during diabetes induced renal growth. *Am. J. Physiol.*, 238, E.349-E.357.
- CORTES P., DUMLER F., VENKATACHALAM K.K. and LEVIN N.W. (1983). Effect of diabetes mellitus on renal metabolism. *Min. Elect. Met.*, 9, 306-316.
- COSTANZO L.S. and WINDHAGER E.E. (1978). Calcium and sodium transport by the distal convoluted tubule of the rat. *Am. J. Physiol.*, 235, F492-F506.
- CHOUMOVITCH A. (1966). In PETTER F. (1961).
- COURTOIS J.E. and AGNERAY J. (1961). Determination of phosphates by Misson's nitrovanadomolybdic reagent. Spectrophotometric study. Applications to automatic analysis. *Ann. Biol. Clin.*, 19, 101.
- CZYZYK A. (1977). The use of biguanide derivatives in the treatment of diabetes. *Int. Cong. Sc. Excerpta. Med. Diabetes.*, 413, 442-450.
- DALY M. and DALY S. (1973). On the ecology of *Psammomys obesus* (Rodentia- gerbillidae) in the wadi Saoura, Algeria. *Mammalia.*, 37, 545-561.
- DAUMERIE-GAUFFINET C. and LAMBERT A.E. (1978). La microangiopathie diabétique. *Acta. Clin. Belg.*, 33, 4, 240-254.
- DEBRY M.M.G. and LAURENT J. (1966). Résultats du traitement du diabète sucré de l'adulte par l'association metformine-sulfamides (à propos de 197 cas). *J. Med. de Lyon.*, 407-413.
- DICK I. and al. (1980). In CORTES and al. (1980).
- DICULESCO I. and WEGMANN R. (1965). Problèmes histo-enzymologiques de la différenciation des tissus musculaires. *Ann. Histochem.*, 9, 235-250.
- DITZEL J. and SCHWARTZ M. (1967). Abnormally increased glomerular filtration rate in short-term insulin treated diabetic subjects. *Diabetes.*, 16, 264-267.

- DONNET J.P. (1982). Evaluation métabolique et pondérale de l'efficacité à long terme du diamicron dans le diabète insulino-dépendant. *Vie Med.*, 10, 725-727.
- DUBACH U.C. and RECANT L. (1960). Enzymatic activity of the isolated glomerulus in normal and nephrotic rats. *J. Clin. Invest.*, 39, 1364-1371.
- DUHAULT J., LEBON F., BOULANGER M. and DUBOISTESSELIN R. (1972). KK mice as a model of microangiopathy lesions in diabetes. VII Conference Europ. Soc. Microc. Aberdeen, S. Karger Eds., 213.
- DUNCOMBE W.G. (1964). The colorimetric micro-determination of non esterified fatty acids in plasma. *Clin. Chim. Acta.*, 9, 122-125.
- EIZIRICK P and MIGLIORINI M. (1984). In TEPPER B.J. and KANARCK R.B. (1985).
- FARMAN N. (1980). Régulation hormonale des fonctions rénales : aldostérone et rein. In : la fonction rénale. Acquisitions et perspectives. Donvalet Eds. INSERM, Flammarion, Paris., 207-223.
- FARQUHAR M.G., COURTOY P.J., LEMKIN M.C. and KANWAR Y.S. (1982). Current knowledge of the functional architecture of the glomerular basement membrane, In Kuehn and al. Eds. New trends in basement membrane research. Raven Press, N.Y., 9-29.
- FERLITO S., LASPINA E., DEL CAMPO F., ROMANO F. and MODICA L. (1980). Effeto delle metformina sulla lipoprotéinlipasi plasmatica. *Arch. Sci. Med.*, 137, 739-743.
- FLETCHER M.J. (1968). A colorimetric method for estimating serum triglycerides. *Clin. Chem. Acta.*, 22, 393-397.
- FORETTE B. (1977). Gliclazide (diamicron) in metabolic and vascular treatment of diabetes mellitus. *East Afr. Med. J.*, 54, 579-581.
- FÖRSTER O. and RUDAS B. (1971). The uptake of orally administered trioleate ¹⁴C in normal and diabetic rats with and without butylbiguanide application. *Pharmacol.*, 62, 81-88.

- FRENKEL G., SHAHAM Y. and KRAICER P.F. [1972]. Establishment of conditions for colony breeding of the sand rat (*Psammomys obesus*). *Lab. Anim. Sci.*, 22, 40-47.
- FUJITANI B., MAEDA J., TSUBDI T., KADOKAWA T. and SHIMIZU M. [1983]. Effect of cliclazide on prostaglandin I₂ formation in normal and streptozotocin induced diabetic animals. *Jap. J. Pharmacol.*, 33, 965-970.
- FUSHIMI H. and TARUI S. [1976]. β glucosidases and diabetic micro-angiopathy.
1. Decreases of β glycosidase activities in diabetic rat kidney. *J. Biochem.*, 79, 265-270.
- GABE M. [1968]. *Techniques histologiques*. Ed. Masson and Cie, 113p.
- GEREBTZOFF M.A. [1968]. Contribution histochimique à l'étude de la lactico-déshydrogénase et de ses isoenzymes. *Path. Biol.*, 16, 501-505.
- GERICH J.E. [1985]. Sulfonylureas in the treatment of diabetes mellitus. *Mayo. Clin. Proc.*, 60, 439-443.
- GINDLER E. [1968]. Titrimetric determination of chloride. *Clin. Chem.*, 14, 1172.
- GLENNER G.G., BURTNER H.G. and BROWN G.W. [1957]. The histochemical demonstration of monoamine oxidase activity by tetrazolium salts. *J. Histochem. Cytochem.*, 5, 591-600.
- GOMORI G. [1941]. The distribution of phosphatase in normal organs and tissues. *J. Cell. Comp. Physiol.*, 17, 71-83.
- GOOD D.W. and BURG M.B. [1984]. Ammonia production by individual segments of the rat nephron. *J. Clin. Invest.*, 73, 602-610.
- GOODMAN A.D. [1973]. Effect of acid-base changes and deshydration on renal medullary production of ammonia. *J. Lab. Clin. Med.*, 81, 905-918.
- GREENFIELD M.S., DOBERNE L., ROSENTHAL M. and SCHULZ B. [1982]. Effect of sulfonylurea treatment on in vivo insulin secretion and action in patients with non insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetes.*, 31, 307-312.

- GRENFELL A. [1986]. Diabetic nephropathy : historical aspects. Clin. End. Met., 15, 4, 727-731.
- GREY N. and KIPNIS D.M. [1971]. Effect of diet composition on hyperinsulinemia of obesity. New. Eng. J. Med., 285, 827-831.
- GRIMALDI A. [1982]. Physiologie de la microangiopathie diabétique. Ann. Med. Int., 133, 2, 114-127.
- GRODSKY R.M. [1970]. Insulin and the pancreas. Vitam. Horm., 28, 37-101.
- GRÜNFELD J.P. [1977]. In la fonction rénale. Acquisitions et perspectives [1980]. Eds Donvalet. INSERM. Flammarion, Paris.
- GRÜNFELD J.P., BANKIR L., TRINH TRANG TAN M.M. and DIAZ M. [1980]. Débit sanguin rénal : méthodes de mesure de régulation. In la fonction rénale, INSERM. Flammarion, Paris, 43-58.
- GUNDERSEN H.J.G., MOGENSEN C.E. and SEYER-HANSEN K. [1978]. Anomalies précoces et tardives du rein diabétique. In : Actualités néphrologiques de l'Hôpital Necker, Paris, Eds Flammarion, Paris.
- GUNDERSEN H.J.G., MOGENSEN C.E., SEYER-HANSEN K. and al. [1978]. Anomalies précoces et tardives du rein diabétique. In Actualités néphrologiques de l'Hôpital Necker, Paris, Eds Flammarion, Paris.
- HACKEL D.B., FROHMAN L., MIKAT E., LEOVITZ H.E., SCHMIDT-NIELSEN K. and KINNEY T.D. [1966]. Effect of diet on the glucose tolerance and plasma insulin levels of the sand rat (Psammomys obesus). Diabetes., 15, 105-114.
- HACKEL D.B., MIKAT E., LEOVITZ H.E., SCHMIDT-NIELSEN K., HORTON E.S. and KINNEY T.D. [1967]. The sand rat (Psammomys obesus) as an experimental animal in studies of diabetes mellitus. Diabetologia., 3, 130-134.
- HAOJIISKY P., ROLAND I., ORCEL L. [1974]. Réactivité histo-enzymologique des cellules de l'épaisseur diffuse de l'intima de l'artère fémorale enveloppée d'un tube en polyéthylène. Paroi artérielle., 2, 65.

- HÄGG E. (1974). Renal lesions in rats with long-term alloxan diabetes. Acta. Pathol. Microbio. Scand.(A)., 82, 199-210.
- HANES C.S., HIRD F.J.R. and ISHERWOOD F.A. (1950). Synthesis of peptides in enzymatic reactions involving glutathione. Nature., 166, 288-292.
- HEBDEN R.A., GARDINER S.M., BENNETT T. and MAC DONALD I.A. (1986). The influence of streptozotocin-induced diabetes mellitus on fluid and electrolyte handling in rats. Clin. Sci., 70, 111-117.
- HEINLE H., WENDEL A. and SCHMIDT U. (1977). The activities of the key enzymes of the γ glutamyl cycle in microdissected segments of the rat nephron. Fabs. Letters., 73, 2, 220-224.
- HELLMAN B., SEHLIN J. and TÄLJEDAL I.B. (1973). The pancreatic β cell recognition of insulin secretagogues. Islet uptake of sulfonylureas. Diabet., 9, 210-216.
- HELLMAN B., IDAHL L.A., TJÄLVE H., DANIELSSON A. and LERNMARK A. (1969). Beobachtungen zum Wirkungsmechanismus des hypoglykämisch wirksamen sulfonylharstoff. Preparatis HB 419. Arzneimittel-Forsch., 19, 1472-1476.
- HEPTINSTALL R.H. (1974). Pathology of the kidney. Little Brown, Boston.
- HERBERG L., BERGMANN M., HENNINGS U., MAJOR E. and GRIES F.A. (1972). Influence of diet on the metabolic syndrome of obesity. Isr. J. Med. Sci., 8, 6.
- HERMANN L.S. (1981). Metabolic effects of metformin in relation to clinical effects and side-effects. Int. Congr. Symp. Series., 48, 17-45, Royal Soc. Med. London.
- HOLLENBECK C.B., RIDDLE M.C., CONNOR W.E. and LÉKLEM J.E. (1985). The effects of subject-selected high carbohydrate low fat diets on glycemic control in insulin dependent diabetes mellitus. Amer. J. Clin. Nutr., 41, 293-298.
- HOLT S.J. and WITHERS R.F.J. (1952). Cytochemical localization of esterases using indoxyl derivatives. Nature., 170, 1012.

- HOWARD H., HACKEL D. and SCHMIDT-NIELSEN K. (1965). Experimental diabetes mellitus induced by diet in the sand rat. *Am. J. Physiol.*, 208, 2, 197-300.
- HUTTUNEN J.K., ARO A., PELKONEN R., PUOMIO M., SILTANEN I. and AKERBLUM H.K. (1982). Dietary therapy in diabetes mellitus. *Acta. Med. Scand.*, 211, 469-475.
- IRMSCHER K. (1968). In PETRIDES P and al. (1981).
- IRMSCHER K. (1977). In PETRIDES P and al. (1981).
- IRSIGLER K. (1969). Utilisation du glucose et des lipides plasmatiques chez des obèses, sous l'influence de diméthylbiguanide. *Wiener Med. Wschr.*, 119, 191-194.
- JANGAARD N.D., PEREIRA J.N. and PINSON R. (1968). Metabolic effects of the biguanides and possible mechanism of action. *Diabetes.*, 17, 96-104.
- JENKINS D.J.A. and JENKINS A.L. (1985). Dietary fiber and the glycemic response. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 180, 422-431.
- JONES C.W., WEST N.S., HONG D.T. and JONASSON D. (1984). Peripheral glomerular basement membrane thickness in the normal and the diabetic monkey. *Lab. Invest.*, 51, 193-198.
- JUDIS J. (1972). Binding of sulfonylureas to serum proteins. *J. Pharm. Sci.*, 61, 89-93.
- JUNIEN J.L., GHOMETTE G., GUILLAUME M., WAJCMAN H. and STERNE J. (1981). Effets de la metformine en traitement à long terme sur l'évolution du diabète des souris génétiquement diabétiques DBM. *Diabète et métabolisme, Paris.*, 7, 251-258.
- KAKEMI M., SASAKI H., SAEKI K., ENDOH M., KATAYAMA K. and KOIZUMI T. (1983). Pharmacologic effects of metformin in relation to its disposition in alloxan diabetic rats. *J. Pharm. Dyn.*, 6, 71-87.
- KANWAR Y.S., ROSENZWEIG L.J., ZINKER A. and JAKUBOWSKI M.L. (1983). Decrease de novo synthesis of glomerular proteoglycans in diabetes: biochemical and autoradiographic evidence. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 80, 2272-2275.

- KARAM J.H., GRODSKY G.M. and FORSHAM P.H. [1965]. The relationship of obesity and growth hormone to serum insulin levels. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 131-374.
- KARAM J.H., SANZ N., SOLAMON E. and NOLTE M.S. [1986]. Selective unresponsiveness of pancreatic β cells to acute sulfonylurea stimulation during sulfonylurea therapy in N. I.D.M. Diab., 35, 12, 1314-1320.
- KARNOVSKY M. and ROOTS L. [1964]. A direct colonizing thiocholine method for cholinesterase. *J. Histochem. Cytochem.*, 12, 219-221.
- KAY R.M., GROBIN W. and TRACK N.S. [1981]. Diets rich in natural fibre improve carbohydrate tolerance in maturity onset non insulino-dependent diabetics. *Diabet.*, 20, 10-21.
- KHEMICI D. [1985]. Effets d'un d'un sulfamide hypoglycémiant (gli-clazide) sur l'évolution du syndrome diabétique chez le Rat des sables (Psammomys obesus) et les complications vasculaires. Thèse de Magister, Alger.
- KIEHM G., ANDERSON J.W. and WARD K. [1976]. Beneficial effects of a high carbohydrate, high fiber diet on hyperglycemic diabetic men. *Am. J. Clin. Nutr.*, 29, 895-899.
- KILO C., COGLER N. and WILLIAMSON J.R. [1972]. Muscle capillary basement membrane changes related to aging and to diabetes mellitus. *Diabetes.*, 21, 881.
- KIMMELSTIEL P. and WILSON C. [1936]. Intercapillary lesions in the glomeruli of the kidney. *Am. J. Pathol.*, 2, 83-97.
- KIMMELSTIEL P. [1966]. Diabetic nephropathy. In SMITH D. and MASTOFI F.K. Ed. *Pathological Physiology and Anatomy of the kidney*. Baltimore. The Williams and Wilkins Co., 226-252.
- KIMMELSTIEL P. [1968]. Diabetic nephropathy. In BECKER E.L. Ed. *Structural basis of renal disease*. New York. Harper and Row.
- KOCEIR E.H.A. [1985]. Diabète sucré chez le Rat des sables (Psammomys obesus). Etude "in vitro" du métabolisme des lipides du foie. Données histo-chimiques et histo-enzymologiques. Influence de la thérapeutique anti-diabétique. Thèse de Magister, Alger.

- KOHLER E. and KNOSPE S. [1977]. In SCHÄFER H. and HAUPT I. [1980].
- KUSSMAN M.J., GOLDSTEIN H. and GLEASON R.E. [1976]. The clinical course of diabetic nephropathy. JAMA., 236, 1861-1863.
- LABAT-ROBERT J., LEUTENEGGER M., LLOPIS G., RICARD Y. and DEROUETTE J.C. [1984]. Plasma and tissue fibronectin in diabetes. Clin. Physiol. Biochem., 2, 39-48.
- LANG B. and al. [1977]. In BELL R.H. and HYE R.J. [1983].
- LATTA H. [1973]. Ultrastructure of the glomerulus apparatus. In Handbook of physiology. Section 8, Renal physiology, J. Arloff and R.W. Berliner (Eds), Am. Physiol. Soc. Washington., 31-80.
- LEE S. and BRESSLER R. [1981]. Prevention of diabetic nephropathy by diet control in the db/db mouse. Diabetes., 30, 106-11.
- LEE S. [1982]. The effect of high a high fibre diet on diabetic nephropathy in the db/db mouse. Diabetes., 22, 349-353.
- LEFEVRE P.J. and LUCKY A.S. [1977]. Our experience of metformin treatment of diabetes. International Symposium on biguanides. Moscou.
- LE HIR M. and DUBACH U.C. [1982]. Activities of enzymes of the tricarboxylic acid cycle in segments of the rat nephron. Pflügers Arch., 395, 239-243.
- LIKE M. and al. [1972]. In BELL R.H. and HYE R.J. [1983].
- LISCH H.J., SAILER S. and BRAUNSTEINER H. [1980]. Die wirkung von biguaniden auf die insulinempfindlichkeit von altersdiabetikern. Wien. Klin. Wochensche., 92, 206-209.
- LONGCOPE C. and WILLIAMS R.H. [1962]. Phenethyl biguanide and triglyceride agent. Clin. Res., 10, 86-88.
- LOUBATIERES A. [1955]. Utilisation des substances sulfamidées dans le traitement du diabète sucré : historique et antécédents. Thérapie., 10, 907.

- LOUBATIERES A. [1957]. Le mécanisme d'action des sulfamides hypoglycémisants et de leurs dérivés. *Ann. Endocr.*, 18, 161-169.
- LOUBATIERES A. [1968]. Stimulators and inhibitors of insulin secretion, physiological and pharmacological interferences, synergisms and antagonisms. *Acta. Diabet. Lat.*, 5, suppl. 1, 220-252.
- LUBETZKI J., DUPREY K. and WARNET A. [1978]. *Maladies métaboliques et de la nutrition (Physiologie clinique)*. Ed. J.B. Baillière.
- LUYCKX A., DAUBRESSE J.C., CARPENTIER J.L. and LEFEVRE P. [1974]. The place of biguanides in treatment of diabetes mellitus. *Journées Ann. Diabetol. Hôtel-Dieu.*, 129-150.
- MAC GIFF J.C. and WONG P.Y.K. [1979]. Compartmentalization of prostaglandins and prostacyclin within the kidney : implications for renal function. *Fed. Proc.*, 38, 89. In *La fonction rénale. Acquisitions et perspectives*. [1980] INSERM. Eds. Bonvalet Flammarion, Paris.
- MAHTOUT S. [1981]. Approche biologique d'un modèle expérimental pour l'étude du diabète : le Rat des sables (*Psammodromus obesus*). Morphologie, histo-enzymologie et ultrastructure du foie et de l'aorte après régimes hypo et hypercaloriques. Thèse de 3ème cycle, Alger.
- MALEQUE A., ENDOU H., KOSEKI C. and SAKAI F. [1980]. Nephron heterogeneity gluconeogenesis from pyruvate in rabbit nephron. *Feb. Letters.*, 116, 2, 154-156.
- MANDARINO L.J. and GERICH J.E. [1984]. Prolonged sulfonylurea administration decreases insulin resistance and increases insulin secretion in non insulin-dependent diabetes mellitus. *Diab. Care.*, 7, 1, 89-99.
- MAQUART F.X., RANDOUX A. and BOREL J.P. [1979]. Influence du taux de glucose sur la synthèse du collagène par les fibroblastes humains en culture. *Rev. Fr. Endoc. Clin.*, 20, 17-21.
- MARCHAND E. and GRIGORESCU F. [1983]. The hypoglycemic effect of a sulfonylurea (gliclazide) in moderate type II diabetes and glucose tolerance is not accompanied by changes in insulin action and insulin binding to erythrocytes. *Molec. Physiol.*, 4, 83-93.

- MARQUIE G. [1977]. Preventive effect of gliclazide on cholesterol induced atheromatous lesions in the rabbit. *Comptes rendus.*, 285, 197-200.
- MARQUIE G. [1978]. Preventive effect of gliclazide on experimental atherosclerosis in rabbits. *Diabet.*, 14, 269-275.
- MARQUIE G. [1978]. Metformin action on aortic lipid metabolism in relation to atherosclerosis. *Diabet.*, 14, 253.
- MARQUIE G. [1979]. Metformin action on adipose tissue metabolism in relation to obesity. *Excerpta Med.*, 481, 392A.
- MARQUIE G., PETKOV P. and DUHAULT J. [1980]. Diabetic syndrome in sand rat (*Psammomys obesus*) with special reference to the pancreas. *Diabet.*, 19, 254A.
- MARQUIE G. [1980]. The effect of metformin on lipid biosynthesis in rabbit liver. *I.R.C.S. Med. Sc. Metab. Nut. Pharm.*, 8, 218.
- MARQUIE G., DUHAULT J. and JACOTOT B. [1984]. Diabetes mellitus in sand rats (*Psammomys obesus*). Metabolic pattern during development of the diabetic syndrome. *Diabetes.*, 33, 438-443.
- MAUER S.M., MICHAEL A.F., FISH J. and BROWN D.M. [1972]. Spontaneous immunoglobulin and complement position in glomeruli of diabetic rats. *Lab. Invest.*, 27, 488-494.
- MAUER S.M., SUTHERLAND D.E.R., STEFFES M.W., LEONARD R.J., NAJARIAN J.S., MICHAEL A.F. and BROWN D.M. [1974]. Pancreatic islet transplantation [effects on glomerular lesions of experimental diabetes in the rat]. *Diabetes.*, 23, 748-753.
- MAUER S.M., STEFFES M.W., SUTHERLAND D.E.R., NAJARIAN J.S., MICHAEL A.F. and BROWN D.M. [1974]. Studies of the rate of regression of the glomerular lesions in diabetic rats treated with pancreatic islet transplantation. *Diabetes.*, 24, 280-285.
- MAUER S.M., STEFFES M.W., SUTHERLAND D.E.R. and al. [1975]. Studies of the rate regression of the glomerular lesions in diabetic rats treated with pancreatic islet transplantation. *Diabetes.*, 280-285.

- MAUER S.M., STEFFES M.W., ELLIS E.N., SUTHERLAND D.E.R., BROWN D.M. and GOETZ F.C. (1984). Structural functional relationship in diabetic nephropathy. *J. Clin. Invest.*, 74, 1143-1155.
- MEIER H. and YERGANIAN G.H. (1959). Spontaneous hereditary diabetes mellitus in Chinese Hamster (*Cricetus griseus*). *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 100, 810-815.
- MENARD F., CORVOL P., ALDIGIER J.C. and PLOVIN P.F. (1980). Système renine-angiotensine et son inhibition. In : *La fonction rénale. Acquisitions et perspectives*. INSERM. Ed. Bonvalet. Flammarion, Paris.
- MEYER P. (1983). *Physiologie humaine*. 2ème édit. Flammarion Médecine. Sciences.
- MOGENSEN C.E., and ANDERSEN M.J.F. (1975). Increased kidney size and glomerular filtration rate in untreated juvenile diabetes : normalization by insulin treatment. *Diabet.*, 11, 221-224.
- MOGENSEN C.E. (1979). La microangiopathie glomérulaire fonctionnelle. Journées de diabétologie de l'Hôtel-Dieu, Paris, Flammarion, Paris.
- MOGENSEN C.E., CHRISTENSEN C.K., BECK NIELSEN H. and VITTINGHUS E. (1983). Early changes in kidney function, blood pressure and the stages in diabetic nephropathy. In : *Prevention and treatment of diabetic nephropathy*, S, 57-83, MTP Press.
- MORDES P. and ROSSINI J. (1981). In TEPPER B.J. and KANARCK R.B. (1985).
- MOREL F. and IMBERT-TEBOUL M. (1980). Mécanismes de concentration de l'urine par le rein. In : *La fonction rénale. Acquisitions et perspectives*. Eds. Bonvalet. INSERM. Flammarion Médecine, Paris.
- MOURIQUAND C. and SELE B. (1978). *Histologie. Rein et organes génitaux*. Eds. Colin, Paris.
- MUNGER I. and LANG R.J. (1973). In BELL R.H. and HYE R.J. (1983).
- NACHLAS M.M., CRAWFORD D.T. and SELIGMAN A.M. (1957). The histochemical demonstration of leucine amino-peptidase. *J. Histochem. Cytochem.*, 5, 264-278.

- NAKAMURA M.A. [1962]. A diabetic strain of the mouse. Proc. Jpn. Acad., 38, 348-352.
- NEWBURGH B. [1942]. In HUGHES R., GUYNE J.T., SWITZER B.R. and al. [1984]. Effects of caloric restriction and weight loss on glycemic control, insulin release and resistance and atherosclerotic risk in obese patients with type II diabetes mellitus. Am. J. Med., 77, 7-17.
- NONOGUCHI H., UCHIDA S., SHIIGAI T. and ENDOU H. [1985]. Effect of chronic metabolic acidosis on ammoniac production from L. glutamine in microdissected rat nephron segments. Pflügers Arch. Eur. J. Physiol., 403, 229-235.
- ORCI L., STAUFFACHER W., AMHERDT H., PICTET R., RENOLD A.E. and ROUILLER C. [1970]. The kidney of spiny mice (*Acomys cahirinus*). Electron microscopy of glomerular changes associated with ageing and tubular glycogen accumulation during hyperglycemia. Diabet., 6, 343-355.
- OROSZ S.E. and al. [1981]. Acta Diab. Lat.
- OSTERBY R. and LUNDBACK J. [1970]. The basement membrane morphology in diabetes mellitus. In Ellenbert M. and Rifkin H. (Eds). Diabetes mellitus. Theory and practice. Mac Graw-Hill, N.Y., 178-209.
- OSTERBY R. [1973]. A quantitative electron microscopic study of mesangial regions in glomeruli from patients with short-term, juvenile diabetes mellitus. Lab. Invest., 29, 99.
- OSTERBY R. [1979]. Altérations de la structure des glomérules chez les diabétiques. Journées de Diabétologie de l'hôpital Dieu, Flammarion, Lyon.
- PADYKULA H.A. and HERMAN E. [1955]. The specificity of the histochemical method for adenosine triphosphatase. J. Histochem. Cytochem., 3, 170-183.
- PARVING H.H., ANDERSON A.R., SMIDT U.M. and SVENDEN P.A. [1983]. Early aggressive antihypertensive treatment reduces rate of decline in kidney function in diabetic nephropathy. Lancet., 1, 1175-1179.
- PEARSON T.W., ESTEP J.A. and GOLDNER A.M. [1980]. Effect of phenethylbiguanide on sugar and aminoacid transport in rabbit ileum. Life Sci., 26, 2293-2300.

- PETTER F. (1952). Note préliminaire sur l'étiologie et l'écologie de *Psammomys obesus cretzenschmar*. *Mammalia.*, 16, 137-147.
- PETTER F. (1961). Répartition géographique et écologie des rongeurs désertiques de la région paléarctique. *Mammalia.*, Ser A 3479.
- PETRIDES P., WEISS L., LÖFFLER G. and WIELAND D.H. (1981). Diabète sucré. Bases théoriques, cliniques et thérapeutiques.
- PINSARD D., CHADENAS D., WALLE T., VILLENEUVE A. and AUBAITRE J. (1983). Microangiopathie diabétique. Données actuelles. *Rev. Med. Tours.* 17, 8, 1095-1100.
- PIRART J. (1977). Diabète et complications dégénératives ; présentation d'une étude prospective portant sur 4000 cas observés entre 1947 et 1973. *Diabète et métabolisme.*, 3, 97-107.
- PITTS R.E. (1976). *Physiologie du rein et du milieu intérieur*. 2ème éd. Masson.
- PRANGE H.D., SCHMIDT-NIELSEN K. and HACKEL D.B. (1958). Care and breeding of the fat sand rat (*Psammomys obesus cretzenschmar*). *Lab. Anim. Care.*, 18.
- RAKIETEN N., RAKIETEN M.L. and NADKARNI M. (1963). Studies on the diabetogenic action of streptozotocin in cancer chemotherapy. *Rep.*, 29, 91-98.
- RAMBERT P., CANIVAT J., QUICHAUD J. and SPITS B. (1961). Traitement du diabète sucré par le N-N diméthylbiguanide, expérience de 177 cas. *Sem. Hop. Paris.*, 37, 247-254.
- RASCH R. (1979). Prevention of diabetic glomerulopathy in streptozotocin diabetic rats by insulin treatment : kidney size and glomerular volume. *Diabet.*, 18, 125-128.
- RASCH R. (1980). Prevention of diabetic glomerulopathy in streptozotocin diabetic rats by insulin treatment. *Diabet.*, 18, 413-416.
- RASCH R. (1984). Tubular lesions in streptozotocin diabetic rats. *Diabet.*, 27, 32-37.

- RAVID R., SWAAB D.F. and POOL C.W. (1985). Immunocytochemical localization of vasopressin-binding sites in the rat kidney. *J. Endocr.*, 105, 133-140.
- REGNAULT F. and KERN P. (1979). Tissu conjonctif et rétinopathie diabétique. *Rev. Fr. Endocr. Clin.*, 20, 53-58.
- RENAUD J.B., ASSIMA COPOULOS F., LOTEN G., KARAKESH C. and LE MARCHAND Y. (1975). Metabolic anomalies of obese hypoglycemic (ob/ob) mice of Bar Harbor. *Isr. J. Med. Sci.*, 11, 723-729.
- RIVELLESE A., RICCARDI G., GIACCO A., POSTIGLIONE A., MASTRANZO P. and MATTIOLI P.L. (1983). Reduction of risk factors atherosclerosis in diabetic patients treated with a high-fiber diet. *Prevent. Med.*, 12, 128-132.
- ROBERT L. (1979). Tissu conjonctif et diabète. *Rev. Fr. Endocr. Clin.*, 20, 7-17.
- ROCH-RAMAL F. (1980). Recherches sur les relations entre fonctions et métabolisme du rein. *Compte rendu de fin d'étude.*, 1-35.
- SALHANICK A.I., KONOWITZ P. and AMATRUDA J.M. (1983). Potentiation of insulin action by a sulfonulurea in primary cultures of hepatocytes from normal and diabetic rats. *Diabet.*, 32, 206-212.
- SCARPELLI D.G., HESS R. and PEARSE A.G.E. (1958). The cytochemical localization of oxidative enzymes.
I. Diphosphopyridine nucleotide diaphorase and triphosphopyridine nucleotide diaphorase. *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, 4, 747-752.
II. Pyridine nucleotide linked deshydrogenases. *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, 4, 753-780.
- SCHÄFER G., RIEGER E. and SPEICHERT M. (1974). Interaction of biguanides with mitochondrial and synthetic membranes. *Eur. J. Biochem.*, 48, 613-623.
- SCHÄFER G. (1976). Commentary : on the mechanism of action of hypoglycemia producing biguanides. A reevaluation and a molecular theory. *Biochem. Pharmacol.*, 25, 2005-2014.
- SCHÄFER H. and HAUPT I. (1980). The effect of diet in the metabolic state during the development of a diabetic syndrome followed up in the sand rat (*Psammomys obesus*). *Endokr.*, 75, 3, 341-349.

- SCHÄFER G. (1983). Biguanides. A review of history, pharmacodynamics and therapy. *Diab. Met.*, 9, 148-163.
- SCHLEICHER E. and WIELAND D.H. (1984). Changes of human glomerular basement membrane in diabetes mellitus. *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.*, 22, 223-227.
- SCHMID H., SCHOLZ M., MALL A., SCHMIDT U., GUDER W.G. and DUBACH U. C. (1978). Carbohydrate metabolism in rat kidney : heterogeneous distribution of glycolytic and gluconeogenic key enzymes. *Curr. Probl. Clin. Biochem.*, 8, 282-289.
- SCHMID H., MALL A., SCHOLZ M. and SCHMIDT U. (1980). Unchanged glycolytic capacity in rat kidney under conditions of stimulated gluconeogenesis. *Hoppe Seyler's Z. Physiol. Chem. Bd.*, 361, 819-827.
- SCHMIDT-NIELSEN K., HAINES M.B. and HACKEL D.B. (1964). Diabetes mellitus in the sand rat induced by standard laboratory diets. *Science*, 143, 691.
- SCHWARTZ M.J., MIRSKY S. and SCHAEFER L.E. (1966). The effect of phenformin hydrochloride on serum-cholesterol and triglyceride levels of the stable adult diabetic. *Met.*, 15, 808-822.
- SELIGMAN A.M., TSOU K.C. RUTENBERG S.H. and COHEN R.B. (1954). Histochemical demonstration of β -D glucuronidase with a synthetic substrate. *J. Histochem. Cytochem.*, 2, 209-229.
- SEYER-HANSEN K., HANSEN J. and GUNDERSEN H.J.G. (1980). Renal hypertrophy in experimental diabetes. A morphometric study. *Diabet.*, 18, 501-505.
- SHIMADA H., ENDOU H. and SAKAI F. (1982). Distribution of gamma-glutamyl transpeptidase and glutaminase isoenzymes in the rabbit single nephron. *Jpn. J. Pharmacol.*, 32, 121-129.
- SIE H.G., SAWYER D. and FISHMAN W.H. (1966). Enzymorphologic demonstration of glucose 6 phosphate dependent glycogen synthetase in mouse liver. *J. Histochem. Cytochem.*, 14, 247-251.
- SIMPSON H.C.R. (1981). High carbohydrate high fibre diets for diabetics. *Proc. Nutr. Soc.*, 40, 219.

- SIPERSTEIN M.D., UNGER R.H., MADISON L.L. [1968]. Studies of muscles capillary basement membranes in normal subjects, diabetic and prediabetic patients. *J. Clin. Invest.*, 47, 1992-1997.
- SIATORI C.R., CATAPANO A., GHISELLI G.C., SHORE B. and SHORE Y. [1978]. Effects of metformin on lipoprotein composition in rabbits and man. *Proteins biological fluids. USA.*
- SKILLMAN T.G. and FELDMAN J.M. [1981]. The pharmacology of sulfonureas. *Am. J. Med.*, 70, 361-372.
- SMIT SIBINGA C.T. and WIERINGA R.A. [1975]. The effect of glyclazide on irradiation induced experimental atheromatosis. *A. St. Word. Cong. of microcir. Press Plenum Press, N.Y.*
- SMIT SIBINGA C.T. and WIERINGA R.A. [1980]. The effect of gliclazide on irradiation induced experimental atheromatosis. In: Keen and al. (Eds). *Gliclazide and treatment of diabetes. Int. Cong. Symp.*, 51-57. Acad. Press. Roy. Soc. Med. London.
- SPIRO R.G. [1976]. Search for a biochemical basis of diabetic microangiopathy. *Diabet.*, 12, 1-14.
- STERNE J. [1958]. L'action hypoglycémisante de la N-N dimethylbiguanylguanidine. *Thérapie*, XIII, 650-659.
- STERNE J., DUVAL. and JUNIEN J.L. [1979]. Research and clinical *Forums.*, 1, 4, 13-20.
- STOCKHOLM K.H., JENSEN G.F., HANSEN B.B and QUADE F. [1980]. Very low caloric diet in the treatment of massive obesity : preliminary experience. *Int. J. Obes.*, 4, 213-220.
- STOUT L.C., FOLSE D.S., MEIER J. and CROSBY W.M. [1986]. Quantitative glomerular morphology of the normal and diabetic baboon kidney. *Diabet.*, 29, 734-740.
- STRAUS W. [1964]. Occurrence of phagosomes and phagolysosomes in different segments of the nephron in relation to the reabsorption, transport, digestion and extrusion of intravenously injected horseradish peroxidase. *J. Cell. Biol.*, 21, 295-308.

- STROHFELDT P. and STRUBEL-OBERMAIER U. (1977). Effect of buformin on the regulation of glycogen metabolism in the skeletal muscle of normal rats. *Arzneim. Forsch.*, 27, 1034-1036.
- TCHOBROUTSKY G., CHARITANSKI O. and BLOUQUIT Y. (1980). Diabetic control in 102 insulin treated out patients. *Diabet.*, 18, 447-452.
- TEPPER B.J. and KANARCK R.B. (1985). Dietary self selection patterns of rats with mild diabetes. *J. Nutr.*, 115, 699-709.
- THOMAS O. (1902). New species of *Dipodillus* and *Psammomys*. *Ann. Nat. Hist.*, 9, 362-363.
- TROWELL H. (1978). Diabetes mellitus and dietary fiber of starch foods. *Am. J. Clin. Nutr.*, 31, S 53.
- VIBERTI G. and KEEN H. (1984). The patterns of proteinuria in diabetes mellitus. Relevance to pathogenesis and prevention of diabetic nephropathy. *Diabetes.*, 33, 686-692.
- VILLIGER U. (1982). Clinical trial with a new oral antidiabetic gliclazide in general practice. *Schweiz. Rund. Med. Pr.*, 71, 699.
- VINAY P., GOUGOUX A. and LEMIEUX G. (1981). Isolation of a pure suspension of rat proximal tubules. *Am. J. Physiol.*, 241, F 403-F 411.
- WAHLQIRST M.L. (1980). Diet in the treatment of diabetes. *Med. J. Aust.*, 2, 64-68.
- WAJCHENBERG B.L., SABBAGA E. and FONSECA J.A. (1983). The natural history of diabetic nephropathy in type I diabetes and the role of metabolic control in its prevention, reversibility and clinical course. *Acta diabet. Lat.*, 20, 1.
- WALL P., DEPPERMAN O., DESCHNER W., FUCHS E. and REXROTH W. (1973). The metabolism of the isolated renal glomerulus and its basement membranes. In *Early diabetes*. Camerini-Davalos R.A. and Cole H.S. Eds. Academic Press, Inc, N.Y., 147.

- WATANABE C.K. (1918). Studies in the metabolic changes induced by administration of guanidine hydrochloride upon blood sugar content. *J. Biol. Chem.*, 33, 253-265.
- WEGMAN N.R. and SOTELLO C. (1962). Aspects cyto-enzymologiques du métabolisme des glucides de la cellule de Purkinje. *Ann. Histochem.*, 7, 4, 65-81.
- WEHNER H., KÖSTERS W., STRAUCH M. and STAUDENMEIR M. (1980). Effect of islet transplantation of the glomerular changes in streptozotocin diabetic rats. *Virchows Arch. A. Pathol. Anat. Histol.*, 388, 137-157.
- WEINRAUCH G. and al. (1978). In PETRIDES and al. (1981).
- WISEMAN M.J., VIBERTI G.C., MACKINTOSH D., JARRET R.J. and KEEN H. (1984). Glycemia, arterial pressure and microalbuminuria in type I (insulino-dependent) diabetes mellitus. *Diabet.*, 26, 401-405.
- WOODWARD G.E., MUNRO M.P. and SCHROEDER E.F. (1935). Glyoxalase IV the antiglyoxalase action of kidney and pancreas preparations. *J. Biol. Chem.*, 109, 11-27.
- ZUCKER L.M. and ZUCKER T.F. (1961). Fatty a new mutation in the rat. *J. Hered.*, 52, 275-278.

INDEX DES FIGURES

Figure A : Circulation artérielle du rein chez l'Homme

Figure B : Structure et ultrastructure des différents segments du néphron.

Figure C : Glomérule et appareil juxtaglomérulaire.

Figure D : Filtre glomérulaire et capsule de Bowman.

Figure E : Echanges d'eau et de substances le long du néphron au cours de l'élaboration d'une urine hypertonique.

Figure F : Actions des différentes hormones le long du néphron.

Figure G : Evolution du syndrome diabétique chez les rats des sables soumis à un régime standard pendant 15 mois.

Figure H : International symposium on biguanides. Moscou 1977

INDEX DES TABLEAUX

- Tableau I : Les différentes structures du néphron et leurs fonctions.
- Tableau II : Moyennes de certains paramètres biochimiques plasmatiques et urinaires chez le Rat des sables soumis à un régime naturel hypocalorique.
- Tableau III : Tests de tolérance au glucose chez les animaux normaux obèses et diabétiques et, après traitements antidiabétiques.
- Tableau IV : Valeurs moyennes de certains paramètres biochimiques plasmatiques et urinaires chez le Rat des sables soumis au régime standard pendant 15 mois.
- Tableau V : Valeurs des acides gras libres plasmatiques chez le Rat des sables normal, obèse, diabétique et traité par la thérapeutique antidiabétique.
- Tableau VI : Valeurs moyennes des électrolytes plasmatiques chez le Rat des sables normal et diabétique.
- Tableau VII : Moyennes générales des paramètres biochimiques plasmatiques et urinaires chez le Rat des sables diabétique et traité.
- Tableau VIII : Histochimie et histo-enzymologie du rein de Psammomys obesus, normal, obèse, diabétique et après traitements antidiabétiques.

INDEX DES PLANCHES

- Planche I : Morphologie du rein normal : zone corticale.
- Planche II : Morphologie et histochimie du rein diabétique : zone corticale.
- Planche III : Morphologie et histochimie du rein diabétique : zone corticale
- Planche IV : Morphologie et histochimie de la zone corticale du rein diabétique.
- Planche V : Morphologie de la zone corticale du rein diabétique.
- Planche VI : Histochimie de la zone médullaire du rein diabétique.
- Planche VII : Ultrastructure du tube contourné proximal de rein normal et diabétique.
- Planche VIII : Morphologie du rein
- Planche IX : Ultrastructure du glomérule rénal.
- Planche X : Ultrastructure du glomérule rénal.
- Planche XI : Ultrastructure du glomérule rénal.

E.C 3.1.3.9

Glucose 6 phosphatase (G 6 P'ase)

L'enzyme catalyse la réaction suivante :



La révélation histochimique de la glucose 6 phosphatase s'effectue par la méthode de CHIQUOINE (1953).

Protocole expérimental

A 10ml d'acétate de sodium 0,1M sont ajoutés 15mg de glucose 6 phosphate disodique. Puis 1,5ml d'acétate de plomb à 2% et 8,5ml d'eau distillée sont additionnés au mélange.

L'incubation, qui dure 30 minutes se fait à 37°C.

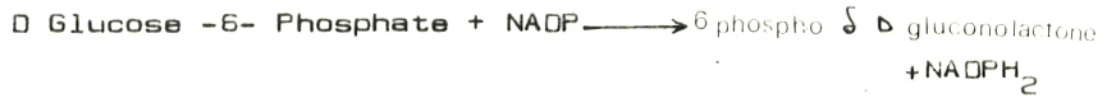
Résultats

La réaction positive se caractérise par la formation de précipite de couleur brun dorée foncée.

E.C 1.1.1.49

Glucose -6- phosphate deshydrogénase (G6PDH)

La glucose 6 P deshydrogénase catalyse la réaction suivante :



La révélation histochimique est réalisée par la méthode de SCARPELLI, HESS et PEARSE (1958)

Protocole expérimental

0,8ml de chlorure de magnesium [MgCl_2] 0,1M et 0,4ml de nitrobleu tétrazolium à 5mg/ml d'eau distillée, sont ajoutés à 8,8ml d'eau distillée. A ce milieu on adjoint 4,5mg de β D glucose 6 P de sodium et 5mg de NADP puis 5ml de tampon tris HCl 0,2M, pH 7,4 additionné de 10% de gélatine.

L'incubation dure 90mn à température ambiante. Elle est suivie par un rinçage à l'eau puis d'un bain rapide dans du formol neutre à 20%.

Résultats

En cas de positivité de la réaction, l'observation microscopique révèle un dépôt bleu de grains de formazan.

E.C 3.2.1.3.31

β Glucuronidase (β Glu)

Cette enzyme lysosomiale catalyse l'hydrolyse de la liaison glucosidique de nombreux glucuronides.

La β glucuronidase est r el ev ee histochimiquement par la méthode de SELIGMAN, TSOU, RUTENBURG et COHEN [1954].

Protocole expérimental

3mg de 6 bromo - 2 naphtyl β D- glucuronide dans 0,5ml de méthanol. A cette solution sont ajoutés 2ml de tampon Mac Ilvaine pH 4,9 et 7,5ml d'eau distillée.

L'incubation est réalisée   37 C pendant 6 heures, suiv e d'une fixation au formol neutre   10 % pendant 10 minutes. Un post-couplage au diazobleu   10 % dans du tampon S orenson 0,02M pH 7,5 est r ealis e en dernier.

Résultats

Les sites d'activité enzymatique sont indiqu es par un colorant azoïque rouge.

La sorbitol déshydrogénase catalyse la réaction suivante :



La révélation histochimique de cette enzyme est faite selon la méthode de DROSZ et al. (1981).

Protocole expérimental

Les coupes sont préfixées pendant 45 min à 4°C dans un mélange constitué de tampon tris 300mM pH 7,2, de formol à 10% dans de l'éthanol à 50%. Elles sont ensuite passées dans l'acétone à 4°C pendant 5 min, puis rincées dans du tampon tris 300mM pH 8,8. L'incubation, qui dure 45 min est réalisée à 37°C dans une solution renfermant 18,9 ml de tampon tris 300mM pH 8,8, 0,1 ml de KCN 0,02M, 1 ml de nitro blue tetrazolium à 5 mg/ml, 7,6 mg d'EDTA et 16 mg de NAD et 82,2 mg de D sorbitol. Une coloration de fond à la safranine "O" à 1% est faite durant 20 secondes. Après rinçage à l'eau distillée et déshydratation à l'alcool, les coupes sont montées au Baume de Canada.

Résultats

La réaction est jugée positive lorsqu'il apparait des grains bleu noir de formazan.

E.C 1.1.1.28 D- lactate déshydrogénase (LDH)

La lactate déshydrogénase catalyse la réaction suivante :



Cette enzyme est révélée histochimiquement par la méthode de GEREBTZOFF [1968].

Protocole expérimental

10ml d'une solution de NAD à 1mg/ml d'eau distillée sont mélangés à 5ml d'une solution comportant 0,8ml de lactate de sodium à 50% et 4,2ml d'eau distillée. On y ajoute 12,5mg dissous dans 0,3ml de N-N. Diméthylformamide et 4,7ml d'eau distillée et 10ml de tampon tris-Hcl 0,2M, pH 7,4 renfermant 10% de gélatine. L'incubation se fait à température ambiante, pendant 90 minutes, les coupes sont ensuite fixées pendant 15 minutes dans du formol neutre à 20%.

Résultats

La réaction positive se traduit par l'existence de dépôt brun de grains de formazan.

E.C. 1.1.1.8. α Glycérol 3 phosphate déshydrogénase (α GPDH)

L'enzyme catalyse la réaction mitochondriale suivante :



La glycérol 3 phosphate déshydrogénase est révélée par la méthode de SCARPELLI, HESS et PEARSE (1958).

Protocole expérimental

3,3mg de glycérol 3 phosphate et 5mg de β NAD sont dissous dans un mélange constitué de 8,8ml d'eau distillée et 5ml de tampon tris-HCl 0,2M pH 7,4, 0,4ml d'une solution de tétranitrobleu tétrazolium à 2,5mg/ml sont ajoutés ainsi que 0,8ml de MgCl₂ 0,1M et 0,5mg de ménadione dissoute dans 0,25ml d'acétone. L'incubation est réalisée à température ambiante, pendant 90 minutes.

Résultats

Les sites d'activité enzymatique sont révélés par un dépôt brun de grains de formazan.

E.C. 1.1.1.42. Isocitrate déshydrogénase NADP⁺ (ICDH)

Cette enzyme mitochondriale catalyse la réaction suivante :



L'isocitrate déshydrogénase est révélée histochimiquement par la méthode de SCARPELLI et al. (1958).

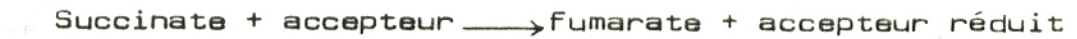
Protocole expérimental

51,5mg d'isocitrate disodique sont dissous avec 2,5mg de NADP à 5mg/ml dans 5ml de tampon véronal 0,05M, pH 7,4 et 3,7ml d'eau distillée.

Résultats

La réaction positive se traduit par un dépôt brun de grains de formazan.

La succinate déshydrogénase catalyse dans la mitochondrie, la réaction suivante :



La révélation histochimique se fait par la méthode de NACHLAS et al. (1957).

Protocole expérimental

1ml de succinal de sodium 0,2M est ajouté à 1ml de tétranitrobleu tétrazolium à 2,5mg/ml, on ajoute ensuite 2ml de tampon phosphate 0,1M pH 7,4 et 0,5ml de ménadione à 2,5mg/ml d'acétone.

L'incubation se fait à 37°C et dure 15 minutes ; les coupes sont alors rincées à l'eau distillée puis plongées dans un bain de formol neutre à 20% pendant 15 minutes puis rincées encore une fois à l'eau distillée pour un montage final.

Résultats

L'activité enzymatique est mise en évidence par la formation de grains bleus de formazan.

E.C. 2.4.1.1.

Phosphorylase (PR)

La phosphorylase catalyse la réaction suivante :



La révélation histochimique est effectuée par la méthode de CHANIAN [1970]

Protocole expérimental

600mg de glucose 1 phosphate disodique, 100mg d'ATP disodique et 3,2mg de sulfate de magnésium sont dissous dans 4ml de tampon acétate 0,2M, pH 6,0 et 6ml d'eau distillée. A cette solution sont ajoutés 8,4mg de fluorure de sodium anhydre et 76mg d'EDTA et 2mg de polyvinylpyrrolidone.

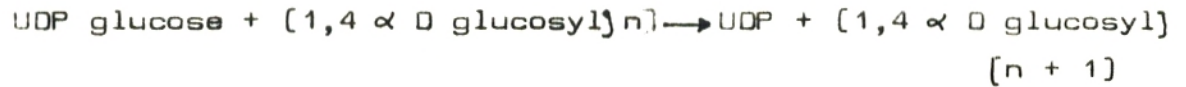
L'incubation se fait à 37°C durant une heure, puis les coupes sont lavées à l'alcool et enfin plongées dans le lugol.

Résultats

La réaction positive se caractérise par une coloration brune pourpre ou bleue (présence de glycogène).

E.C 2.4.1.11 Glycogène synthétase (UDPG GT)

La réaction catalysée par cette enzyme est la suivante :



La méthode de SIE, SAWYER et FISHMAN (1966) est utilisée pour la révélation histochimique de cette enzyme.

Protocole expérimental

20mg d'UDPG disodique dihydratée (uridine diphosphoglucose disodique dihydratée) sont ajoutés à 1mg de glycogène, 45mg de β D glucose 6 phosphate et 100mg de polyvinylpyrrolidone et 1ml de tampon glycine-EDTA pH 9,4.

L'incubation se fait à 37°C pour une durée de 2heures 30minutes, les coupes sont par la suite plongées dans une solution de lugol à 10% pendant 15 minutes.

Résultats

L'activité enzymatique est mise en évidence par l'apparition d'une teinte brune caractéristique du glycogène formé.

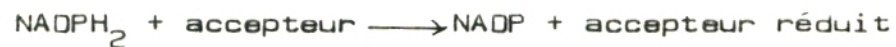
E.C. 1.6.99.3. NADH déshydrogénase (NADH, H⁺ - TR)

E.C 1.6.99.1 NADPH déshydrogénase (NADPH₂ - TR)

La NADH déshydrogénase catalyse cette réaction



La NADPH déshydrogénase catalyse la réaction suivante



La révélation histochimique de ces 2 enzymes se fait par la méthode de SCARPELLI, HESS et PEARSE (1958).

Protocole expérimental

-3mg de β NAD disodique 11.10^{-4} M sont dissous dans 1ml de nitrobleu tétrazolium à 1mg/ml et 3ml de tampon tris-Hcl 0,2M pH 7,4

-3mg de NADPH tétrasodique 9.10^{-4} M sont dissous dans 1ml de nitrobleu tétrazolium à 1mg/ml et 3ml de tampon tris-Hcl 0,2M pH 7,4

Résultats

La réaction positive est révélée par la présence de dépôt bleu de grains de formazan.

E.C. 1.4.1.2. Glutamate déshydrogénase (Clu DH)

La glutamate déshydrogénase catalyse la réaction suivante :



Cette enzyme est révélée selon la méthode de DICULESCO et WEGMANN [1965].

Protocole expérimental

Les coupes sont d'abord traitées dans de l'acétone à 4°C, pendant 3 min, puis à l'eau distillée. Elles sont ensuite incubées en présence de glutamate de sodium (18,7 mg/ml de solution) avec 3 mg/ml de NAD et 6 mg/ml d'EDTA disodique dans du tampon phosphate 0,2M pH 7,2 renfermant du tétranotroblue tétrazolium (TNBT).

La ménadione est utilisée comme activateur à raison de 0,5 mg dissoute dans 0,25 ml d'acétone. L'incubation qui dure 90 min se fait à température ambiante.

La fixation est réalisée dans du formol neutre à 20% pendant 15 min.

Résultats

La positivité de la réaction se traduit par des grains bleu-noir de formazan.

La leucine aminopeptidase catalyse de réaction lysosomiale suivante :



La révélation histochimique de cette enzyme est effectuée selon la méthode de NACHLAS, CRAWFORD et SELIGMAN (1957).

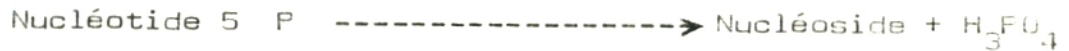
Protocole expérimental

2,5mg de "blue salt 250" et 2mg de chlorhydrate de leucyl - B-naphtylamide sont dissous dans 2ml de NaCl à 0,85%. On ajoute 0,25ml de cyanure de potassium 0,02 M et 0,25ml d'eau distillée et 2,5ml de tampon acétate 0,1 M pH 6,5 à 10% de gélatine. L'incubation dure 20heures (16 heures à 4°C et 4 heures à 37°C). Après rinçage, les coupes sont plongées dans du sulfate de cuivre 0,1 M.

Résultats

La réaction positive est caractérisée par une teinte bleu violacée, due à la chélation du colorant azoïque rouge avec le cuivre.

Cette enzyme catalyse la déphosphorylation des nucléotides en nucléosides selon la réaction suivante :



Sa révélation histochimique se fait selon la méthode de BARRON et BOSHERS (1961).

Protocole expérimental

Une préfixation des coupes dans du formol-Ca à 10% à 4°C est réalisée pendant 10 min. Après lavage à l'eau distillée, les coupes sont incubées durant 30 min à 37°C, dans une solution renfermant 25 ml de tampon tris-maléate 0,1 M pH 6,5, 3 ml de Pb (NO₃)₂ à 2%, 5 ml de MnCl₂ 0,1 M, 20 mg d'A.P et 17 ml d'eau distillée. Le rinçage à l'eau distillée est suivi d'un traitement au (NH₄)₂S à 2% durant 2 min.

Résultats

La réaction positive se caractérise par un dépôt brun de sulfure de plomb.

E.C 3.6.1.4 Adénosine triphosphatase (ATP'ase -Ca⁺⁺)

Cette enzyme catalyse la réaction suivante :



La révélation histochimique est effectuée selon la méthode de PADYKULA et HERMAN (1955).

Protocole expérimental

152mg d'ATP sont additionnés à 20ml de véronal sodique 0,1M, 10ml de CaCl₂ 0,18M et 30ml d'eau distillée. Le mélange est complété à 100ml avec de l'eau distillée.

L'incubation s'effectue à 37°C et dure 30 minutes.

Résultats

La réaction positive est caractérisée par un précipité brun foncé.

E.C. - 3.1.3.1 Phosphatase alcaline (P'ase alc)

La phosphatase alcaline catalyse cette réaction



La révélation histochimique de l'enzyme est effectuée selon la méthode de GOMORI (1941).

Protocole expérimental

10ml de véronal sodique à 2% sont ajoutés à 10ml de glycerophosphate de sodium à 2% et 2ml de CaCl₂ à 2%, 20ml d'eau distillée et 1ml de sulfate de magnésium à 2%.

L'incubation dure 2 heures et se fait à 37°C. Les coupes sont par la suite plongées dans du nitrate de cobalt à 2% (2minutes), rincées à l'eau, passées dans un bain de sulfure d'ammonium à 2% (2 minutes) et enfin rincées à l'eau pour un montage final au sirop d'apathy

Résultats

La réaction positive est caractérisée par un coloration brun noir de sulfure de cobalt.

E.C. 3.1.3.2 Phosphatase acide (P. ac.)

Enzyme lysosomiale, la phosphatase acide catalyse la réaction suivante :



Cette enzyme est révélée par la méthode de BARKA et ANDERSON (1962)

Protocole expérimental

1ml de solution stock de substrat (10mg de phosphate naphтол AS-TR dissous dans 1ml de N-N diméthylformamide) sont ajoutés à 5ml de solution stock de tampon de Michaelis et 12ml d'eau distillée. On adjoint alors 1,6ml d'un mélange d'une solution stock de pararosanine et de nitrite de sodium à 4% (V/V).

L'incubation qui dure de 30 à 90 minutes est réalisée à température ambiante.

Résultats

La positivité de la réaction est révélée par un colorant azoïque rouge vif.

E.C 3.1.1.8.

Cholinestérase (CHOEAE)

La cholinestérase catalyse cette réaction :



Cette enzyme est révélée histochimiquement par la méthode de KARNOVSKY et ROOTS [1964].

Protocole expérimental

5mg, d'iodure de butyrylthiocholine sont dissous dans 6,5ml de tampon tris-maléate 0,1M pH6,0. 0,5ml de sodium 0,1M et 1ml de sulfate de cuivre à 30mM sont ajoutés ainsi que 1ml d'eau distillée et 1ml de ferricyanure de potassium 5mM.

Résultats

La réaction positive est visualisée par une teinte brune.

E.C 3.1.1.2/6

Estérase carboxylique- Estérase naphtyl

[N. Est. A.]

Cette enzyme catalyse la réaction suivante :



La révélation histochimique de l'estérase carboxylique est effectuée selon la méthode de NACHLAS et SELIGMAN (1949).

Protocole expérimental

4mg de "blue salt 250" sont dissous dans 2ml de tampon véronal 0,1M pH 7,8 et 2,9ml d'eau distillée, puis 1mg de naphtyl acétate dissous dans 0,1ml d'acétone sont ajoutés.

L'incubation se fait à température ambiante, pendant 20 minutes.

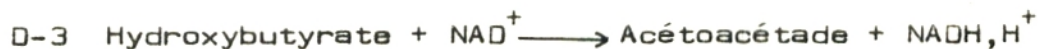
Résultats

La réaction positive est révélée par une coloration qui varie du rouge au bleu violacé selon l'intensité de l'activité enzymatique.

E.C 1.1.1.30

β Hydroxybutyrate deshydrogénase (β HBOH)

L'enzyme catalyse la réaction suivante



La révélation histochimique de l'enzyme est effectuée selon la méthode de SCARPELLI, HESS et PEARSE [1958].

Protocole expérimental

1,56mg de D-3 hydroxybutyrate et 5mg de β NAD sont dissous dans 8,8ml d'eau distillée et 5ml de tampon tris-Hcl 0,2M pH 7,4. A cette solution, sont ajoutés 0,4ml de tétranitrobleu tétrazolium à 2,5mg/ml, 0,8ml de Mgcl₂ 0,1M et 0,5mg de ménadione dissoute dans 0,25ml d'acétone. L'incubation, de 90 minute, se déroule à température ambiante.

Résultats

La positivité de la réaction se traduit par un dépôt brun de grains de formazan.

ANNEXE : FIGURES

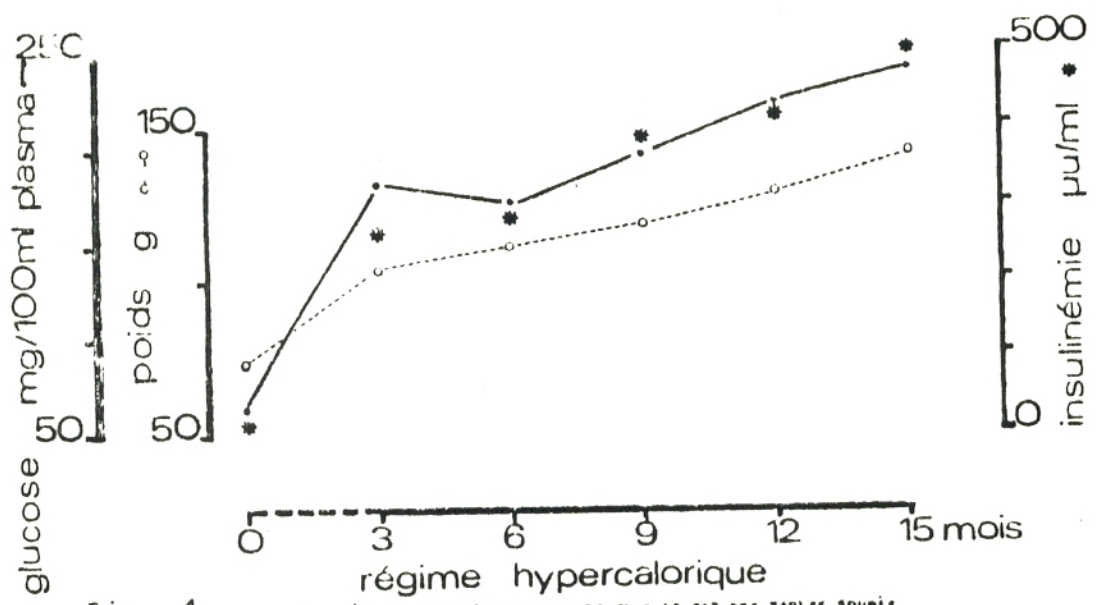


Fig. 1a

EVOLUTION DE CERTAINS PARAMETRES CHEZ LE RAT DES SABLES SOUÉS A UN RÉGIME HYPERCALORIQUE PENDANT 15 MOIS.

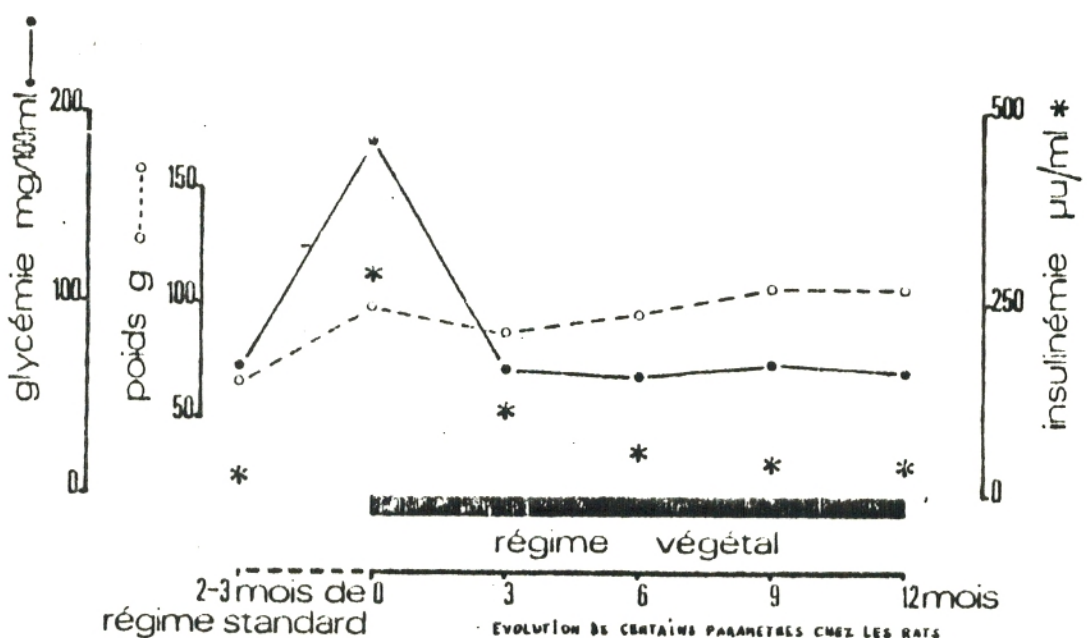
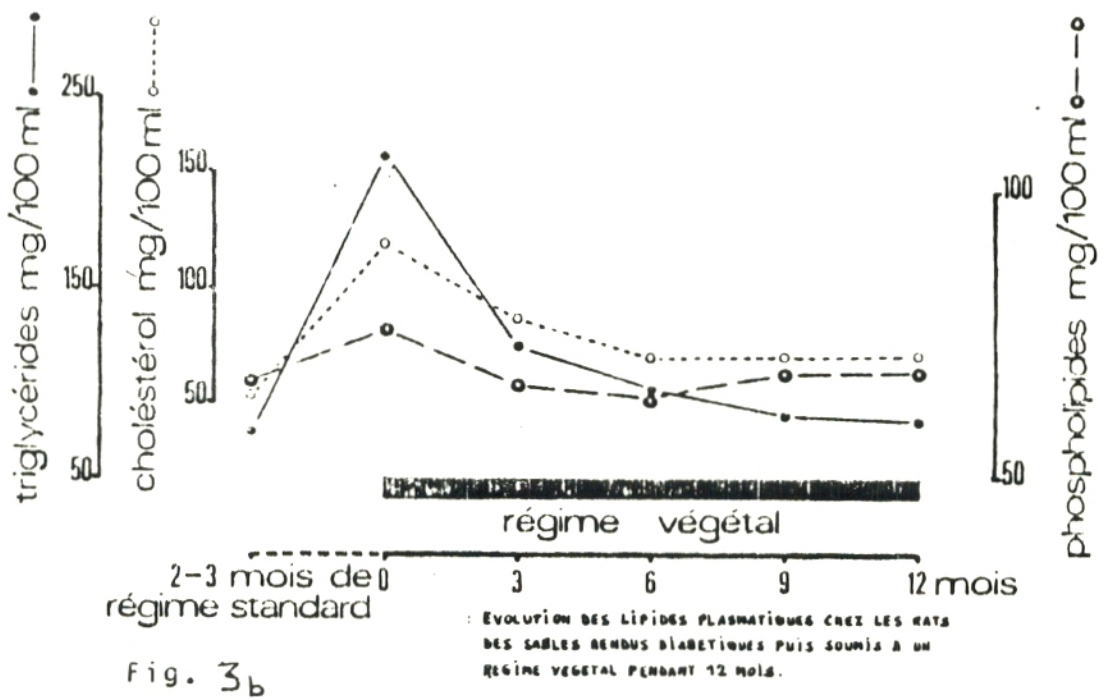
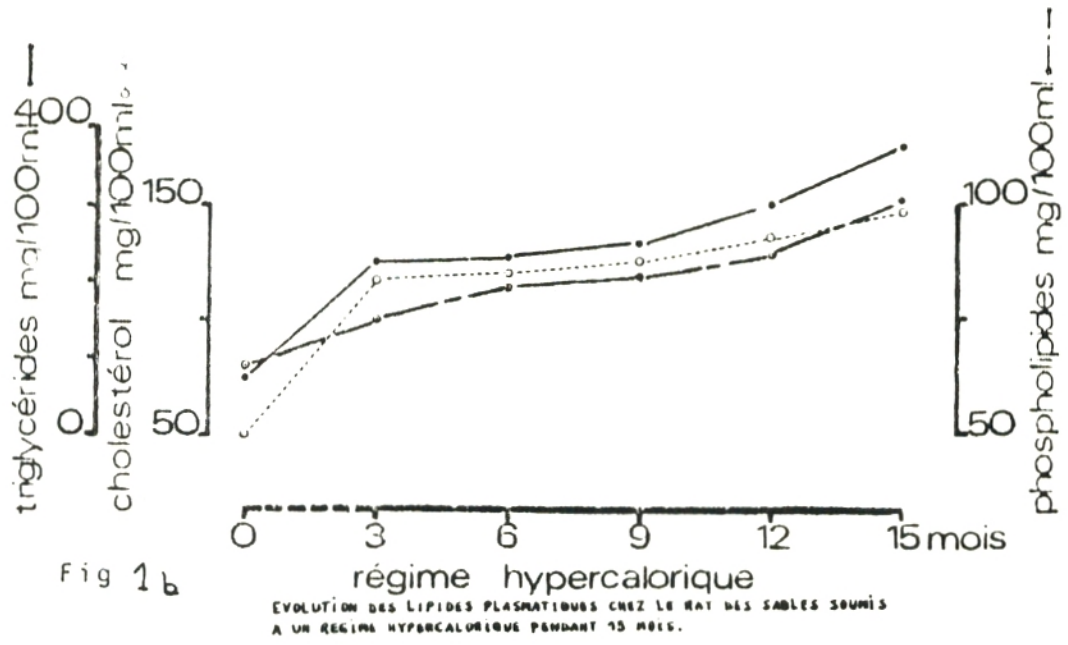


Fig. 3a

EVOLUTION DE CERTAINS PARAMETRES CHEZ LES RATS DES SABLES BRUNS DIABÉTIQUES PUIS SOUÉS A UN RÉGIME VÉGÉTAL PENDANT 12 MOIS.



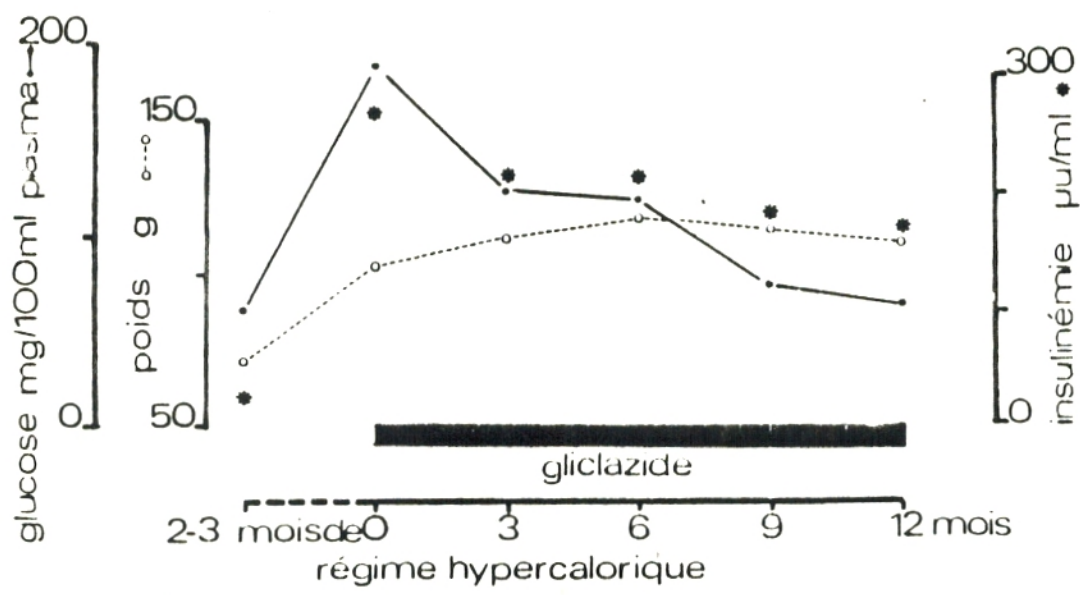


Fig 4B - EFFETS DU GLICLAZIDE ADMINISTRÉ PENDANT 12 MOIS SUR CERTAINS PARAMÈTRES CHEZ LE RAT DES SABLES NOURRI DIÉTIQUE PAR UN RÉGIME STANDARD.

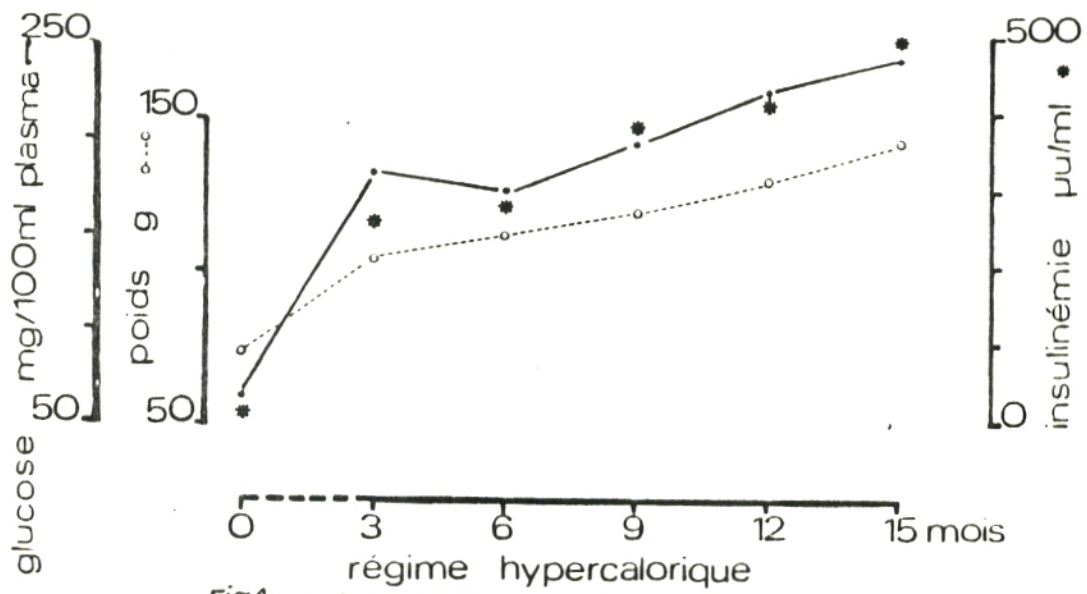


Fig 1 ÉVOLUTION DE CERTAINS PARAMÈTRES CHEZ LE RAT DES SABLES SOUMIS À UN RÉGIME HYPERCALORIQUE PENDANT 15 MOIS.