



**HAL**  
open science

**Médicaments à effet rénal administrés chez la mère pendant la gestation : néphrotoxicité éventuelle chez le nouveau-né : modulations pharmacologiques du développement fonctionnel rénal foetal et néonatal chez le rat après exposition in-utero à la Gentamicine ou au Furosémide**

Pierre Boudzoumou-Nganga

► **To cite this version:**

Pierre Boudzoumou-Nganga. Médicaments à effet rénal administrés chez la mère pendant la gestation : néphrotoxicité éventuelle chez le nouveau-né : modulations pharmacologiques du développement fonctionnel rénal foetal et néonatal chez le rat après exposition in-utero à la Gentamicine ou au Furosémide. Médecine humaine et pathologie. Université Henri Poincaré - Nancy 1, 1989. Français. NNT : 1990NAN10550 . tel-01747178

**HAL Id: tel-01747178**

**<https://hal.univ-lorraine.fr/tel-01747178v1>**

Submitted on 29 Mar 2018

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



## AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : [ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr](mailto:ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr)

## LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

[http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg\\_droi.php](http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php)

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

UNIVERSITE DE NANCY I

1989

FACULTE DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES ET BIOLOGIQUES

---

**MEDICAMENTS A EFFET RENAL ADMINISTRES  
CHEZ LA MERE PENDANT LA GESTATION :  
NEPHROTOXICITE EVENTUELLE CHEZ LE NOUVEAU- NE**

Modulations pharmacologiques du développement rénal foetal et néonatal chez le rat après exposition in-utero à la Gentamicine ou au Furosémide

---

**THESE**

présentée et soutenue publiquement le 28 Novembre 1989  
pour obtenir

**le DOCTORAT DE L'UNIVERSITE DE NANCY I  
Mention : PHARMACOLOGIE**

par

**BOUDZOUMOU - NGANGA Pierre**

---

Membres du Jury

Président : Monsieur J.P. MALLIE Professeur

Rapporteurs : Messieurs - M. JACQUE Professeur  
- A. MINN Chargé de Recherche CNRS

Examineurs : Messieurs -B. BANNWARTH Maitre de conférence  
- M. DAUCA Professeur  
- H. GERARD Professeur

## PLAN

	<b>Pages</b>
<b>Avant-Propos</b>	
<b>Introduction</b>	<b>1</b>
<b><u>CHAPITRE I</u></b>	
<b><u>Organisation structurale du rein de mammifère</u></b>	<b>3</b>
<b>I - Morphologie macroscopique du rein</b>	<b>3</b>
- Rein multipapillaire	4
- Rein unilobé	5
<b>II - Vascularisation rénale macroscopique</b>	<b>6</b>
<b>III - Structure microscopique et vascularisation du néphron</b>	<b>6</b>
A) - Caractéristiques histologiques du néphron	8
B) - Hétérogénéité des néphrons	9
<b><u>CHAPITRE II</u></b>	
<b><u>Développement anatomique et fonctionnel du rein</u></b>	<b>13</b>
<b>I - Morphogenèse du rein</b>	<b>13</b>
- Origine et mise en place du territoire néphrogène	13
- Morphogenèse des néphrons	17
<b>II - Les fonctions rénales et leur développement</b>	<b>22</b>
A) - La filtration glomérulaire	22
1°) - Le filtre glomérulaire et les mécanismes de filtration	22
2°) - La filtration glomérulaire au cours du développement	24
B) - Les fonctions tubulaires	27
1°) - Mécanismes de transport des ions et des solutés	27
2°) - Transport rénal des composés organiques	28

3°) - Modèles de transport d'eau et d'électrolytes au cours du développement	28
a) - cas des néphrons superficiels	28
b) - cas des néphrons juxtamédullaires	30
4°) - Mécanismes de concentration de l'urine par le rein	30
a) - Le système de multiplication par contre courant	31
- mise en évidence du dispositif de circulation par contre-courant	31
- le gradient cortico-papillaire	31
* au niveau de la médullaire externe	31
* au niveau de la médullaire interne	33
b) - Fonctionnement de la branche grêle descendante	34
c) - Rôle du tube collecteur dans la concentration urinaire	35
5°) - Maturation des mécanismes de concentration de l'urine	35

### CHAPITRE III

<u>Le Rein et le médicament</u>	37
A) - Rappel sur le transport rénal des médicaments	37
- filtration	37
- sécrétion	37
- accumulation rénale des médicaments	37
B) - Adaptation du rein maternel à la grossesse : hémody- namique rénale pendant la grossesse	37
C) - Le rein du nouveau-né et l'administration transplacen- taire des médicaments	38
- passage transplacentaire des xénobiotiques	38
- effets sur le rein du nouveau-né	39

## CHAPITRE IV

<b><u>Pharmacologie des aminoglycosides</u></b>	<b>40</b>
A) - <i>Données pharmacologiques et modèles pharmacocinétiques des aminoglycosides</i>	<b>40</b>
a) - <i>Pharmacologie des aminoglycosides</i>	<b>40</b>
b) - <i>Modèles pharmacocinétiques</i>	<b>40</b>
B) - <i>Toxicité des aminosides : cas de la néphrotoxicité</i>	<b>41</b>
1°) - <i>Manifestations cliniques</i>	<b>41</b>
2°) - <i>Accumulation tissulaire et mécanisme de transport transtubulaire</i>	<b>41</b>
a) - <i>Accumulation dans le rein</i>	<b>41</b>
b) - <i>Mécanisme d'accumulation</i>	<b>42</b>
3°) - <i>Mécanismes subcellulaire de la néphrotoxicité</i>	<b>42</b>
a) - <i>Interactions aminoglycosides - lysosomes</i>	<b>42</b>
b) - <i>Interactions aminoglycosides mitochondries</i>	<b>43</b>

## CHAPITRE V

<b><u>Pharmacologie des diurétiques de l'anse : données sur le Furosémide</u></b>	<b>44</b>
<b>I - Profil pharmacologique</b>	<b>44</b>
1°) - <i>Action natriurétique</i>	<b>44</b>
2°) - <i>Action hémodynamique</i>	<b>44</b>
3°) - <i>Action sur la libération de rénine</i>	<b>44</b>
4°) - <i>Effets tubulaires directs des prostaglandines sur la réabsorption de l'eau et des sels après administration du Furosémide</i>	<b>44</b>
<b>II - Lieux et mécanisme d'action</b>	<b>44</b>
- <i>Déterminants de l'accès du Furosémide aux sites d'action</i>	<b>45</b>
- <i>Mécanisme d'action</i>	<b>45</b>

<b>III - Pharmacocinétique du Furosémide</b>	<b>45</b>
- Modelisation du comportement pharmacocinétique global chez le rat	<b>46</b>
<b>IV - Variations de la pharmacocinétique du Furosémide chez le     nouveau-né</b>	<b>46</b>

## CHAPITRE VI

<b><u>Matériels et méthodes</u></b>	<b>48</b>
<b>I - Introduction</b>	<b>48</b>
<b>II - Protocole expérimental décrivant le mode de traitement des     rates gestantes</b>	<b>48</b>
<b>III - Mise en route de l'étude sur les jeunes rats</b>	<b>49</b>
A) - Protocole	<b>49</b>
B) - Test de clairance : principe	<b>49</b>
C) - Test d'hydropénie : principe	<b>50</b>
D) - Influence de la lactation	<b>51</b>
<b>IV - Analyse des échantillons</b>	<b>54</b>
A) - Détermination cinétique de la créatinine	<b>54</b>
B) - Dosage du phosphore	<b>56</b>
C) - Dosage des électrolytes par électrodes spécifiques	<b>57</b>
1°) - Na <sup>+</sup> et K <sup>+</sup>	<b>57</b>
2°) - Cl <sup>-</sup>	<b>60</b>

## CHAPITRE VIII

<b><u>Résultats</u></b>	<b>67</b>
<b>I - Le Furosémide</b>	<b>67</b>
A) - Réponse rénale chez les NN de rats dans les conditions d'accès libre à l'approvisionnement en eau et nourriture	<b>67</b>

- Etude de la variation pondérale	67
* chez les mères	67
* chez les nouveaux-nés	67
- Débit urinaire	69
- Concentration protéiques sériques	69
- Filtration glomérulaire	69
- Excrétion et rapport U/P de la créatinine	69
- Fraction d'excrétion hydrique	72
- Effet sur la Natrémie et Kaliémie	72
- Composition et excrétion urinaire	72
* composition	72
* excrétion absolue	75
* fractions d'excrétion des électrolytes	77
B) - Réponse rénale dans les conditions d'Hydropénié	82
- réponse des animaux à D12	82
- réponse des animaux à D42	82
<b>II - La Gentamicine</b>	<b>86</b>
A) - Réponse rénale des NN dans les conditions normales d'allaitement	86
- Variations pondérales	86
* chez les mères	86
* chez les nouveaux-nés	86
- Diurèse	89
- Filtration glomérulaire	89
- Concentrations protéiques sériques	89
- Concentrations plasmatique de la créatinine	92
- Rapport U/P créatinine	92
- Fraction d'excrétion hydrique (FEH2O)	92
- Composition et excrétion urinaire	92
- Fraction d'excrétion	93
- Corrélation PC/FENa, FEK, U/P cr et U/P cr/FENa, FEK	98
B) - Influence de la lactation sur la néphrotoxicité induite in-utero par la G75 chez les nouveaux-nés	104
- Variation pondérale : poids du rein	104
poids du corps	107



- Débits urinaires	109
- Filtration glomérulaire	109
- Fonctions tubulaires	111
* U/P cr . série croisée	111
. série non croisée	111
* Transports et excrétion ioniques	113
. série non croisée : TT et GG	113
. série croisée : TG et GT	113
C) - Résultats des observations en microscopie électronique	119

### CHAPITRE IX

<u>Discussion</u>	122
- Furosémide	123
- Gentamicine	129

### CHAPITRE X

<u>Conclusion générale</u>	136
<u>Références Bibliographiques</u>	137

**A notre Directeur et Président de Thèse  
Monsieur le Professeur J.P. MALLIE  
Laboratoire de Néphrologie  
Faculté de Médecine Nancy I**

*Nous lui sommes très reconnaissant de l'honneur qu'il nous a fait en nous confiant ce travail et en acceptant la présidence de ce jury. Dans son laboratoire nous avons été accueilli et guidé avec une constante bienveillance.*

*Au cours de ces années de thèse, nous avons apprécié sa rigueur de jugement, son constant souci de perfection et sa grande expérience. Qu'il nous permette de lui exprimer ici notre reconnaissance et respectueux attachement.*

***A Monsieur A. MINN  
Chargé de Recherche CNRS  
Centre de Médicament***

*Nous nous souvenons de ces grandes qualités humaines. Il nous a fait l'honneur d'accepter de juger ce travail.  
Qu'il soit assuré de notre profonde gratitude.*

***A Monsieur le Professeur M. JACQUE  
Laboratoire de Pharmacodynamie  
Faculté de Pharmacie Nancy I***

*Nous tenons à lui exprimer notre sincère reconnaissance pour avoir bien voulu accepter de juger ce travail.*

**A Monsieur le Docteur B. BANNWARTH**  
**Laboratoire de Pharmacologie**  
**Faculté de Médecine Nancy I**

*Pour avoir accepté, en remplacement de Monsieur le Professeur P. NETTER de juger ce travail et faire partie du jury d'examen, nous lui manifestons notre gratitude pour sa disponibilité.*

**A Monsieur le Professeur M. DAUÇA**  
**Laboratoire de Biologie Cellulaire de Développement**  
**Faculté des Sciences Nancy I**

*Pour l'intérêt qu'il a manifesté à l'égard de notre travail, nous tenons à lui exprimer notre sincère reconnaissance.*

**A Monsieur le Professeur H. GERARD**  
**Laboratoire d'Histologie-Embryologie**  
**Faculté de Médecine Nancy I**

*Nous le remercions pour sa grande disponibilité. Sa présence dans ce jury nous honore.*

*Qu'il trouve ici l'expression de notre respectueuse estime.*

### ***A Mes Parents***

*Qui m'ont donné l'exemple d'une vie de droiture, de travail et d'esprit d'abnégation.*

*En témoignage de toute ma reconnaissance et de mon amour filial.*

*Je leur dédie ce travail.*

### ***A mes Frères et Soeurs***

*Qui de loin ou de près m'ont toujours apporté leur soutien moral dans des moments difficiles.*

*Ce travail est aussi le leur.*

*Amour fraternel.*

- A tous les membres du Personnel du Laboratoire d'Exploration  
Fonctionnelle gaz du sang du CHR.

- A Mesdames Chantal COLLIN  
Eliane VAUTIER  
Ghilaine DROUOT

Que toutes soient assurées de mes remerciements pour leur  
collaboration technique.

*A toute la Communauté Congolaise de Nancy.  
Mes remerciements pour leur sympathie.*

***A Melle ZIEGLER Myriam***

*pour avoir assuré la réalisation dactylographique de ce travail  
Qu'elle trouve ici mes sincères remerciements.*

## ABBREVIATIONS

ADH = *Hormone Antidiurétique*

BB = *Bordure brosse*

CC = *Coefficient de calibration*

Ccr = *Clairance de la créatinine*

DCRE. = *Débit de circulation plasmatique renal effectif*

DFG = *Débit de filtration glomérulaire*

DLH = *Descending Limb of Henlé (branche grêle descendante de Henlé).*

ENa, EK, ECl et EPi = *Excrétion urinaire absolue de Na, K, Cl et Pi*

FEH<sub>2</sub>O = *Fraction d'excrétion hydrique*

FENa, FEK, FECl et FE<sub>Pi</sub> = *Fraction d'excrétion des électrolytes Na, K, Cl et Pi.*

FG = *Filtration glomérulaire*

F75 = *Animaux traités au furosémide à la dose de 75 mg/kg/j*

G75 = *Animaux traités à la gentamicine à la dose de 75 mg/kg/j*

TG = *Nouveau-né traité in-utero à la gentamicine et allaité par une mère témoin*

TT = *Nouveau-né témoin allaité par une mère témoin.*

GT = *Nouveau-né témoin allaité par une mère traitée à la Gentamicine*

GG = *Nouveau-né traité in-utero à la Gentamicine et allaité par mère traité à la gentamicine.*

MB = *Membrane basale*

MBG = *Membrane basale glomérulaire*

ME = *Médullaire externe*

ME1 = *Zone externe de la médullaire externe*

ME2 = *Zone interne de la médullaire externe*

MI = *Médullaire interne*

ND = *Non déterminé*

NN = *Nouveau-né*

NS = *Non significatif statistiquement*

PNa, PK, PCl = *Perméabilité aux ions Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> et Cl<sup>-</sup>*

PG = *Prostaglandine*

Puf = *Pression d'ultrafiltration*

P.O. = *Pression osmotique*

TAL (H) = *Thick ascending limb (of Henle)*

TC = *Tube collecteur*

TCD = *Tube contourné distal*



*TCP = Tube contourné proximal*

*TD = Tube distal*

*TP = Tube proximal*

*TFG = Taux de filtration glomérulaire*

*TFGSN = Taux de filtration d'un seul néphron*

*U/P = Rapport de concentration urinaire sur la concentration plasmatique.*

# INTRODUCTION

*'En toute chose, il n'y a qu'une manière de commencer quand on veut discuter convenablement : il faut bien comprendre l'objet de la discussion'.*

PLATON


## INTRODUCTION

Les reins des animaux adultes sont une cible de choix pour beaucoup de substances potentiellement toxiques à élimination rénale. Les processus physiologiques qui confèrent au rein un rôle éminemment important dans le maintien de l'homéostasie, exposent aussi son parenchyme à de fortes doses de certains toxiques en cas d'accumulation rénale. La néphrotoxicité qui s'ensuit a abondamment été décrite chez l'adulte. Cependant chez le nouveau-né très peu de travaux ont été consacrés à cette néphrotoxicité, encore moins chez le fœtus lorsque le médicament a été administré chez la mère pendant la grossesse, en dehors de quelques études tératologiques. Le rein d'un sujet jeune a souvent été considéré comme résistant aux effets toxiques iatrogènes. Il semble cependant peu concevable qu'une substance dont la potentialité néphrotoxique ne souffre d'aucune objection chez l'adulte, ne puisse pas avoir un effet chez l'animal jeune. La réalisation d'un modèle expérimental animal a permis de mettre en évidence l'action de médicaments très utilisés comme les aminoglycosides dont la néphrotoxicité est bien établie ou le Furosémide, diurétique de l'anse de Henlé non néphrotoxique mais à l'effet fonctionnel puissant. Ainsi a été démontrée l'existence d'une néphrotoxicité néonatale dose-dépendante acquise in-utero chez le rat, après exposition à la gentamicine. En outre des travaux ont montré que le Furosémide induit probablement un retard dans la maturation des glomérules.

Le propos de notre étude a été de rechercher si une dysmaturation fonctionnelle est contemporaine des altérations morphologiques et d'en apprécier l'importance pendant la croissance en période néonatale et chez le jeune rat. Ce risque de néphrotoxicité in-utero pourrait concourir à promouvoir la restriction d'emploi de ces médicaments chez la femme enceinte. Le rat adulte a un comportement rénal voisin de celui de l'homme. La particularité du nouveau-né de rat réside dans sa maturation rénale qui se poursuit après la naissance, selon un processus identique à la maturation rénale chez l'homme in-utero, avant la naissance. Cette maturation rénale chez le rat est très superposable à la maturation rénale chez le prématuré.

Ainsi de l'observation du développement de la fonction rénale chez le nouveau-né de rat, on peut apprécier ce qui se passe dans le rein de l'enfant avant la naissance.

La néphrotoxicité de la gentamicine étant bien connue, le furosémide ayant été démontré induire un retard de la différenciation glomérulaire rénale nous nous sommes donc proposés d'étudier les perturbations fonctionnelles du rein de l'enfant après que le médicament a été administré chez la mère pendant la grossesse et le devenir de ces altérations durant la croissance.



CHAPITRE I

**ORGANISATION STRUCTURALE  
DU REIN DE MAMMIFERE**

*'Savoir que l'on sait ce que l'on sait,  
et savoir que l'on ne sait pas ce que  
l'on ne sait pas, voilà la véritable  
science'.*

*CONFUCIUS*

## ORGANISATION STRUCTURALE DU REIN DE MAMMIFERE

### I - MORPHOLOGIE MACROSCOPIQUE DU REIN

Le rein de mammifère est multiforme ; celui de l'homme est multilobé, chaque lobe est une masse pyramidale dont la base forme la surface du rein, le sommet constituant la papille. Chez les rongeurs et les insectes, le rein est unipapillaire, pouvant être considéré comme un simple lobe se terminant dans une seule papille ; c'est le type de rein le plus simple. En anatomie comparative, un tel rein correspond à un reniculus. Il est commun à toutes les petites espèces et permet une meilleure compréhension de l'architecture de base (1). Tous les autres types de rein peuvent être considérés comme des adaptations par rapport aux dimensions corporelles. Cela aboutit chez l'homme à la constitution d'un rein multipapillaire ou multilobé en surface. Mais chez l'adulte la fusion est si complète qu'il ne persiste aucune trace visible de cette constitution. A la surface du rein du fœtus la lobulation est évidente (2). Le rein de chien est identique à celui de l'homme.

Les figures ci-après montrent une description morphologique du rein :

a) multipapillaire en coupe sagittale                      Fig. 1

b) unilobé en coupe transversale                              Fig. 2

En coupe sagittale, le rein présente deux grandes régions : le cortex et la médullaire.

- Le cortex rénal : présente en alternance des zones dites labyrinthiques et des rayons médullaires. Les labyrinthes corticaux renferment des glomérules et des tubes contournés proximaux et distaux. Dans les rayons médullaires on trouve, centrés autour des canaux collecteurs, des segments droits descendant vers la médullaire ou en remontant : pars recta des tubes proximaux, anses larges ascendantes. Au fur et à mesure qu'on s'enfonce dans le cortex, ces rayons médullaires s'élargissent puisque contenant des segments droits d'un nombre croissant de néphrons. Ce qui leur vaut l'appellation de Pyramides de FERREIN.

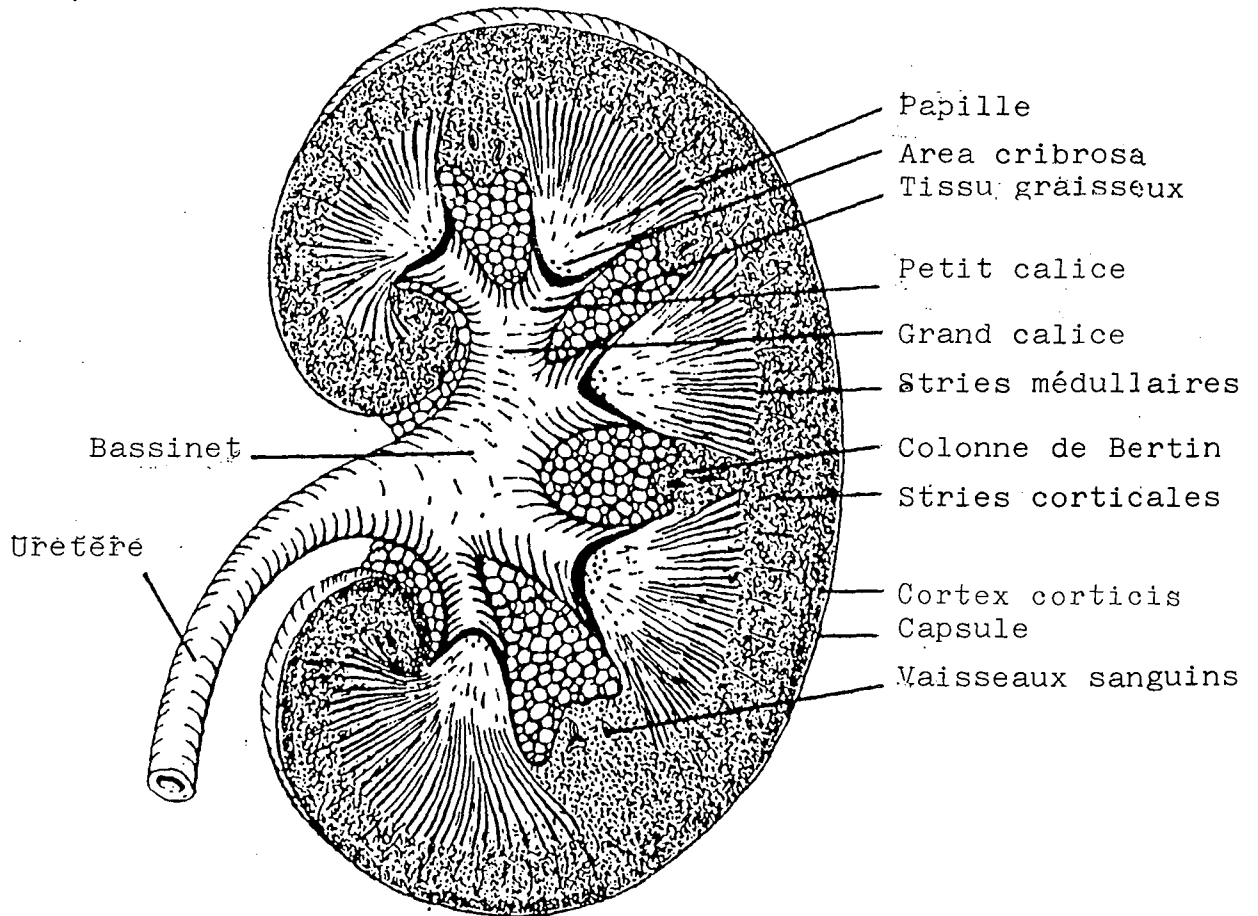


Fig. 1

Coupe sagittale d'un rein multipapillaire.

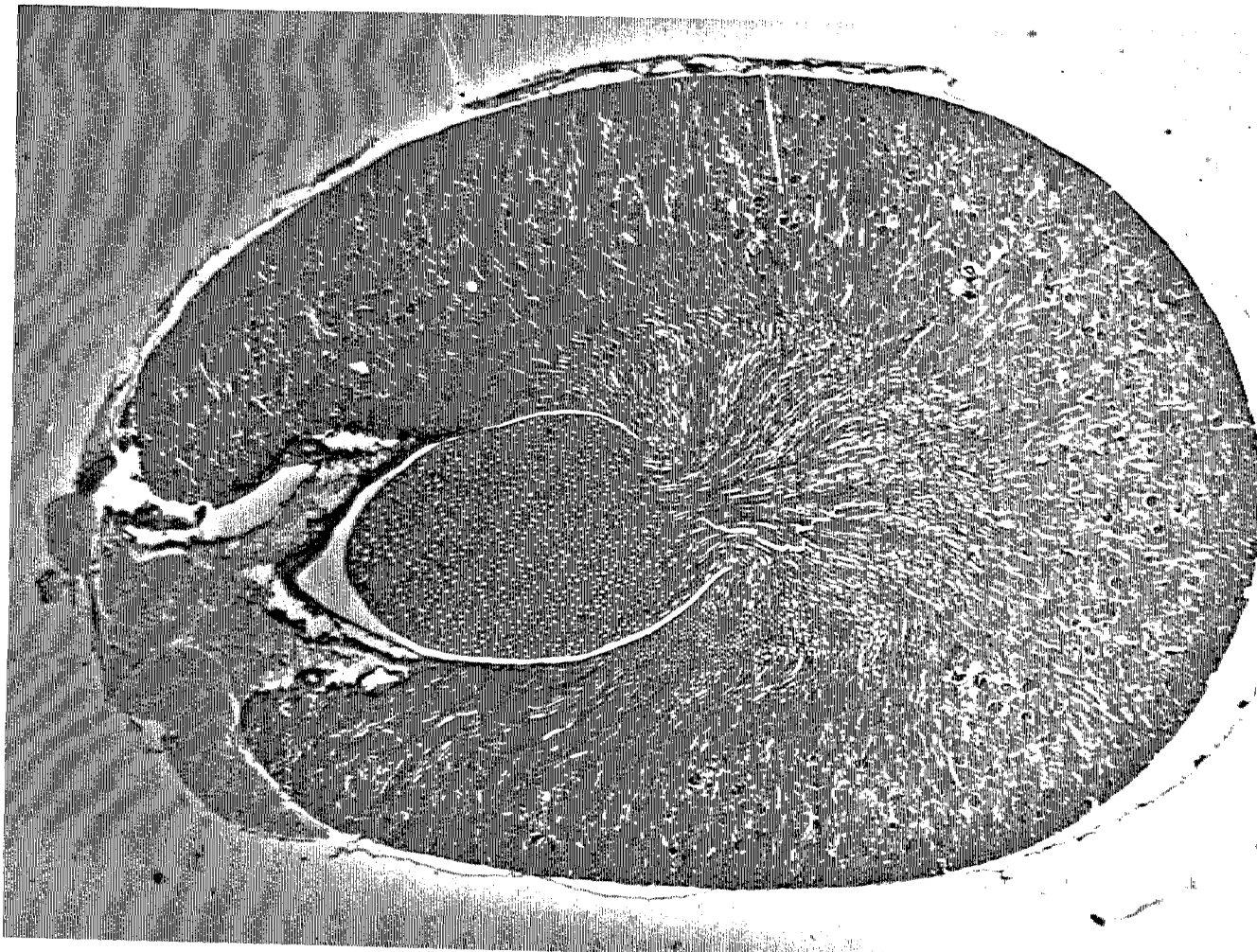


Fig. 2 - Coupe transversale de rein de rat.  
Extrait de Maillet (207).



- La médullaire : ne comporte que des segments droits, disposés radialement, parallèles les uns aux autres : pars recta, anses grêles descendantes et ascendantes, canaux collecteurs. Elle présente une succession de zones concentriques caractéristiques (zone externe de la médulla externe ME1, zone interne de la médulla externe ME2, et la médullaire interne) dues à la nature des segments présents dans chaque zone. Les canaux collecteurs s'ouvrent à la pointe de la (ou des) papille(s), dans le pelvis auquel fait suite l'uretère.

## **II - VASCULARISATION RENALE MACROSCOPIQUE**

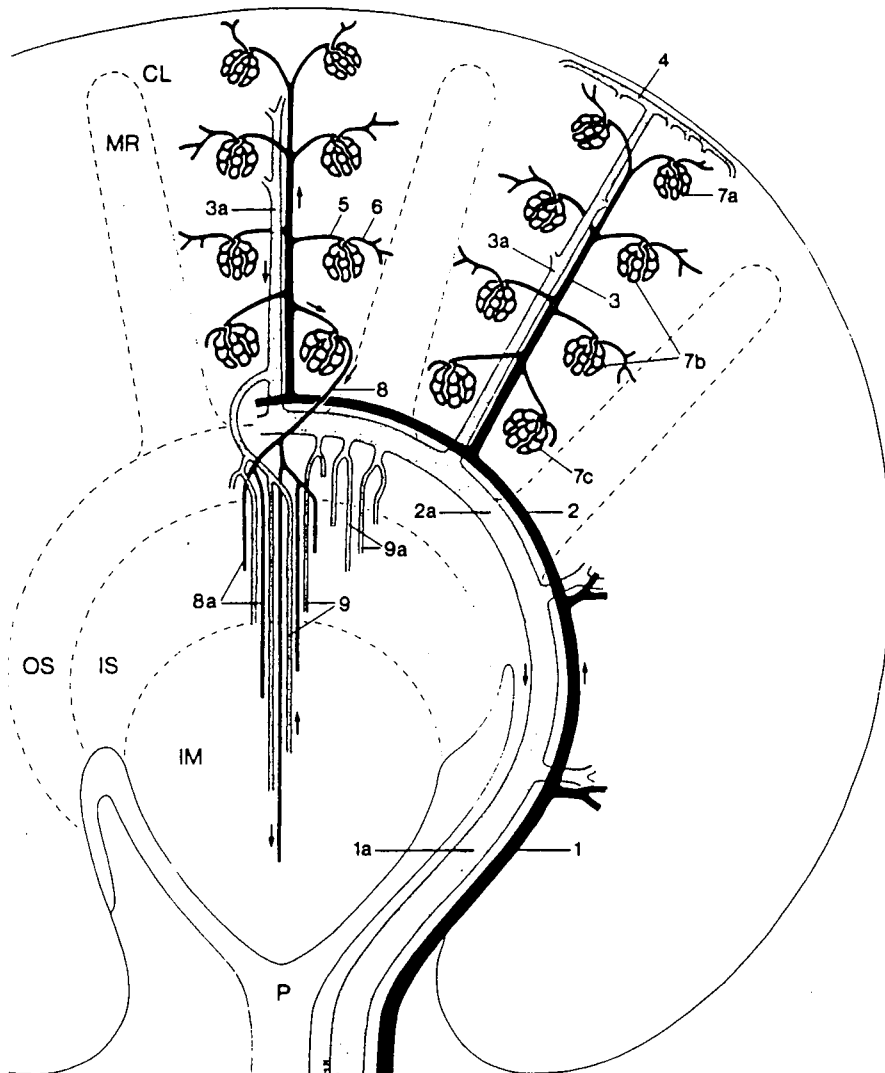
En général, chaque rein est vascularisé à partir d'une seule artère rénale qui émerge de l'aorte abdominale juste en-dessus de la mésentérique supérieure et des artères surrenales moyennes. ( figure 3 )

La topographie du drainage veineux principal du rein correspond en général à celle de la vascularisation artérielle.

## **III - STRUCTURE MICROSCOPIQUE ET VASCULARISATION DU NEPHRON**

### Le néphron

C'est l'unité structurale spécifique du rein. Grâce à des travaux d'histologie et de microdissection, on connaît la disposition des néphrons. Leur nombre varie selon les espèces : 25.000 chez la souris, 30.000 à 35.000 chez le rat. Chez l'homme on estime à 1 million le nombre d'unités. Chaque néphron comporte un corpuscule rénal ou malpighien (glomérule + capsule de Bowman), auquel fait suite un tube urinaire constitué de plusieurs segments qui se distinguent par les caractéristiques histologiques de l'épithélium tubulaire, et leur position dans le rein. Ainsi distingue-t-on le tube proximal et le tube distal, les deux segments étant connectés par l'anse de Henlé. Les tubules selon les segments ont un diamètre et une longueur variables. Un néphron s'étend du cortex rénal à la médullaire.



- 1/1a = Interlobar artery and vein
- 2/2a = Arcuate artery and vein
- 3/3a = Cortical radial artery and vein
- 4 = Stellate vein
- 5 = Afferent arteriole
- 6 = Efferent arteriole
- 7a/7b/7c = Superficial, midcortical, and juxtamedullary glomerulus
- 8/8a = Juxtamedullary efferent arteriole, descending vasa recta
- 9/9a = Ascending vasa recta (those ascending within a vascular bundle and those independent from a bundle)

Fig. 3. - Schéma de la vascularisation intrarénale.

Les capillaires périlitubulaires ne sont pas représentés.

MR = Rayon médullaire du cortex

CL = Labyrinthe cortical

IM = Médullaire interne

P = Pelvis rénal

A) - Les caractéristiques histologiques des segments tubulaires

- Le tube proximal (TP)

L'épithélium présente du côté luminal une bordure en brosse (BB) et du côté baso-latéral, une membrane basale avec des interdigitations contenant de nombreuses mitochondries. Le tube proximal n'est pas un segment homogène. Il est histologiquement divisé en parties contournées et partie droite et ultrastructuralement, 3 segments sont différenciés : P1, P2 et P3. Les caractéristiques de l'épithélium se modifient progressivement en s'éloignant du glomérule. La bordure en brosse accroît l'aire cellulaire du côté apical par un facteur de 36. L'organisation générale des 3 segments du tube proximal n'est pas fondamentalement différente dans les néphrons superficiels, micocorticaux et juxtamédullaires.

- Les branches grêles de l'anse de Henlé.

On distingue ultrastructuralement 3 segments :

\* Les branches grêles descendantes des anses courtes. L'épithélium est plus simple et uniforme, reposant sur une membrane basale fine.

\* Les branches grêles descendantes des anses longues (upper part, lower part) : épithélium plus large et diamètre plus grand. Il change au fur et à mesure que l'on descend dans la médulla.

\* Les branches grêles ascendantes. Plus uniformément organisé, cet épithélium est très différent de celui des branches descendantes ; dans la médulla interne, il est caractérisé par des cellules plates et hautement interdigitées.

- Le tube distal droit (TAL)

C'est le segment qui débute à la limite de la Macula Densa. Cette topographie lui vaut une subdivision en TAL médullaire et TAL cortical lequel présente des variations internéphroniques considérables dans sa longueur. Le TAL cortical des néphrons superficiels est plus long que celui des néphrons juxtémédullaires.

- Le tube contourné distal (TCD)

C'est la seconde partie du tube distal. Alors que la portion droite du TD présente des cellules cubiques, le tube contourné distal

a des cellules plus cylindriques ; mais globalement la grandeur, la forme et la structure des cellules bordantes ne sont pas significativement différentes de celle de la portion corticale du TAL. Distalement, le tube contourné distal présente une transition progressive entre les cellules de ce segment tubulaire et les cellules du type collecteurs c'est-à-dire cellules granulaires sombres.

- Le tube collecteur (TC)

La majorité des cellules du système collecteur cortical, appelées cellules claires ou cellules principales sont cubiques. On y distingue une minorité de cellules sombres. Dans la médullaire les cellules du tube collecteur deviennent plus hautes.

- L'appareil juxtamédullaire

Il est composé de la macula densa, du TD, des cellules granulaires des vaisseaux afférents, productrices de rénine, des cellules du mésangium extraglomérulaire.

B) - Hétérogénéité des néphrons

En dépit d'une organisation générale somme toute commune à toutes les espèces, tous les néphrons ne sont pas identiques. En effet en fonction de la longueur de l'anse de Henlé, on distingue des néphrons à anse courte et des néphrons à anse longue.

- Néphrons à anse courte

Ils descendent dans la médullaire externe puis remontent. Dans plusieurs espèces (rat, souris, lapin), les courbures de ces néphrons sont toutes localisées au même niveau dans la zone interne de la médullaire externe, à la limite avec la médullaire interne. Dans d'autres espèces (porc, homme), les anses courtes peuvent former leurs courbures à n'importe quel niveau de la médullaire externe, et même dans le cortex (anses très courtes dites : anses corticales).

- Néphrons à anse longue

Ils tournent à des niveaux variables dans la médullaire interne, (beaucoup tournent déjà à son début). D'autres atteignent des niveaux intermédiaires, et seulement peu atteignent le sommet de la

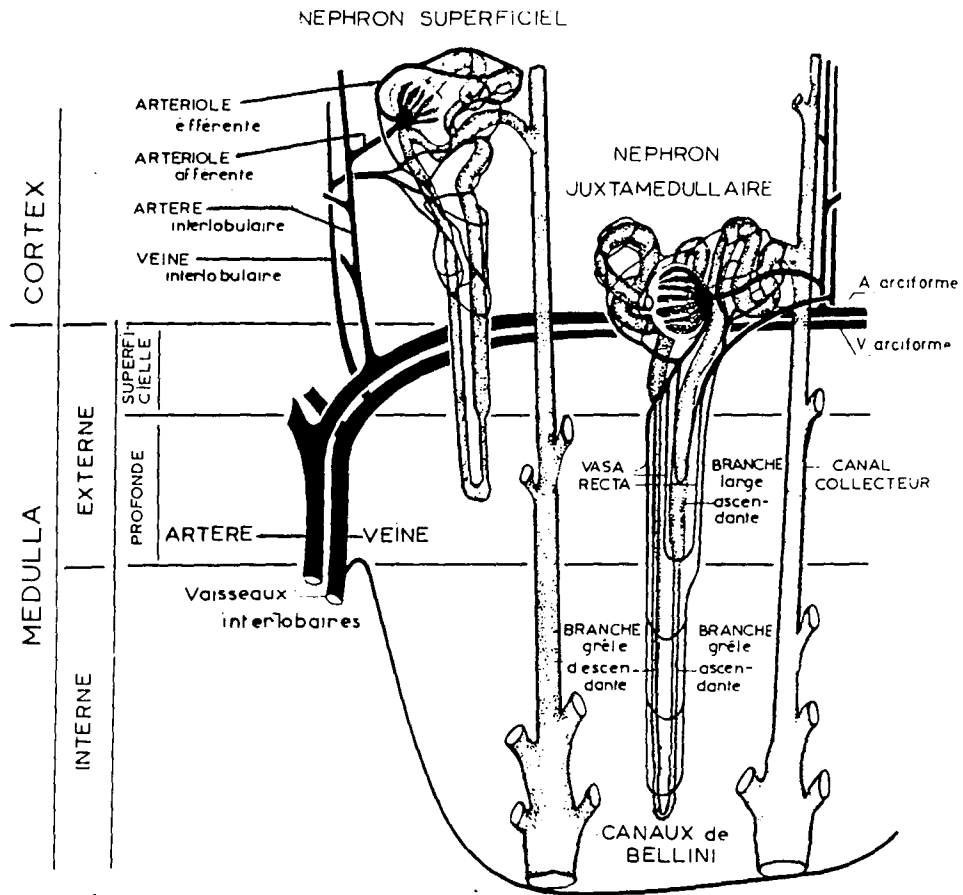


Fig. 4. - Définition des différentes zones qui composent le rein.  
N.B. Organisation très particulière de l'appareil vasculaire du néphron juxtamédullaire.  
Extrait de ROUFFIGNAC C.(33)

papille. Donc le nombre d'anses est successivement réduit le long de la médullaire interne vers la papille. Concernant le rein de rat, on a calculé que seulement à peu près 1500 des 10.000 anses longues atteignent la 2<sup>e</sup> moitié de la médullaire interne. Le dernier millimètre de la médulla est atteint seulement par 250 anses longues. Cette chute dramatique établit la forme caractéristique de la médulla interne (idem pour la chute des TC et des vaisseaux).

Une 2<sup>e</sup> classification de la population néphronique utilise la localisation corticale des glomérules. On distingue les néphrons corticaux superficiels, moyens et juxtamédullaires. Les néphrons corticaux superficiels ont leur glomérule situé à 0,5-1mm en dessus de la surface capsulaire ; les néphrons moyens dans la profondeur "mi-corticale", mais au-dessus des néphrons juxtamédullaires, qui eux ont leur glomérule localisé immédiatement au-dessus de la jonction cortico-médullaire (fig.4). La localisation d'un glomérule particulier ne coïncide pas toujours avec la longueur de l'anse de Henlé de ce néphron. Tous les 3 types de corpuscules rénaux peuvent être rattachés à la fois aux néphrons à anse longue et à anse courte. Cependant pour une espèce donnée (ayant des anses longues et courtes), les anses longues appartiennent généralement aux corpuscules rénaux profonds (c'est-à-dire juxtamédullaires et mi-corticaux mais pas tous) et les anses courtes aux corpuscules situés plus superficiellement. La proportion des néphrons à anse courte et à anse longue varie selon les espèces : chez l'homme 10 à 20% d'anse longue (3), chez le lapin environ 42% d'anse courte et 58% d'anse longue. Des néphrons à anses courtes, 28% ont un glomérule situé dans la région micorticale. Parmi les néphrons à anses longues, on distingue à peu près 9% avec des glomérules juxtamédullaires et environ 50% avec des glomérules "micorticaux."

La longueur de l'anse est proportionnelle au pouvoir de concentration urinaire. Certaines espèces dont le castor n'ont que des néphrons à anses courtes et par conséquent n'ont pas de médullaire interne et leur pouvoir de concentration s'en ressent (3). D'autres n'ont que des néphrons à anses longues (les carnivores : chien et chat) ; leur pouvoir de concentration par rapport à d'autres espèces est moyen. Cependant la corrélation entre le rapport des néphrons à anses longues et à anses courtes et le pouvoir de concentration urinaire n'est pas un préalable. La plupart des rongeurs qui ont un pouvoir de concentration élevé, possè-

dent un nombre plus grand de néphrons à anses courtes que de néphrons à anses longues (rat, souris et hamster doré). Certains rongeurs adaptés à la vie désertique (*Psamomys*, *Mérion*) ont la papille très développée, et la différence de volume entre glomérule superficiel et juxtamédullaire est accentuée. En général les glomérules juxtamédullaires sont plus gros.

A côté de cette hétérogénéité morphologique, il a été démontré une hétérogénéité fonctionnelle le long du TCP, pour le transport du glucose, aa, Pi, et Cl<sup>-</sup> (4). En effet excepté le Cl<sup>-</sup>, tous ces constituants sont réabsorbés dans les 1ères convolutions du tubule. La pars convoluta a une perméabilité au sodium (PNa) 2 fois plus grande que la pars recta la PNa > PCl<sup>-</sup>. Dans la pars recta PCl<sup>-</sup> > PNa. Tout ceci fait que des modifications de la composition du fluide tubulaire vont survenir au cours de son écoulement le long du TCP. Il existe également une différence entre néphrons profonds et néphrons superficiels. Le rapport PNa/PCl<sup>-</sup> reste le même le long du tubule, mais PNa restant toujours supérieur à PCl<sup>-</sup>. D'autre part, le transport d'eau par les néphrons juxtamédullaires ne dépend que des forces actives alors que dans les néphrons superficiels ce transport dépend à la fois des forces actives et des composantes passives (4).



## CHAPITRE II

# DÉVELOPPEMENT ANATOMIQUE ET FONCTIONNEL DU REIN

*'Ceux qui ont l'esprit de discernement savent  
combien il y a de différence entre deux mots  
semblables, selon les lieux et les circonstances  
qui les accompagnent'.*

*Pascal*



## DEVELOPPEMENT ANATOMIQUE ET FONCTIONNEL DU REIN

### I - MORPHOGENESE DU REIN

Chez l'embryon de tous les vertébrés supérieurs, la génèse du rein s'effectue en 3 étapes successives : formation du pronéphros, du mésonéphros et du métanéphros. Ces trois types d'organes excréteurs se développent à partir du mésoblaste intermédiaire à la suite l'un de l'autre, dans le sens céphalo-caudal de l'embryon. Leur existence est transitoire. L'étude du développement du rein est abordée en examinant successivement d'abord brièvement l'origine et la mise en place du territoire néphrogène, la différenciation du pronéphros et du mésonéphros, puis un peu plus largement l'organogénèse du métanéphros au rein définitif, dont les modalités, particulièrement étudiées chez l'embryon humain sont dans leurs grandes lignes communes à plusieurs espèces.

#### **\*\* Origine et mise en place du territoire néphrogène**

Vers la fin de la 2ème semaine, l'embryon humain particulièrement, est constitué par un disque de cellules arrangées en 2 feuillets superposés :

L'entoblaste et l'ectoblaste. Dans la 3ème semaine, des cellules de l'ectoblaste s'invaginent en profondeur et s'infiltrant entre l'ecto et l'entoblaste, constituant un 3ème feuillet : le mésoblaste. (Fig. 5)

Ce dernier se divise en trois zones :

- le mésoderme para-axial : qui se segmente en somites extérieurement,
- le mésoderme intermédiaire ou territoire néphrogène,
- la lame latérale : qui va se cliver en somatopleure et splanchnopleure bordant le coelome interne. (Fig. 6).

Dans sa partie antérieure, le mésoderme intermédiaire est segmenté ; dans sa partie postérieure, il perd sa métamérisation et constitue le cordon néphrogène. C'est à partir du territoire néphrogène que vont se différencier les trois types d'organes excréteurs : le pronéphros, le mésonéphros et le métanéphros. (Fig. 7)

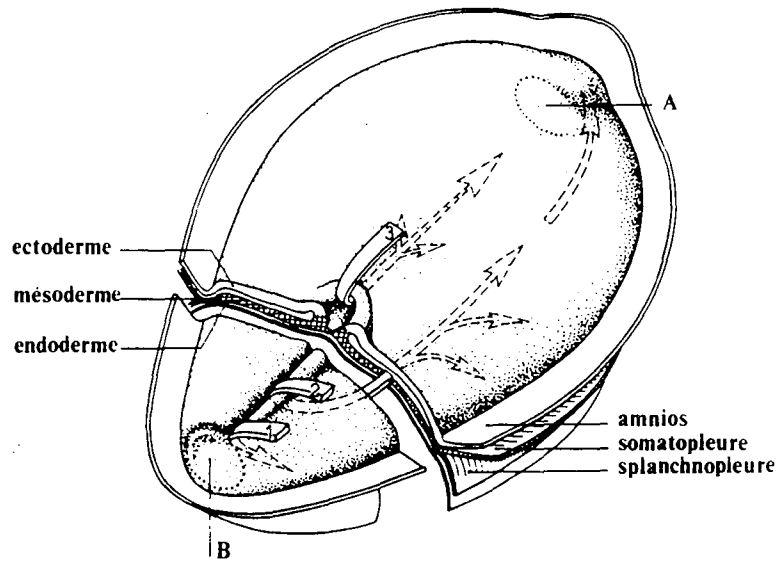


Fig. 5. - Schéma illustrant la mise en place du mésoblaste (gastrulation). Les flèches indiquent le sens de l'invagination du mésoblaste. A et B = zones des futures membranes pharyngiennes et cloacales. Extrait de CROISILLE (5)

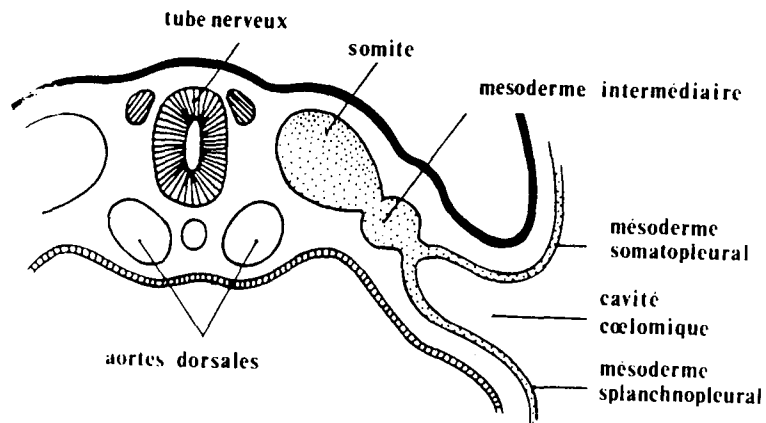


Fig. 6. - Section transversale représentant la segmentation du mésoblaste. Embryon humain de 21 jours. Extrait de CROISILLE V. (5)

- le Pronéphrose

Encore appelé rein céphalique, c'est un organe vestigial rudimentaire et non fonctionnel qui involue très rapidement. Chez l'homme il apparait la 3ème semaine et se différencie progressivement dans le sens antéro-postérieur de la région céphalique du territoire néphrogène. Quand se différencie la dernière paire de pronéphros, les premières ont déjà disparu complètement. Il est non fonctionnel ; la seule fonction qu'on lui connaisse est morphogénétique. En effet de la région pronéphrique est issu le canal excréteur primitif qui sous l'appellation "Canal de Wolff" progresse en direction céphalocaudale, longe un territoire privilégié, le blastème mésonéphrogène dont il induit les cellules à se différencier en tubes sécréteurs du mésonéphros.

- Le Mésonéphros

Se développe graduellement de la région dorsale à la région lombaire de l'embryon. Dans les 1ers stades de la formation du mésonéphros, le canal de Wolff continue sa progression antéro-postérieure. Peu après le passage du canal de Wolff, on voit certaines cellules du blastème s'aggréger pour former de petites condensations de cellules sphériques pleines qui se creusent en vésicules et évoluent pour former des "corps en S" dont une extrémité se différencie en chambre glomérulaire alors que le reste donne naissance aux structures tubulaires. Dans sa progression, le canal émet un diverticule urétéral qui remonte en direction céphalique et pénètre le blastème métanéphrogénique. C'est de la collaboration étroite et de l'interaction réciproque entre l'uretère et le blastème que naîtra le Métanéphros ou rein définitif. A l'exception des tubules qui contribuent à la constitution des voies génitales mâles (canaux afférents assurant la fonction entre testicules et canal épидидymaire) le mésonéphros involue à son tour.

- Le Métanéphros ou rein définitif

Après avoir atteint le cloaque (5ème semaine), le canal de Wolff émet un diverticule creux, le bourgeon urétéral. Celui-ci s'accroît en remontant dans le sens dorso-cranial, se renfle en massue et pénètre le blastème métanéphrogène qui forme une coiffe autour de son extrémité.

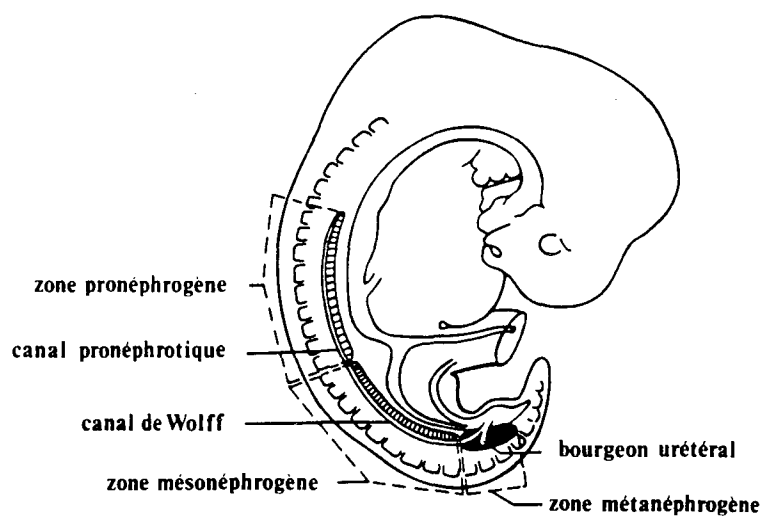


Fig. 7. - Diagramme illustrant l'extension des zones pronéphrogène, mésonéphrogène et métanéphrogène. Les trois territoires sont représentés ensemble sur l'embryon de 27 à 30 jours, vu de profil; en réalité, ils se succèdent dans le temps.

Extrait de CROISILLE Y. (5)

*Le métanéphros a une double origine. Ses voies collectrices se développent à partir du bourgeon uretéral tandis que les tubes sécréteurs proviennent du blastème métanéphrogène.*

- Formation du système collecteur (bassinets, grands et petits calices, papilles et tubes collecteurs)*

*Le bourgeon uretéral va croître et, pénétrant le tissu néphrogène, se divise plusieurs fois par dichotomie, à la suite de ramifications successives (Fig. 8 a,b) (premières ramifications des canaux collecteurs) ; les 3 à 5 premières générations de bourgeons se dilatent (sous l'effet pense-t-on de la pression de l'urine formée par les premières générations de néphrons (5) pour constituer le bassinets, les grands calices ; et parfois pour former les petits calices et les papilles. Ainsi le déclenchement de la fonction rénale semble jouer un rôle essentiel dans la réalisation de la forme définitive du complexe pyelocaliciel.*

*Les tubes de la 6 à la 11ème génération continuent à se développer et donner les tubes collecteurs du rein. On dénombre 6 à 9 générations de branches du tubes collecteurs en comptant les canaux papillaires comme la 1ère génération. Projetée dans le temps, la différenciation des grands calices se termine vers la 12ème semaine et celle des petits calices et papilles vers la 14ème semaine.*

#### **\*\* Morphogénèse des néphrons**

*Les 1ers tubes sécréteurs en voie de formation sont identifiables (stade de "corps en S" primitifs) à la 8ème semaine, et sont accolés à la 3ème génération de branches issues du bourgeon uretéral de la région interpolaire, alors que dans les régions polaires, ils sont associés aux rameaux de la 5ème ou 6ème génération. Les tubules qui portent les 1ers néphrons correspondent à la génération qui forme les petits calices. Ces néphrons disparaissent au cours du développement dans le rein mature on ne retrouve en général que les néphrons induits par les rameaux collecteurs.*

*En effet, les extrémités croissantes des canaux collecteurs dilatées en ampoule, induisent chacune à leur voisinage au sein des cellules du blastème adjacent, la formation d'un néphron dont la 1ère*

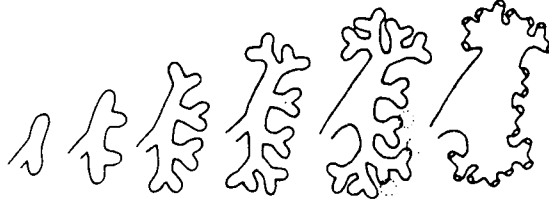


Fig. 8a. - Ramifications du bourgeon urétéral participant à la formation du bassinnet et des grands calices. Les cercles indiquent les localisations possibles des petits calices.

Extrait de CROISILLE (5)

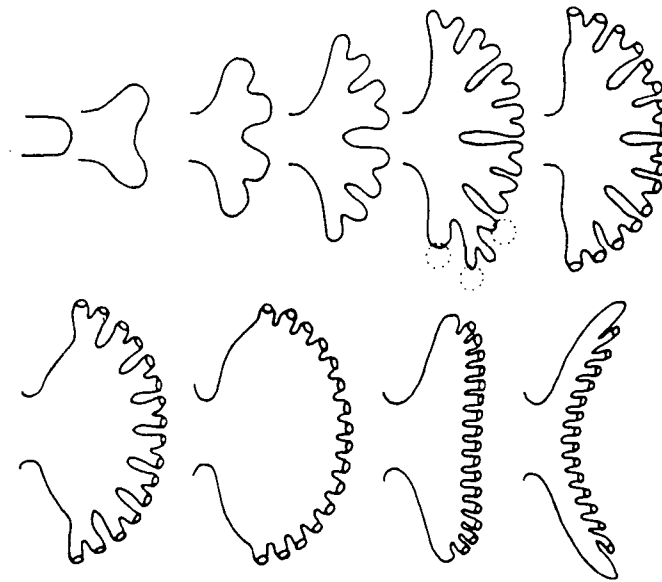


Fig. 8b. - Développement d'un petit calice et de la papille. Les parties proximales se dilatent et confluent formant ainsi une cavité unique. Les cercles indiquent le départ des tubes collecteurs.

Extrait de CROISILLE (5)

ébauche identifiable est la vésicule rénale. Celle-ci se transforme pour donner naissance au "corps en S" qui (Fig. 9) sera à l'origine de toutes les structures épithéliales du néphron : glomérule et différents segments tubulaires. A ce stade, l'ébauche du néphron s'abouche au canal collecteur dont les extrémités croissantes continuent de progresser selon un mode centrifuge par rapport au bourgeon initial, tout en induisant la formation de nouveaux néphrons. En ce qui concerne le développement des différents segments tubulaires, les schémas ci-après résument le processus d'avancement des néphrons, la formation des arcades et l'arrangement des néphrons à la naissance. (Fig. 10 a,b,c)

Les étapes de la morphogénèse du néphron se déroulent de la même manière chez tous les vertébrés supérieurs.

On a vu que les 1ers néphrons se différencient dans la zone des futurs petits calices et canaux de Bellini, donc dans la future médullaire. Dans le rein mature cependant, tous les corpuscules sont rassemblés dans la corticale. L'hypothèse d'une migration ou transport des néphrons induits par les canaux collecteurs s'attachent à la zone de croissance de ces derniers et se trouvent ainsi entraînés vers la zone corticale pendant le processus de ramification. Au cours de ce processus, une ampoule ne peut induire la formation d'une nouvelle vésicule que si celle-ci ne porte pas de néphrons. Ainsi les néphrons sont transportés de génération en génération. A la dernière génération, les ampoules terminales ne se divisent plus mais continuent à induire la formation de nouveaux néphrons ; les segments de connexion des néphrons les plus anciens sont déportés et se trouvent attachés aux segments de connexion des néphrons les plus jeunes. Ainsi forment les arcades.

La croissance des tubes collecteurs continue en induisant la formation de nouveaux néphrons qui s'y déversent individuellement. Dans le rein adulte, les corpuscules des néphrons des arcades sont localisés dans la moitié externe. Donc les néphrons induits dans la région médullaire sont transportés vers le cortex et forment les néphrons juxtamédullaires. Les tubes collecteurs cessant de se ramifier induisent la formation des néphrons corticaux.

Bien qu'à la naissance le rein possède le nombre définitif de néphrons (homme) sa croissance et sa différenciation sont loin d'être terminées. La plus grande partie de la croissance post-natale est due

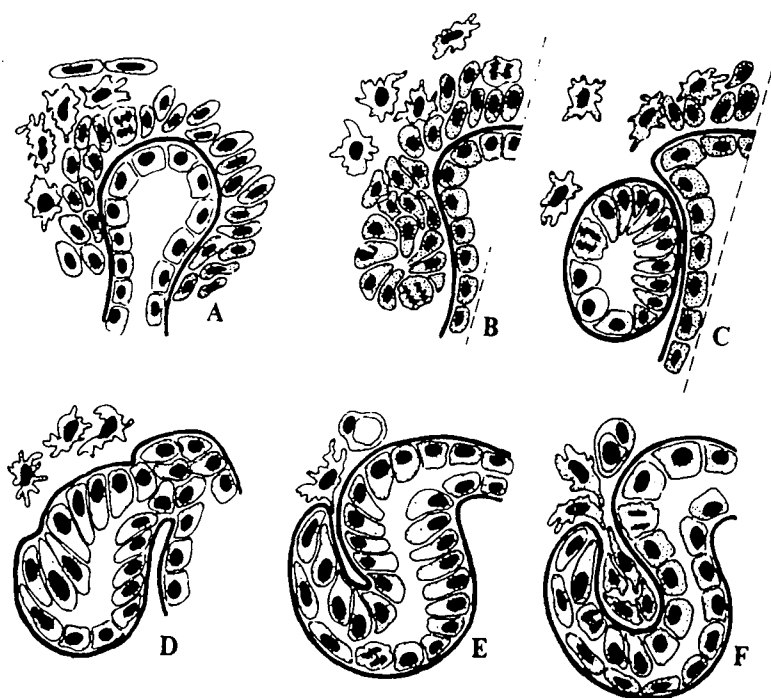


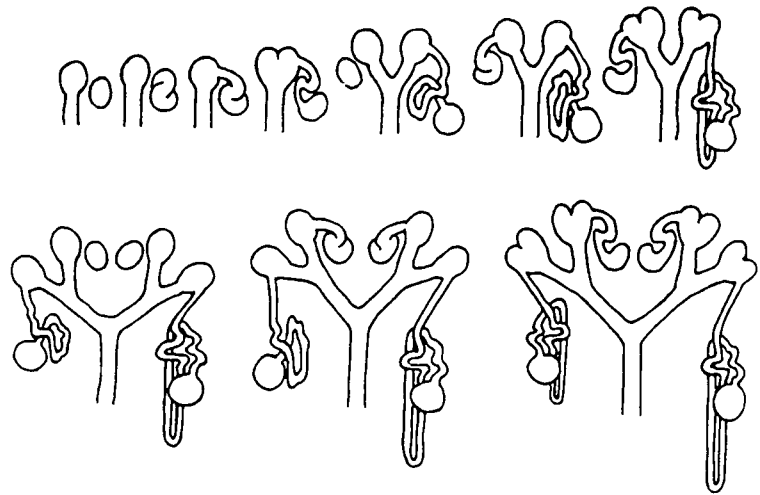
Fig. 9. - Diagramme représentant le développement d'un  
" corps en S ".

Extrait de CROISILLE Y. (5)

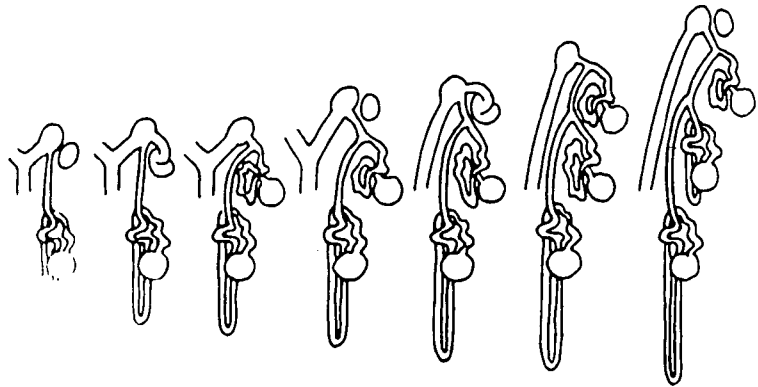


Fig. 10.

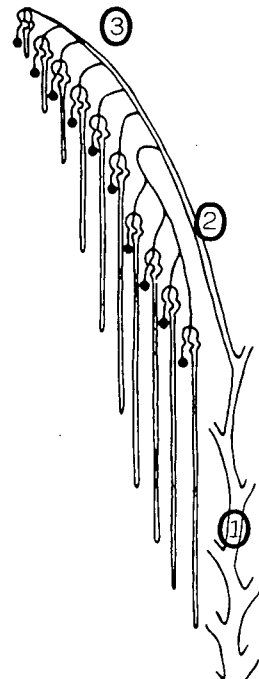
a) - Processus de l'avancement  
des néphrons: ramifications  
des canaux collecteurs ①



b) - Illustration de la formation  
des arcades. ②



c) - Représentation schématique de l'arrangement  
des néphrons à la naissance. Cas le plus général.  
Formation des dernières générations  
de néphrons qui communiquent directe-  
ment avec les canaux collecteurs. ③  
Extrait de CROISILLE Y. (5)



à l'augmentation en longueur des différents segments des tubules notamment le TP. Chez certaines espèces (rat, chien) la néphrogénèse se poursuit après la naissance. Conséquence à la naissance : que la néphrogénèse soit achevée ou qu'elle se poursuive, la médullaire est encore peu développée et tous les néphrons n'ont pas le même degré de maturation. D'où l'hétérogénéité anatomique de la population néphronique. (Fig. 11 a,b).

## II - LES FONCTIONS RENALES ET LEUR DEVELOPPEMENT

### A) - La filtration glomérulaire (FG)

#### 1°) - Le filtre glomérulaire et les mécanismes de filtration

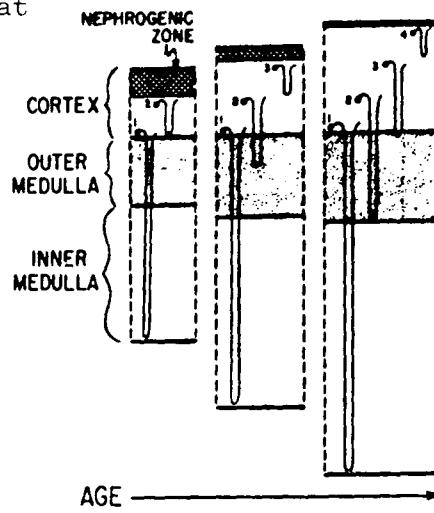
Le glomérule est un réseau de vaisseaux sanguins situés entre les artérioles afférentes et efférentes, unis par des pedicelles de cellules épithéliales et comme invaginés dans le TP. On décrit souvent le glomérule comme un réseau de capillaires. L'artériole afférente se divise, pour former la touffe de capillaires glomérulaires (appelée floculus), en 5 ou 10 branches, qui vont former autant de lobules anastomosés entre eux, avant de se réunir pour former l'artériole efférente. Il n'existe pas d'anastomoses directes (shunt) entre les vaisseaux afférents et efférents qui pourraient court-circuiter la surface de filtration (qui chez le rat est d'environ 0,2 mm<sup>2</sup> et la longueur totale des capillaires de 9 mm). L'endothélium des capillaires a des propriétés et un aspect différent des autres capillaires de l'organisme. En effet, la paroi du capillaire glomérulaire est formée de 3 couches successives :

- couche de cellules endothéliales : perforée de trous,
- membrane basale, acellulaire et formée de 3 couches superposées,
- couche de cellules épithéliales, podocytes appliquées sur la membrane basale (MB) par des pédicelles (expansions cytoplasmiques) qui limitent entre eux des fentes (épithelial slits).

Il semble généralement admis que la membrane basale joue le rôle de principal filtre. Les charges électriques des constituants de la paroi du capillaire interviendraient aussi dans l'arrêt ou limitation du passage des protéines. On a décrit un filet régulier de sites anioniques

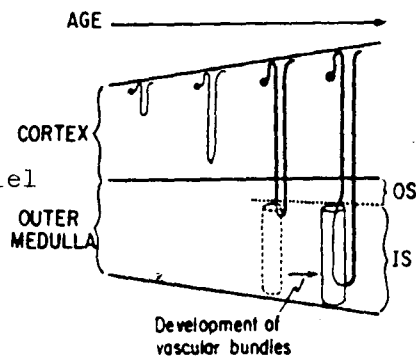
Fig. 11- Schéma simplifié de la néphrogénèse chez le rat

a) Générations successives de néphrons



b) Elongation d'une anse de Henle de néphron superficiel

ELONGATION OF THE FINAL GENERATION OF NEPHRONS



Extrait de EDWARDS (66)

au niveau de la membrane basale et du revêtement des cellules épithéliales. Il se créerait un phénomène de répulsion pour les molécules négativement chargées. On a aussi rapporté la possibilité d'un transport de macromolécules par convection et par diffusion. Et à côté de ces phénomènes, des facteurs purement hémodynamiques peuvent induire une protéinurie.

#### \* Mécanismes de la filtration

L'existence d'une connexion étroite entre le flocculus et le tube rénal a été établie par Bowman en 1848. Le liquide infiltré à travers la paroi des capillaires constitue l'ultrafiltration c'est-à-dire un liquide dépourvu de substances colloïdales, en particulier de protéine. Dans le processus d'ultrafiltration aucun phénomène métabolique n'est consommé. Il dépend uniquement des forces physiques exercées au niveau de la paroi glomérulaire (différence de pression hydrostatique d'une part et de pression osmotique d'autre part des 2 côtés de la paroi).

#### → Hétérogénéité intrarénale de la FG

Elle est liée à la situation des glomérules : les plus petits glomérules sont superficiels et les plus gros sont situés plus profondément. Les plus petits ont une filtration plus faible.

#### 2°) - La filtration glomérulaire au cours du développement (Fig. 12, 13)

L'augmentation du taux de filtration glomérulaire (TFG) observée durant la vie postnatale représente le phénomène le plus répandu rencontré dans la physiologie rénale pendant le développement. Une explication possible à cela : l'augmentation du nombre de néphrons fonctionnels. Ce phénomène existe même chez les espèces achevant leur néphrogénèse pendant la vie intrautérine (6). Cependant le TFG du rein entier et celui d'un néphron (TFGSN) n'évoluent pas de la même façon. Le TFG a une évolution linéaire alors que le TFGSN des néphrons superficiels a une augmentation d'abord lente puis plus rapide. Ceci a été observé chez le rat et le chien. Donc les néphrons superficiels marquent leur contribution à l'augmentation du TFG totale du rein, plus tard dans le développement (6), indiquant que le modèle centrifuge de changement

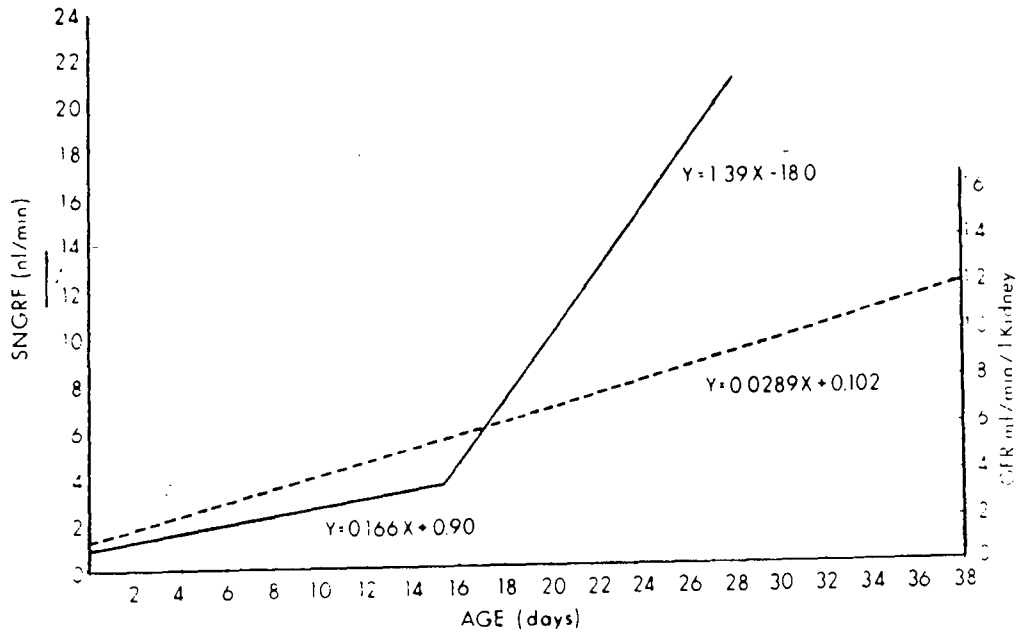


Fig. 12. - Modifications du taux de filtration glomérulaire dans le rein total (-----) et dans une simple unité néphronique (—) au cours du développement chez le Cobaye.

Extrait de SPITZER (6)

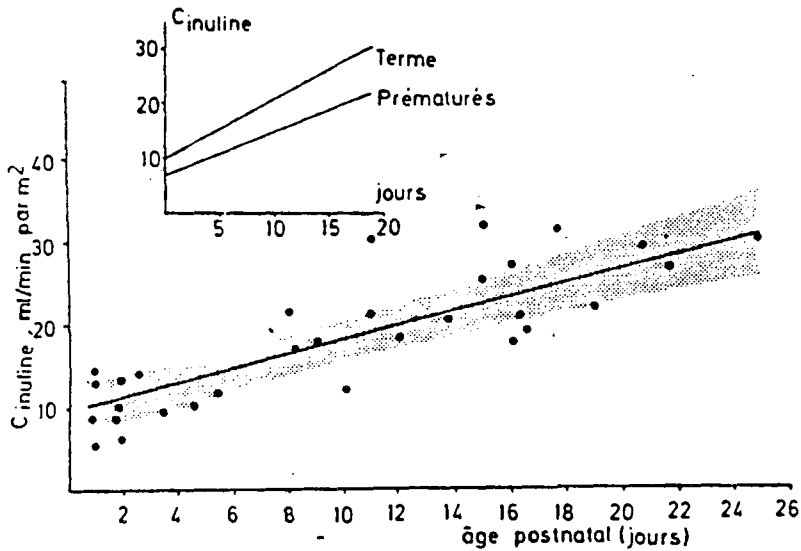


Fig.13 : Développement de la filtration glomérulaire (clairance de l'inuline) au cours des trois premières semaines de vie. Droite de régression et limites de confiance à 0,05 %. L'encart montre l'évolution post-natale de la filtration glomérulaire chez les enfants prématurés et les nouveau-nés à terme (selon Guignard J.P. Extrait de la thèse de Thierry DUPONT (198)

qui caractérise l'ontogenèse et la phylogenèse du rein continue après la naissance. L'augmentation quantitative du nombre de néphrons ne saurait expliquer à elle seule l'augmentation du TFG. Plusieurs facteurs impliquant la surface de filtrations, la pression de filtration, la circulation glomérulaire (6) et la perméabilité de la membrane basale peuvent changer durant le développement, contribuant ainsi à l'augmentation du TFG global du rein et du TFGSN.

Dans la formule  $FG = Puf \cdot k \cdot S$  où  $FG$  = filtration glomérulaire,  $Puf$  = pression d'ultrafiltration,  $K$  = une constante,  $S$  = aire de filtration, toute augmentation de l'un des paramètres entraîne l'augmentation de la FG.

L'augmentation de la TFG est prédominamment causée par une augmentation de l'aire de filtration (X8) à moindre échelle par la pression d'ultrafiltration ( $Puf$ ) (X2,5) et à un degré minime par les changements des capillaires glomérulaires (6). La circulation glomérulaire a été également citée comme facteur augmentant la TFG (7). L'augmentation de la perméabilité est renforcée par les changements morphologiques de l'endothélium (augmentation des pores et ceux observés au niveau de la membrane basale dus aux changements des propriétés physicochimiques : des changements dans la distribution des sites anioniques ont été observés.

Il est bien établi que chez les mammifères nouveaux nés et dans la première période de la croissance et du développement, le TFG du rein total et le TFGSN sont bas non seulement en valeur absolue mais aussi après correction par le poids corporel ou le poids du rein. Fonctionnellement le filtre glomérulaire est une barrière charge et taille sélective vis à vis du passage des macromolécules.

A la naissance, le TFG est bas puis il augmente pendant le développement.

Plusieurs facteurs rendent compte de cette faible valeur initiale (faible surface de filtration, faible pression artérielle, immaturité structurelle des capillaires) et dont la variation pendant le développement contribue à l'augmentation du TFG et TFGSN.

- Variation de la perméabilité de la membrane basale glomérulaire (MBG) au cours du développement. La MBG immature est plus perméable aux macromolécules que la MBG mature, et que la densifica-

tion de la lamina densa évolue avec la mise en place effective de la fonction de la MBG comme barrière de filtration. Pendant la maturation, le nombre réduit de fenestrations endothéliales et de fentes épithéliales servent à réguler l'accès et la sortie de la MBG. Ainsi par cette régulation, le développement synchrone de couches cellulaires permet l'établissement de la FG jusqu'à la pleine formation de celle-ci (8).

- L'augmentation du nombre de fenestrations et de fentes accroît la conductance hydraulique et la surface de filtration pendant le développement (8).

- La 3ème explication possible concernant le faible TFG chez les jeunes animaux implique des considérations hydrodynamiques et physiologiques par vasoconstriction artérielle rénale et un hématoците élevé (9).

#### B) - Les fonctions tubulaires

##### 1°) - Mécanisme de transport des ions et solutés

La nature du transport ionique à travers la membrane (passif ou actif) est définie par certains critères. Ainsi le transport passif résulte d'un gradient passif (hydrostatique, osmotique ou électrochimique) et ce transport tend à dissiper le gradient qui l'engendre. Le transport actif puise son énergie dans les réserves métaboliques intracellulaires. En pratique, pour déterminer la nature du transport ionique, on compare le Potentiel d'Equilibre calculé ( $E_x$ ) et le Potentiel mesuré ( $V$ ).

$V - E_x$  est l'origine du transport net passif de l'ion.

Pour les cations

$V - E_x > 0 \rightarrow$  courant net passif sortant de la cellule

$< 0 \rightarrow$  courant passif entrant

Pour les anions

$V - E_x > 0 \rightarrow$  courant anionique passif entrant dans la cellule

$< 0 \rightarrow$  courant passif sortant

Le tube proximal (TP) assure le transport (réabsorption) de

près de la moitié de tout le flux ionique du néphron. Ces modalités sont également appliquées dans le cas des transports transépithéliaux. Le débit transépithélial peut se faire soit dans le sens de la sécrétion soit dans le sens de la réabsorption. Au niveau de l'épithélium, le tubule rénal présente une hétérogénéité structurale : le TP est dit "poreux"<sup>\*\*</sup> et les autres segments sont dits "serrés"<sup>\*</sup>. Le TP a une résistance transépithéliale faible  $5 \Omega / \text{cm}^2$  et des résistances transmembranaires 100 fois supérieures ; ce shunt détermine les propriétés passives et représente la principale voie de réabsorption du TP.

Les autres segments tubulaires ayant un épithélium dit "serré",<sup>\*</sup> le transport ionique sera essentiellement transcellulaire, chaque segment paraît avoir une perméabilité plus accrue à un type d'ion donné.

## 2°) - Transport rénal des composés organiques

### - Sécrétion des anions et cations organiques

Le potentiel pharmacologique et/ou toxicologique de plusieurs substances anioniques utilisées thérapeutiquement (Pénicilline, Céphalosporine) est déterminé en partie par le taux de sécrétion rénale dans l'urine. Des diurétiques tels que le Furosémide, acide éthacrynique et les thiazides requièrent une sécrétion par le système de transport d'anions pour atteindre les concentrations effectives à leur site d'action le long du tubule du côté luminal de la branche ascendante de l'anse de Henlé. Ce système de sécrétion d'anions a été localisé anatomiquement au niveau du tube proximal (10) avec des taux de sécrétion plus importants pour la pars recta que pour la pars convoluta.

La sécrétion des cations organiques endogènes ou exogènes a été également localisée au niveau du TP.

## 3°) - Modèles de transport d'eau et électrolyte au cours du développement

### a) - Transport d'eau et électrolytes au cours du développement dans les néphrons superficiels.

Le TFG du rein total et le TFGSN du rein superficiel augmentent significativement avec l'âge. Ce modèle développemental a été largement décrit dans la littérature (11 - 18) s'agissant de plusieurs espèces y

\*\* épithélium poreux = à shunt paracellulaire court-circuitant membranes cellulaires

\* épithélium serré = à cellules jointives: d.d.p. transépithéliale élevée



compris le rat et cela ne nécessite aucun commentaire particulier.

Bien que le TFG croisse avec l'âge, le tube proximal réabsorbe une fraction constante de la charge de Na et K filtrée ; de même pour la charge hydrique filtrée puis réabsorbée (19). Ce qui indique que chez le jeune rat dans les conditions normales le couplage glomérulotubulaire existe déjà pour l'eau, le Na et le K. Dans les conditions d'une expansion volumique extracellulaire, la réabsorption fractionnelle de l'H<sub>2</sub>O et Na augmente avec l'âge (20). Vis à vis des ions Cl<sup>-</sup>, le TP ne peut créer ou développer et maintenir un gradient de concentration chez les jeunes rats (de 13 à 15 jours) (ultrafiltrat CL/urine CL = 1). Avec la croissance s'établit et se développe le gradient Cl<sup>-</sup> et de ce fait une capacité accrue d'acidification du fluide tubulaire. Contrairement au rat nouveau né, le chien nouveau né peut générer un gradient transépithélial du Cl<sup>-</sup> au niveau du TP (19,21).

Au niveau de l'anse de Henlé, les mécanismes de transport d'eau et d'électrolytes traduisent la capacité de dilution et de concentration urinaire. La maturation fonctionnelle des anses des néphrons superficiels est mise en évidence par une augmentation, au niveau du TD initial, du U/P créatinine ou U/P inuline, reflétant une réabsorption croissante d'eau (13, 19). Mais la conductivité de l'eau du TAL ne varie pas pendant la croissance, la réabsorption accrue de l'eau peut s'interpréter comme la conséquence d'une extension de la branche descendante de l'anse dans la médullaire externe d'hypertonie croissante en profondeur. Le TAL augmente sa capacité de dilution, et les réabsorptions fractionnelles du Na, K, Cl et Ca<sup>++</sup> augmentent avec l'âge, sauf le Mg<sup>++</sup> (22, 23). Ce qui suggère que les processus de maturation pour tous les ions Na, K, Cl et Ca<sup>++</sup> évoluent parallèlement sauf pour le Mg<sup>++</sup> dont le processus de réabsorption serait déjà mature du 10<sup>ème</sup> au 15<sup>ème</sup> jour (19).

L'urine finale exhibe des concentrations croissantes de créatinine ou d'inuline, indiquant une réabsorption d'H<sub>2</sub>O accrue en fonction de l'âge, dans les canaux collecteurs. Cette augmentation serait compatible avec l'élévation du gradient de concentration cortico-médullaire durant le développement. L'évolution des rapports U/P Pi et Mg<sup>++</sup> identique à U/P Inuline dans ce segment du néphron suggère l'imperméabilité de cet épithélium vis à vis de ces 2 ions (19).

En conclusion on peut dire :

A cause de l'immaturité des "tight junctions" de l'épithélium proximal, celui-ci ne peut développer un gradient de concentration transé-

pithélial pour le Cl<sup>-</sup>. Ce qui (l'absence du gradient) implique que la réabsorption d'eau ne soit pas affectée par la perméabilité fonctionnelle des ions, que la voie de réabsorption de l'eau soit transcellulaire (donc dépendant du flux Na transcellulaire et indépendant du flux Na intercellulaire).

b) - Cas des néphrons juxtamédullaires

L'évolution de certains paramètres a été étudiée : surface, activité enzymatique et transport. Comparé à l'adulte le tube proximal juxtamédullaire du nouveau né présente le tiers de la surface, de l'activité enzymatique et du taux de transport ; mais le modèle de variation au cours du développement est tout à fait différent pour chacune de ces variables. Ainsi les valeurs adultes sont atteintes à la 4<sup>ème</sup> semaine pour la surface, 6<sup>ème</sup> pour le transport et 7<sup>ème</sup> pour l'activité enzymatique (Na/K ATPase). Le signal qui stimule la biogénèse de la membrane est différent de celui qui induit l'augmentation de l'activité enzymatique ou du transport. Cette séquence chronologique des événements suggère que la membrane nouvellement synthétisée n'a pas encore un effectif complet de pompe à sodium. La rapidité avec laquelle ce transport triple durant le développement, pourrait suggérer l'intervention de facteurs extrarénaux. De plus, l'augmentation de l'activité enzymatique suit celle du transport ; il est donc vraisemblable que les variations de l'activité enzymatique soient secondaires à la maturation du système de transport.

4<sup>o</sup>) - Les mécanismes de concentration de l'urine par le rein

Les mécanismes physiologiques permettant au rein des mammifères de produire une urine de pression osmotique (PO) élevée sont ceux grâce auxquels les anses urinaires et vasculaires (anses de Henlé et vasa recta) constituant ensemble avec les canaux collecteurs, le tissu médullaire du rein, fonctionnent comme un dispositif de multiplication de la concentration urinaire par contre-courant. Le principe et les propriétés de ce mécanisme faisant souvent l'objet des chapitres dans de nombreux ouvrages traitant de la physiologie rénale, il n'en sera fait ici qu'un bref résumé. Après seront abordés les rôles respectifs des branches ascendantes et descendantes de l'anse grêle de Henlé dans la concentration urinaire.

a) - *Système de multiplication de la concentration par contre-courant*

- *Mise en évidence d'un dispositif de circulation par contre courant.*

*Le processus par lequel l'urine est concentrée et aussi diluée implique des fonctions interdépendantes des segments de néphrons qui ont des caractéristiques épithéliales uniques et engagées morphologiquement dans des relations complexes et spécifiques. Ce processus est une des propriétés de la médullaire du rein toute entière (interne et externe) et son organisation anatomique et fonctionnelle si particulière. (Fig. 14)*

*A tous les niveaux de la médullaire, existent en proximité étroite, les uns avec les autres des canalicules microscopiques parallèles à l'axe cortico-papillaire, et parcourus pour moitié environ par des liquides circulant en sens inverse. (Le nombre de canaux collecteurs est petit au regard de celui des autres éléments). C'est la circulation par contre-courant. Dans ce schéma, pour des raisons de simplicité, les vasa recta ont été omis à dessein, en admettant l'hypothèse que ceux-ci sont en équilibre osmotique (comme échangeur par contre-courant) avec l'interstitium qui leur est adjacent. Pour que se développe un gradient de pression osmotique important dans l'axe d'un tel système, une 2ème condition doit être satisfaite.*

- *Le gradient cortico-capillaire*

*A tous les niveaux, un travail osmotique appelé effet élémentaire doit se réaliser. La sommation longitudinale de l'ensemble des effets élémentaires, rendue possible par le dispositif à contre-courant aboutit à un effet osmotique intégré important à la pointe de la papille.*

*\*) Au niveau de la médullaire externe (ME) cet effet élémentaire est assuré par les branches ascendantes de Henlé. En effet dans sa portion large, (appelée TALH, abréviation anglaise de Thick Ascending Limb of Henlé) l'anse de Henlé présente des propriétés d'imperméabilité à l'eau, de haute perméabilité aux solutés, notamment les ions Na<sup>+</sup> et Cl<sup>-</sup> très abondants dans le liquide tubulaire. Cette portion réabsorbe*

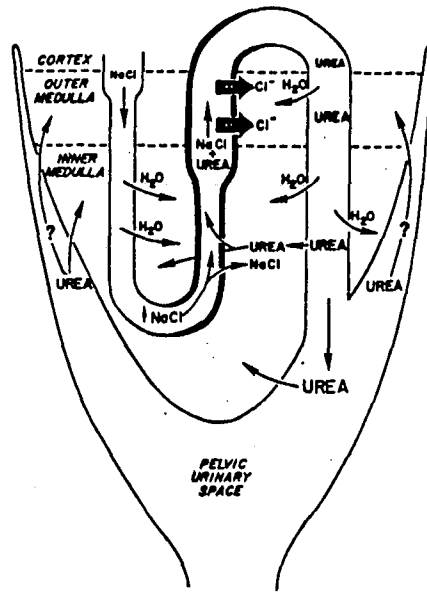


Fig. 14. - Architecture générale du système rénal de multiplication de la concentration urinaire par contre-courant.

Extrait de KOKKO (31)

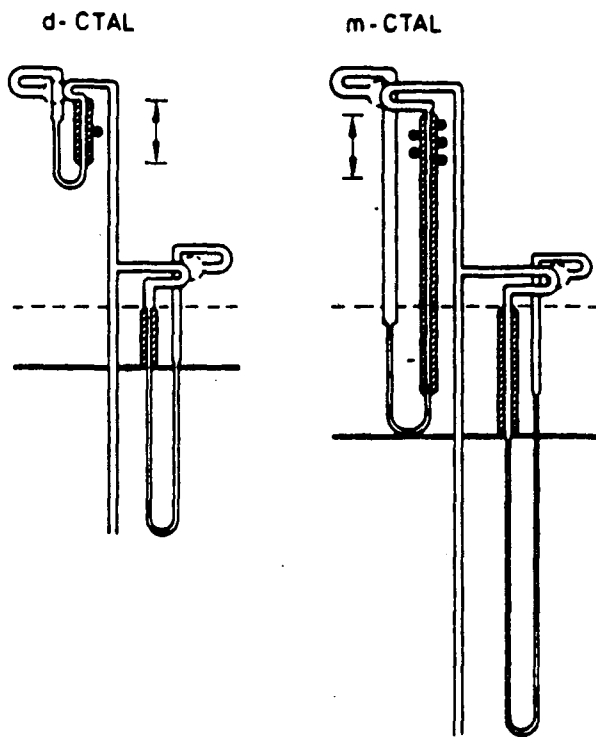


Fig. 15. - Représentation cytoarchitecturale de la fonction des néphrons superficiels et juxtamédullaires en pleine différenciation (d-CTAL) et dans leur forme définitive (m-CTAL). Les points noirs(.) indiquent la capacité relative de transport de  $\text{Na}^+$ .

Extrait de HORSTER (60)

activement le NaCl en excès par rapport à l'eau. Il en résulte un fluide tubulaire livré au segment distal hypotonique et dilué. Le NaCl (en excès par rapport à l'eau) réabsorbé dans la ME, contribuera à élever d'autant la PO du milieu interstitiel avoisinant où il est séquestré en raison des propriétés d'échanges par contre-courant des autres structures du système, toutes hautement perméables à l'eau. L'hypertonie médullaire ainsi créée augmente au fur et à mesure que l'on va vers la pointe de la papille ; ainsi à chaque niveau tous les milieux exhibent une même tonicité : plasma des vasa recta , fluides tubulaires des branches de Henlé, liquides interstitiels et intracellulaires. La concentration de l'urine finale peut alors s'expliquer.

En présence d'hormone antidiurétique (ADH) les parois des canaux collecteurs sont perméables à l'eau, de sorte qu'à chaque niveau l'urine circulant équilibre à tout moment sa pression osmotique à celle du milieu avoisinant . Ainsi la dernière région traversée, la pointe de la papille ayant une PO élevée, l'urine finale sera aussi d'autant concentrée. Il apparaît donc qu'à l'issue de ce paragraphe, le rôle du TALH réside dans la fonction unique de séparer les solutés de l'eau en permettant au NaCl d'abaisser son gradient de concentration sans mouvement d'eau et d'approvisionner l'interstitium en solutés.

\*) Dans la médullaire interne (MI) du rein, comment peut-on expliquer la genèse du gradient osmotique ? (31, 32). Le TALH présente une réabsorption active de NaCl (plus de Cl que Na<sup>+</sup> qui suit passivement). Cette réabsorption n'existe pas dans le segment grêle, et par conséquent pas d'effet élémentaire.

Mais les expériences révèlent l'existence d'un gradient cortico-capillaire, et des faits en découlant suggèrent les données suivantes

- L'anse grêle ascendante ne réabsorbe activement ni Na<sup>+</sup> ni Cl<sup>-</sup>, imperméabilité à l'eau, grande perméabilité au sel (relative par rapport à l'urée).

- L'anse grêle descendante est perméable à l'eau, faible perméabilité au Na et à l'urée.

A partir de ces données , KOKKO et Coll. (31,38) ont élaboré un modèle théorique permettant d'expliquer la concentration urinaire dans la médullaire interne.

- Dans la branche descendante, concentration par soustraction osmotique d'eau. Ce qui fait qu'à la pointe de la papille, la PO est assurée plus par  $\text{Na}^+$  et  $\text{Cl}^-$  que par l'urée. L'interstitium au contraire contient à la pointe plus d'urée (recyclage) que de  $\text{Na}^+$  et de  $\text{Cl}^-$ .

- Dans la branche ascendante, les propriétés de perméabilité font qu'il y a diffusion de  $\text{NaCl}$  hors du tubule et l'urée évolue en sens inverse mais moins rapidement ; l'imperméabilité à l'eau est complète. Donc ces propriétés membranaires permettent une dilution passive du fluide intraluminal par l'efflux de  $\text{NaCl}$  suivant un gradient de concentration favorable. *Ipsa facto* le milieu interstitiel se concentre.

Il existe un influx de l'urée (urée recyclée) dans le tubule mais il est quantitativement moins important que l'efflux  $\text{NaCl}$ . L'effet net est la diminution de l'osmolalité intraluminale.

b) - Fonctionnement de la branche grêle descendante de l'anse de Henlé. (DLH)

Deux hypothèses sont avancées pour expliquer l'établissement d'un gradient osmotique longitudinal au niveau de la branche grêle descendante de l'anse de Henlé.

- 1ère hypothèse : le liquide urinaire se concentre à ce niveau par addition de solutés (donc parois perméables aux solutés). Cela implique que le débit d'eau le long de ce segment soit constant et indépendant de la pression osmotique (34).

- 2ème hypothèse : le fluide qui s'écoule le long du segment descendant se concentrerait par abstraction d'eau : donc grande perméabilité à l'eau (38, 39) et faible perméabilité vis à vis de  $\text{NaCl}$  et urée (40). L'osmolalité intratubulaire est pour l'essentiel assurée par le  $\text{NaCl}$ , cette circonstance indique une augmentation de la concentration tubulaire de  $\text{NaCl}$ . Donc la fonction du DLH est de délivrer au grêle ascendant un liquide hautement concentré en  $\text{NaCl}$ . La valeur absolue de cette augmentation varie selon les espèces et les conditions physiologiques de l'animal. La concentration d'autres solutés peut également s'élever :

Les  $H_2CO_3$  et l'urée ; les  $H_2CO_3$  sont en très grande partie réabsorbés dans le tube proximal. Mais la réabsorption de l'eau élève la concentration de la fraction de  $H_2CO_3$  restante. Ce qui alcalinise l'urine à la pointe de l'anse.

La concentration de l'urée à la pointe de l'anse (fin du DLH) est d'une grande importance dans le système de multiplication de concentration par contre-courant.

c) - Rôle du tube collecteur dans la concentration de l'urine

Le canal collecteur est structuralement et fonctionnellement hétérogène dans toute sa longueur. Anatomiquement, il est composé de 2 populations de cellules claires et sombres. Le rapport de cellules sombres/claires diminue progressivement en allant vers la papille. Fonctionnellement on distingue selon les auteurs soit trois portions : corticale, médullaire et papillaire (31) ; soit deux portions : corticale et médullaire, cette dernière divisée en segment externe et segment interne (41).

Le segment cortical a pour principale fonction d'augmenter la perméabilité de l'eau en l'absence d'ADH. En absence d'hormone, il maintient le gradient osmotique vis à vis du NaCl ;

Le segment médullaire divisé en médullaire externe (ME) et médullaire interne (MI) présente globalement une perméabilité vis à vis de l'eau et une réponse à l'ADH identiques à celles du segment cortical. Cependant les systèmes de transport sont complètement différents.

5°) - Maturation des mécanismes de concentration urinaire  
(39, 56 - 69).

Au cours de la vie intra-utérine, les reins du fœtus ne participent pas à l'homéostasie foetale qui est avant tout une fonction du placenta. Cependant bien que le rein foetal ne soit pas un organe régulateur, ses fonctions nécessaires pour la vie extra-utérine se développent tôt pendant la gestation (56). La fonction extra-utérine majeure du rein est de maintenir l'osmolalité du fluide extracellulaire. Cette fonction vitale est réalisée en élaborant une urine soit diluée soit concentrée. Cela implique le concours de plusieurs facteurs :

- la multiplication par contre courant
- le recyclage médullaire de l'urée
- l'effet de l'ADH et du système AMPc sur la perméabilité des tubules.

Chez les mammifères, la concentration de solutés osmotiquement actifs dans l'urine est plus faible pendant la gestation et l'urine produite par le rein du fœtus est hypotonique au plasma (58). La formation d'une urine plus concentrée n'a pas lieu avant la vie postnatale. De là on a conclu que le néphron fœtal n'a pas la capacité de concentrer l'urine ou que la capacité d'établir une médulla hypertonique est pauvrement développée. Cependant des travaux portant sur l'ontogenèse des gradients de solutés intrarénaux pendant la vie fœtale suggèrent l'existence d'un gradient osmolaire et d'un gradient de solutés intrarénal (56, 58). La réabsorption des solutés par le rein fœtal se fait de façon active, et qualitativement le système multiplicateur par contre-courant est pleinement fonctionnel (56). La différence est donc quantitative.


On a aussi, parmi les causes associées à cette déficience, évoqué la faible sensibilité du néphron fœtal à la vasopressine par rapport au néphron mature (58, 60).

Le passage de la vie intrautérine à la vie extrautérine, est caractérisé par la transition du contrôle maternel au contrôle par le rein propre du nouveau né, de l'homéostasie osmotique extracellulaire.

Le transport actif du Na et Cl dans le TALH est la 1ère force motrice pour l'accumulation des solutés dans le tissu interstitiel de la médulla au cours de la différenciation. C'est l'étape initiale dans la création d'un interstitium hypertonique.

Un interstitium hypertonique est nécessaire pour concentrer l'urine. La Na/K ATPase est responsable de ce transport au niveau du TAL. Et on démontre que le développement de la Na/K ATPase est parallèle au développement de la capacité de concentration urinaire (61 - 63).





CHAPITRE III

REIN ET MÉDICAMENTS

*'La communauté des opinions importe  
moins que la consanguinité des esprits'*

*Marcel PROUST*

## LE REIN ET LE MEDICAMENT

### A) - Rappel sur le transport rénal des médicaments

Le rein est l'organe le plus important pour l'élimination des médicaments et de leurs métabolites. Certains médicaments ne sont correctement excrétés qu'après métabolisation en composés polaires moins liposolubles. L'excrétion rénale d'un médicament implique principalement 3 processus : filtration glomérulaire, sécrétion tubulaire active et réabsorption tubulaire passive.

#### Accumulation rénale des médicaments

##### - Le cortex rénal

Certains médicaments sont captés dans la cellule proximale par un système de transport d'anions, mais ils n'en partent que très lentement ; en conséquence ils s'accumulent intracellulairement. La Gentamicine, antibiotique aminoglycosidique, s'accumule dans le cortex rénal. L'accumulation rénale de la Gentamicine est le reflet de son transport à travers la membrane apicale et basale. La Gentamicine est réabsorbée par pinocytose et est séquestrée dans les lysosomes. La réabsorption est pH dépendante dans la capture de la Gentamicine inhibée par l'alcalinisation urinaire.

##### - La médullaire rénale

L'accumulation des médicaments dans la médullaire rénale est due à un mécanisme de recyclage. Le médicament diffuse hors des anses de Henlé dans la médullaire et peut rentrer dans le fluide tubulaire par une sécrétion tubulaire subséquente. Ce mécanisme désirable pour l'action pharmacologique prolongée qu'il entraîne peut induire une nécrose tubulaire quand le médicament s'accumule dans la papille rénale (analgésiques et antibiotiques).

### B) - Adaptation du rein maternel à la grossesse : Hémodynamique rénale pendant la grossesse

L'état gravide s'accompagne de nombreuses modifications tant morphologiques que celles touchant la régulation de l'équilibre acido-basique. Ces points ne seront pas abordés dans le cadre de ce travail. Les

modifications fonctionnelles les plus frappantes sont celles qui touchent le débit de filtration glomérulaire (TFG) et le débit de circulation plasmatique rénale "effectif" (DCRE) qui peuvent augmenter de 30%. La rate gravide présente des altérations hémodynamiques similaires ; de plus sa courte période de gestation (3 semaines) parallèle au 3 trimestres de grossesse chez la femme en fait un modèle pour l'étude des mécanismes sous-jacents à ces modifications. TFG et DCRE augmentent très tôt au cours de la gestation et retrouvent des valeurs normales au terme de la grossesse (84 - 86). L'hyperglycémie et l'expansion volumique ont été suggérées comme déterminants de l'augmentation du TFG (87). Mais pendant la gravidité, il y a aussi augmentation de la pression hydrostatique capillaire glomérulaire qui sera à l'origine de l'élévation de la pression de filtration efficace (88, 89).

C) - Le rein du nouveau-né et l'administration transplacentaire

- Passage transplacentaire des xénobiotiques

En physiologie peu de matériel biologique traverse la barrière placentaire par simple diffusion. Les médicaments passent tous par simple diffusion. Les règles physico-chimiques de la diffusion simple s'appliquent par conséquent à l'étude du taux de transfert des médicaments à travers le placenta. Ce transfert est fonction d'un gradient de concentration entre le sang maternel et foetal, l'épaisseur de la membrane, la surface d'échange et le coefficient de la molécule transférée. Les lois régissant ce transfert étant purement physico-chimiques, on peut en conclure que tout médicament traversera le placenta à condition de présenter un gradient de concentration suffisant. La fixation protéique des médicaments, la gradient de pH (mère-foetus), le métabolisme placentaire du médicament régulent malgré tout ce passage. Pendant la grossesse, c'est la mère qui assure l'élimination des médicaments ; ceux-ci recirculent en effet passivement du foetus vers la mère quand la concentration maternelle baisse. A la naissance les conditions d'élimination sont bouleversées c'est le nouveau né qui doit lui-même éliminer des médicaments résiduels par ses propres mécanismes excrétoires ; et avec un système enzymatique peu développé de nombreux médicaments auront des effets prolongés.

*- Effets sur le rein du nouveau né*

*De très nombreux médicaments sont éliminés par le rein. Il apparait donc comme un organe particulièrement exposé aux risques d'atteinte d'autant qu'il reçoit chaque minute près de 25% du débit cardiaque alors qu'il ne représente qu'environ 0,4% du poids corporel. La néphrotoxicité de certains médicaments a souvent été étudiée chez l'adulte, l'enfant et même le nouveau né. En effet l'exposition in-utero provoquent des anomalies pendant le développement dont les plus communes sont : agénésie rénale, hypoplasie ou dysplasie, hydronéphrose et le rein polykystique. Ces malformations font l'objet d'investigations teratologiques. Les altérations fonctionnelles plus fines dont l'évolution fait l'objet de ce travail ont été mise en évidence chez le nouveau-né.*



## CHAPITRE IV

# PHARMACOLOGIE DES AMINOGLYCOSIDES

*'La boue cache un rubis mais ne le tache pas'.*

*Proverbe chinois*

De nombreux médicaments sont éliminés par voie rénale.

A) - Données pharmacologiques et modèles pharmacocinétiques des aminoglycosides

a) - Pharmacologie des aminoglycosides

Il est nécessaire de connaître le devenir des drogues après leur introduction dans l'organisme, de façon à éviter les effets toxiques sans pour autant se situer en deçà des concentrations efficaces. Une telle approche n'est rendue possible qu'à travers la pharmacocinétique. Elle se propose d'analyser en fonction du temps, les différentes phases d'incorporation, de distribution, de biotransformation et d'élimination de la drogue.

Le taux de fixation des aminoglycosides aux protéines plasmatiques est faible (2 à 3%). La demie vie sérique est de 30 à 90 minutes alors qu'ils s'accumulent puis persistent pendant plusieurs semaines au niveau de la corticale rénale (92). Leur biotransformation est négligeable et ces drogues sont retrouvées sous forme inchangée dans les urines. Leur élimination est presque exclusivement urinaire, par filtration glomérulaire. On voit donc, connaissant la toxicité de ces médicaments l'intérêt de déterminer les paramètres pharmacocinétiques car ils permettent une adaptation de la posologie, rationalisent le suivi thérapeutique et autorisent à prendre en référence un modèle pharmacocinétique simple.

b) - Modèles pharmacocinétiques

L'étude de l'évolution des concentrations sériques permet, par l'exploitation mathématique qu'offre la pharmacocinétique de rendre compte de l'ensemble des phénomènes d'incorporation de la drogue. Elle aboutit à l'élaboration de modèles et à l'évaluation des paramètres inclus dans le modèle. La courbe correspond à un modèle pharmacocinétique à 2 compartiments ouverts.

En pratique, l'étude pharmacocinétique des aminosides peut se limiter à la détermination du pic sérique et à l'analyse de la phase d'élimination.

Expérimentalement les modèles qui ont permis de comprendre

la toxicité des antibiotiques aminosidiques ont surtout été le rein, l'oreille interne et les cultures de cellules (fibroblastes).

### B) - Toxicité des aminosides

La toxicité des aminosides s'exprime avant tout au niveau de deux cibles : l'appareil cochléo vestibulaire et le rein. Le premier ne sera pas étudié.

La néphrotoxicité médicamenteuse est aujourd'hui la plus répandue des néphropathies toxiques ; et parmi elles les antibiotiques aminoglycosidiques occupent une place de choix en raison de leur très large utilisation en thérapeutique et de leurs effets secondaires.

#### 1°) - Manifestations cliniques

La néphrotoxicité des antibiotiques aminoglycosidiques se manifeste tout d'abord par une polyurie liée à une baisse du pouvoir de concentration. Cette baisse de la capacité de concentrer l'urine est l'une des premières anomalies détectées. Elle se manifeste avant que le taux de filtration glomérulaire (TFG) du rein ne soit réduit de façon mesurable. Elle semble liée à une réduction du nombre de néphrons fonctionnels accompagnée d'une augmentation compensatoire du taux de filtration et de la diurèse moyenne par unité néphrotique (93). La polyurie est secondairement liée à une réduction de l'excrétion fractionnaire du Na<sup>+</sup>.

#### 2°) - Accumulation tissulaire et mécanisme de transport transtubulaire

##### a) - Accumulation dans le rein

##### Localisation

Cette localisation est indispensable pour comprendre les conséquences de l'effet toxique. La localisation intrarénale a été précisée par approche qualitative et quantitative (92, 97, 98). L'accumulation

de la gentamicine dans la corticale du rein a été retrouvée chez la souris (98), le lapin (99, 100), et le chien (101 - 103). Elle a été également mise en évidence chez l'homme.

Une fois accumulés, les aminoglycosides vont persister pendant des mois dans l'épithélium des tubes proximaux, la demie-vie d'élimination étant très lente (111, 116-117).

b) - Les mécanismes d'accumulation des aminoglycosides

- transport transtubulaire

La pénétration des aminoglycosides dans les cellules épithéliales du tube proximal peut se faire au niveau de leur pôle luminal, par absorption de la portion filtrée par les glomérules, ou de leur pôle anti-luminal à partir du plasma (98, 104, 105, 112). Une fois à l'intérieure de la cellule, l'absorption tubulaire de l'aminoglycoside se limite à la seule pénétration et à l'accumulation. L'antibiotique s'éliminera très lentement vers la lumière tubulaire, en même temps que les lysosomes vieillissent et altérés, qui le tiennent fermement séquestré.

3°) - Mécanismes subcellulaires de la néphrotoxicité : Organites intracellulaires impliqués

a) - Interactions aminoglycosides - lysosomes (105-115, 123).

La gentamicine se fixe à la membrane pericellulaire avec formation d'une vacuole d'endocytose. Dans la cellule, cette vésicule néoformée fusionne avec un lysosome dit primaire pour donner naissance à un lysosome secondaire ou cytoségresome. La gentamicine provoque la fragilisation ou diminution de la résistance de la membrane lysosomiale.

Parmi les activités enzymatiques lysosomiales mesurées, l'inactivation de la sphingomyélinase paraît être le fait le plus important à corrélérer avec la surcharge des lysosomes par des figures de type myélinique.



b) - *Intéactions aminoglycosides-mitochondries*

VERA-ROMAN et coll. (120) ont bien montré les modifications ultrastructurales des mitochondries de rein de rat après injection de gentamicine. Les AG inhibent le métabolisme respiratoire mitochondrial et induisent aussi des modifications des propriétés physico-chimiques de sa membrane en fonction de l'intensité de ces altérations et du parallélisme entre la néphrotoxicité et l'action respiratoire mitochondriale. Quand la latence structurale est très modifiée, les hydrolases diffusent aussi dans la cellule et entraînent sa nécrose.



**CHAPITRE V**

**PHARMACOLOGIE DES DIURETIQUES  
DE L'ANSE  
DONNÉES SUR LE FUROSEMIDE**

*'Rien n'est aussi pratique qu'une bonne  
théorie'.*

*K. LEVIN*

## PHARMACOLOGIE DES DIURETIQUES DE L'ANSE

### **Données actuelles sur le Furosémide**

Parmi les divers diurétiques le Furosémide occupe une place particulière du fait de son mécanisme d'action et de sa très grande efficacité, et de l'existence des propriétés hémodynamiques qui en font toute l'originalité.

### **I - PROFIL PHARMACOLOGIQUE DU FUROSEMIDE**

#### 1°) - Action Natriurétique (127)

L'inhibition de la réabsorption du NaCl au niveau du TAL entraînant la salidiurèse, réduit le gradient de concentration corticopapillaire et inhibe ainsi les mécanismes de concentration de l'urine.

#### 2°) - Action hémodynamique (128 - 132)

Cependant le Furosémide modifie de façon importante l'hémodynamique intrarénale. Il provoque une diminution de la résistance vasculaire intrarénale (vasodilatation rénale) (128) et une redistribution du flux sanguin rénal par une élévation du flux cortical externe au détriment d'une légère baisse du débit médullaire (129 - 131).

#### 3°) - Action sur la libération de rénine

Le Furosémide provoque une libération de rénine en grande partie en activant les chimiorécepteurs de la macula densa.

#### 4°) - Effets tubulaires directs des PG sur la réabsorption de l'eau et des sels, secondaires aux effets hémodynamiques rénaux à la suite d'administration de Furosémide.

### **II - LIEUX ET MECANISMES D'ACTION (134 - 136)**

- Lieux d'action sur le néphron

La branche ascendante de l'anse de Henlé est le lieu d'action principal du Furosémide.

- Déterminants de l'accès du Furosémide aux sites d'action

Des travaux *in vitro* et *in vivo* ont montré que le Furosémide agit sur le versant luminal du TAL (cortical et médullaire) (137 - 139). Ce qui implique donc un transfert de la molécule suivant le transport actif des acides organiques, alors que l'importance de son taux de fixation protéique dans le sang, empêche la filtration glomérulaire. Le temps d'accès du Furosémide au site d'action est un facteur important mais indépendant de la réponse globale (140 - 143).

- Mécanismes d'action

L'action principale est d'inhiber le cotransport Na-K-2Cl au niveau du TAL (cortical et médullaire). Le Furosémide inhibe le potentiel transépithélial et abaisse la [Cl<sup>-</sup>] cellulaire. Il se lie de façon saturable à la Protéine de TAMM HORSFALL (145) dont la localisation se superpose avec le lieu d'action du diurétique. Ce qui fait suggérer que le mécanisme d'action du Furosémide fait intervenir une fixation sur la protéine. L'action finale du Furosémide est un effet natriurétique kaliurétique et surtout chlorurétique et une diurèse accrue due en partie à une faible réabsorption d'eau, en raison de la réduction du gradient osmotique cortico-papillaire.

### **III - PHARMACOCINETIQUE DU FUROSEMIDE**

Modélisation du comportement pharmacocinétique global chez le rat. (Schéma 1)

L'analyse compartimentale de la concentration plasmatique et urinaire du Furosémide donne un modèle à 3 compartiments ouverts. Dans ce modèle l'excrétion urinaire prend place à partir du compartiment périphérique 2. Les résultats de HAMMARLUND (146) indiquent un métabolisme hépatique du Furosémide saturable. L'application d'une cinétique linéaire pour l'élimination à partir du compartiment central (élimination non rénale), Modèle I, et d'une cinétique type Michaelis-Menten également pour cette étape métabolique, confirme ce fait.

- Le Furosémide traverse la barrière foeto-placentaire.

#### IV - VARIATION DE LA PHARMACOCINETIQUE DU FUROSEMIDE CHEZ LE NOUVEAU-NE

On sait clairement que le Furosémide est pharmacologiquement actif à la fois in-utero (MALLIE 147) et en période néonatale (148). Bien que ce fait soit bien établi, très peu d'études sont consacrées à l'étude du profil pharmacocinétique du Furosémide à cette période de la vie.

Dans l'organisme foetal, le Furosémide s'accumule et la 1/2 vie d'élimination est inversement proportionnelle à l'âge gestationnel. Chez le nouveau-né, le volume de distribution est très grand et la 1/2 vie est d'autant plus longue que l'âge conceptionnel est court ; ceci que le produit ait été hérité in utero ou administré en période néonatale (149 - 150). L'élimination est remarquablement lente et est associée à la prolongation des effets diurétiques et salurétiques. L'immaturité des fonctions non seulement rénales mais aussi hépatiques et intestinales, ne permet pas d'évaluer l'importance relative de l'élimination non-rénale et rénale. Les prématurés éliminent encore plus lentement que les enfants nés à terme (151, 152).

La modélisation pharmacocinétique révèle une élimination selon un modèle bicompartimental (149).

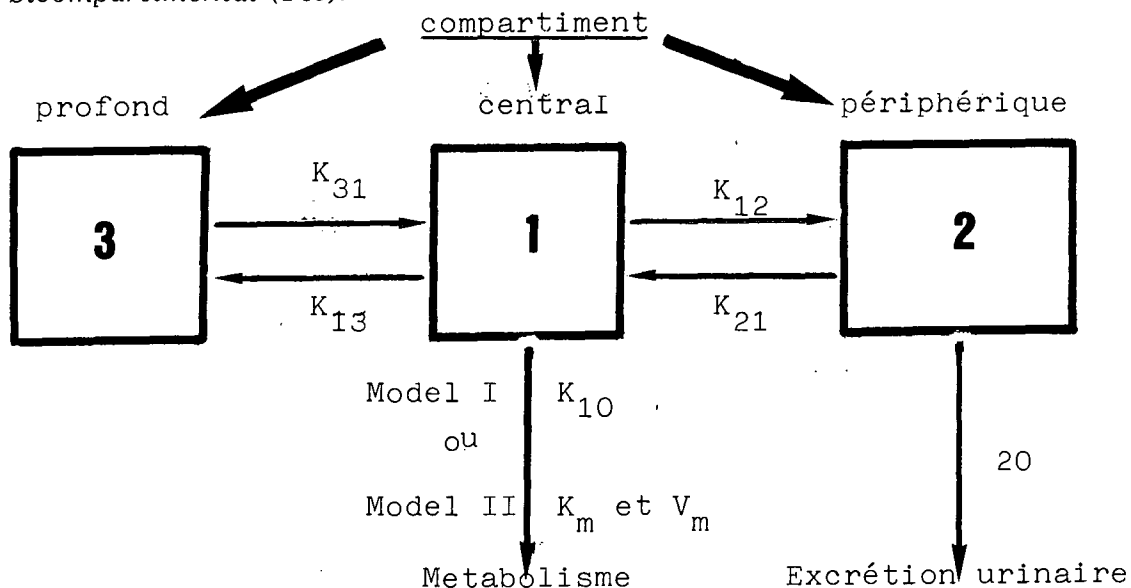


Schéma 1

Modèle tricompartimental de la pharmacocinétique chez le rat

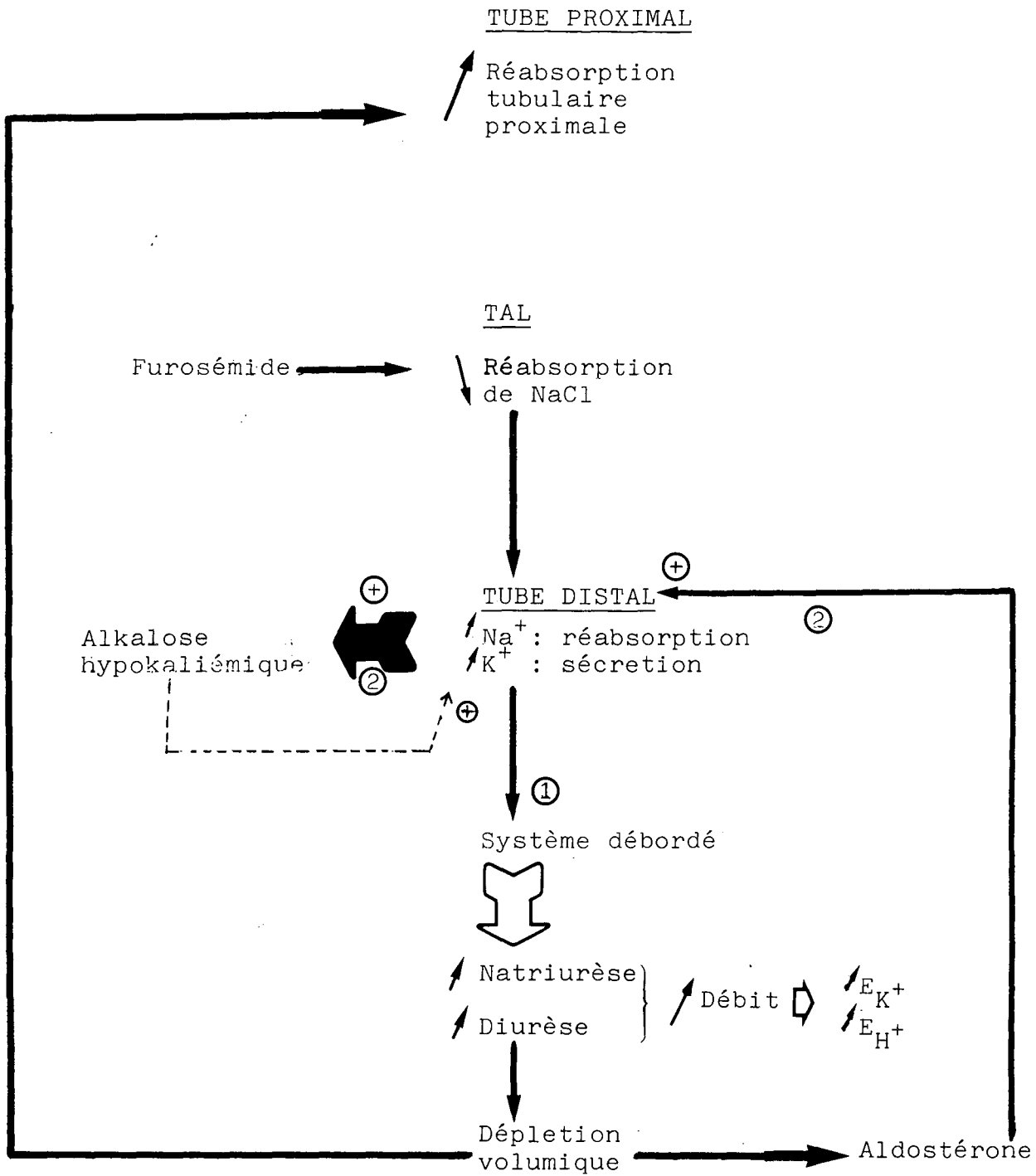


Schéma 2

Représentation schématique des effets du Furosémide

# CHAPITRE VI

## MATÉRIELS ET MÉTHODES

*'Bien qu'il ait quatre pattes le chien ne suit qu'un seul chemin'.*

*Proverbe Congolais*

## MATERIEL ET METHODES

### I - INTRODUCTION

Le protocole consiste à injecter du FUROSEMIDE ou de la GENTAMICINE à des rates gestantes, tandis qu'un autre lot de rates gestantes non traitées sera pris comme témoin. Sur les nouveaux-nés de différents âges issus des mères traitées ou non traitées, une étude de bilan de fonctionnement rénal (BFR) sera réalisée. Le protocole suivi est celui décrit par KAVLOCK et GRAY, mais adapté (153).

Dans leur globalité les travaux s'étagent sur deux niveaux :

- le premier niveau concerne la biologie des mères gestantes traitées ou non traitées. Les résultats de ces expérimentations ont été rapportés par MALLIE et Coll. (154 - 155).

- le deuxième niveau touche la description de notre protocole d'étude et se rapporte aux jeunes dont le bilan de fonctionnement rénal (BFR) est analysé à différents stades de la croissance.

### II - PROTOCOLE EXPERIMENTAL DECRIVANT LE TRAITEMENT DES MERES

Les animaux de race WISTAR nous sont fournis par la maison SEXAL

Des rates WISTAR sont accouplées pendant une nuit à des mâles de la même espèce. Le lendemain matin un frottis vaginal est réalisé ; si des spermatozoïdes sont présents, ce jour est considéré comme étant le 1er jour de la gestation. Les rates gestantes sont séparées des mâles et réparties en 2 groupes :

- un groupe de rates ne recevant aucun traitement : groupe témoin ;

- un groupe de rates traitées suivant les cas soit à la GENTAMICINE soit au FUROSEMIDE, à raison de 75 mg/Kg par jour (156) dans les 2 situations. Le traitement, injection intrapéritonéale (IP) du produit est réalisé 10 fois pendant la gestation. 5 fois au cours de la 2ème semaine de gestation : du 7ème au 11ème jour (période de l'organogénèse),



puis 5 fois au cours de la 3ème semaine : du 14ème au 18ème jour (période de la néphrogenèse) entre 3h et 5h de l'après-midi (157 - 163).

FUROSEMIDE = Lasilix

GENTAMICINE = Gentalline

Dans cette souche WISTAR, la durée totale de gestation est de 21 jours complets. La parturition intervient l'après-midi ou le soir du 22ème jour. Le jour suivant est considéré comme étant le 1er jour de la vie postnatale (D1).

### **III - ETUDE SUR LES JEUNES RATS**

#### **A) - Protocole**

Les jeunes rats sont allaités par leurs mères respectives. L'étude a été réalisée à D1, 5, 12 et à D42 (6 semaines).

A D1, les nouveaux nés (NN) sont pesés (balance METTLER M3 de précision au 1/10.000 de g.) Au début et à l'issue d'une série de mesures la balance est réétalonnée. Les NN numérotés de mère traitée ou non traitée sont ensuite placés dans un bac compartimenté. A cet âge, les NN étant poikilothermes, ne pouvant maintenir constante la température centrale, et pour cause absence de thermorégulation, la température du bain marie est maintenue entre 32 - 34° C, dans une atmosphère saturée d'humidité.

#### **B) - Test de clairance**

Les animaux étant placés les compartiments conditionnés (température et hygrométrie), on réalise une vidance vésicale individuelle selon la technique décrite par KAVLOCK et GRAY (164). En effet à cet âge les NN sont incapables de miction volontaire ; on stimule par des affleurements répétés la région périanale (méat uretral), pour provoquer une miction par contraction réflexe de la vessie. L'urine recueillie n'est pas gardée. Les NN sont replacés dans le bac pendant une période de 3h. à l'issue de laquelle une 2ème vidange vésicale est réalisée, mais avec conservation d'urine. Le recueil de l'urine se fait au moyen d'un tube capillaire calibré (1mm = 1ul), de 10 cm de longueur, par capillarité.

Cette technique est utilisée pour les animaux âgés de 1, 5 et 12 jours. Pour les animaux de 6 semaines, ils sont placés dans des cages à métabolisme et le recueil d'urine se fait dans un délai de 24 h dans des éprouvettes graduées.

#### Collecte d'échantillons plasmatiques

A D1 et D5, les échantillons de sang sont recueillis dans des microtubes, SERUM SEPARATOR (Becton Dickinson) après décapitation du nouveau-né anesthésié par l'éther. A D12 et à 6 semaines le sang est recueilli dans des microtubes après section de la queue.

Ensuite les échantillons de sang sont centrifugés pendant 15 mn (Centrifugeuses TH21 BIOBLOCK SCIENTIFIC) à 3.000 t/mn. L'échantillon plasmatique ainsi obtenu est utilisé le lendemain pour les dosages.

Remarque : les échantillons d'urine peuvent être gardés un peu plus longtemps au frais (quelques jours).

#### C) - Test d'hydropénie : variation du pouvoir de concentration Principe et protocole d'étude

Ce test évalue la capacité d'un sujet à excréter une urine osmotiquement concentrée pendant une période de déprivation d'eau. Dans ces conditions les osmorécepteurs de l'hypothalamus détectent l'augmentation de la concentration osmotique dans le sang et déclenchent la libération de l'ADH. L'ADH provoque la réabsorption d'H<sub>2</sub>O dans le tube collecteur (TC) par ouverture des canaux, et la pression osmotique (PO) de l'urine excrétée devient égale à celle du fluide tubulaire au sommet de l'anse de HENLE.

Ce test permet d'étudier donc le fonctionnement de l'anse de HENLE. Cependant une baisse de la concentration de l'urine pourrait être due à :

- faible sensibilité des osmorécepteurs,
- capacité réduite de sécréter ou de répondre à l'ADH,
- capacité réduite de l'anse de HENLE d'établir des gradients osmotiques dans l'interstitium médullaire.

Pour cette étude on a utilisé la technique modifiée de KAVLOCK (1982) (165).

Les NN de D12 (males et femelles) sont séparés de leurs mères respectivement traitées au FUROSEMIDE et non traitées (control). Leurs vessies sont vidées suivant la technique décrite précédemment, et les urines recueillies conservées. Les NN sont ensuite placés dans un bac plongeant dans un bain marie; l'atmosphère est saturée en humidité et la température maintenue entre 32 et 34°. 3h après, les vessies sont à nouveau vidées, mais les urines ne sont pas conservées; le rein étant un organe à grande capacité de réserve, cette urine pouvait être produite pendant la période de non privation d'eau. 6h après le début de l'expérience les urines sont à nouveau collectées, et leur PO (PO finale) est comparée à celle des urines initiales (PO de base).

Remarque : il manque la vérification de la non variation diurne de la PO urinaire. KAVLOCK a montré que la PO ne varie pas (165).

Dans les conditions physiologiques normales, une deshydratation de 6 h provoque une PO élevée par rapport à la PO urinaire de base, et reflète en général le fonctionnement de l'anse de HENLE.

Pour les animaux de 6 semaines, on les sépare de leur nichée, et placés dans une cage à métabolisme pendant 24h, nourris ad libidum. Au terme d'une période de 6h, on recueille l'urine (PO basale). Les animaux sont replacés dans des cages à métabolisme; au terme d'une 2ème période de 6h on recueille à nouveau les urines, mais qu'on ne conserve pas. Au cours de ces 2 premières périodes de 6h les animaux sont soumis à une déprivation. 12h après on recueille les urines qu'on utilise pour la PO finale.

D) - Protocole d'étude de l'influence de la lactation en période pré-sevrage. (Administration de GENTAMICINE par voie mammaire).

Après la parturition les animaux (mères et NN) sont répartis en 4 groupes :

- TT : mère témoin + nouveau-né témoin
- GG : mère gentamicine + nouveau-né gentamicine
- TG : mère témoin + nouveau-né gentamicine
- GT : mère gentamicine + nouveau-né témoin

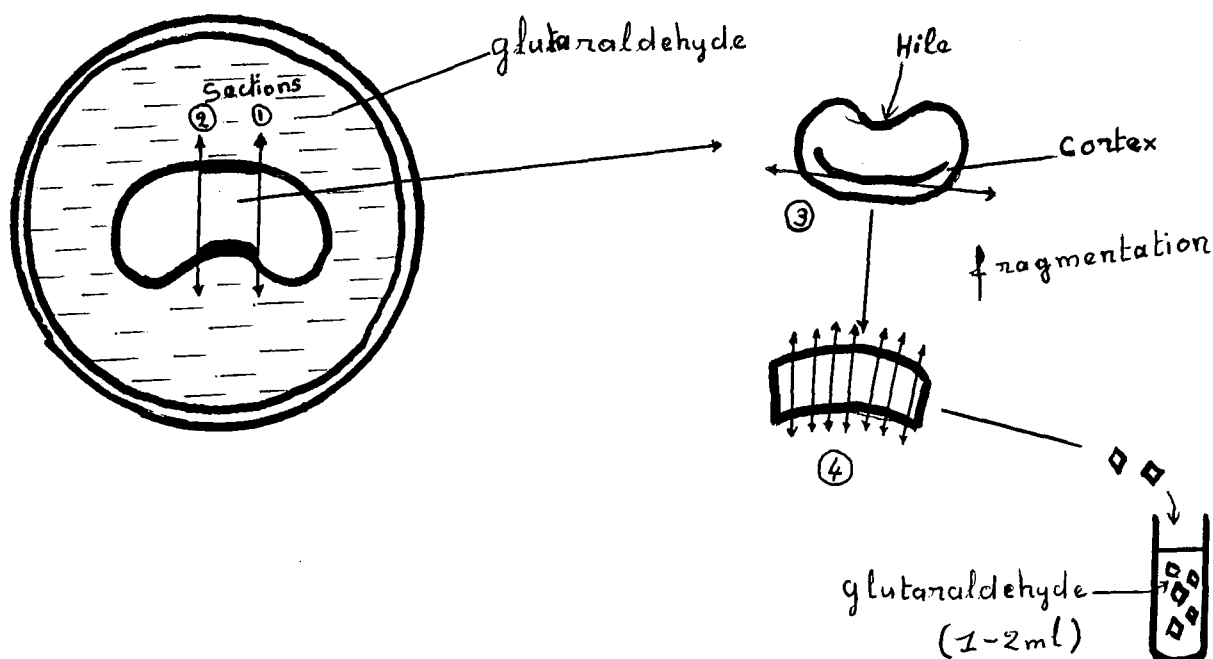
Chaque portée se compose de 8 nouveaux nés (X4 portées) dont 4 seront étudiés à D12 et les 4 autres à 6 semaines (schéma) Par portée on prélève systématiquement sur un animal (à D12 et à 6 semaines) :

- le rein gauche pour la microscopie électronique (étude morphologique),
- le rein droit que l'on pèse.

Les collectes d'urine et de sang se font selon les techniques précédemment décrites.

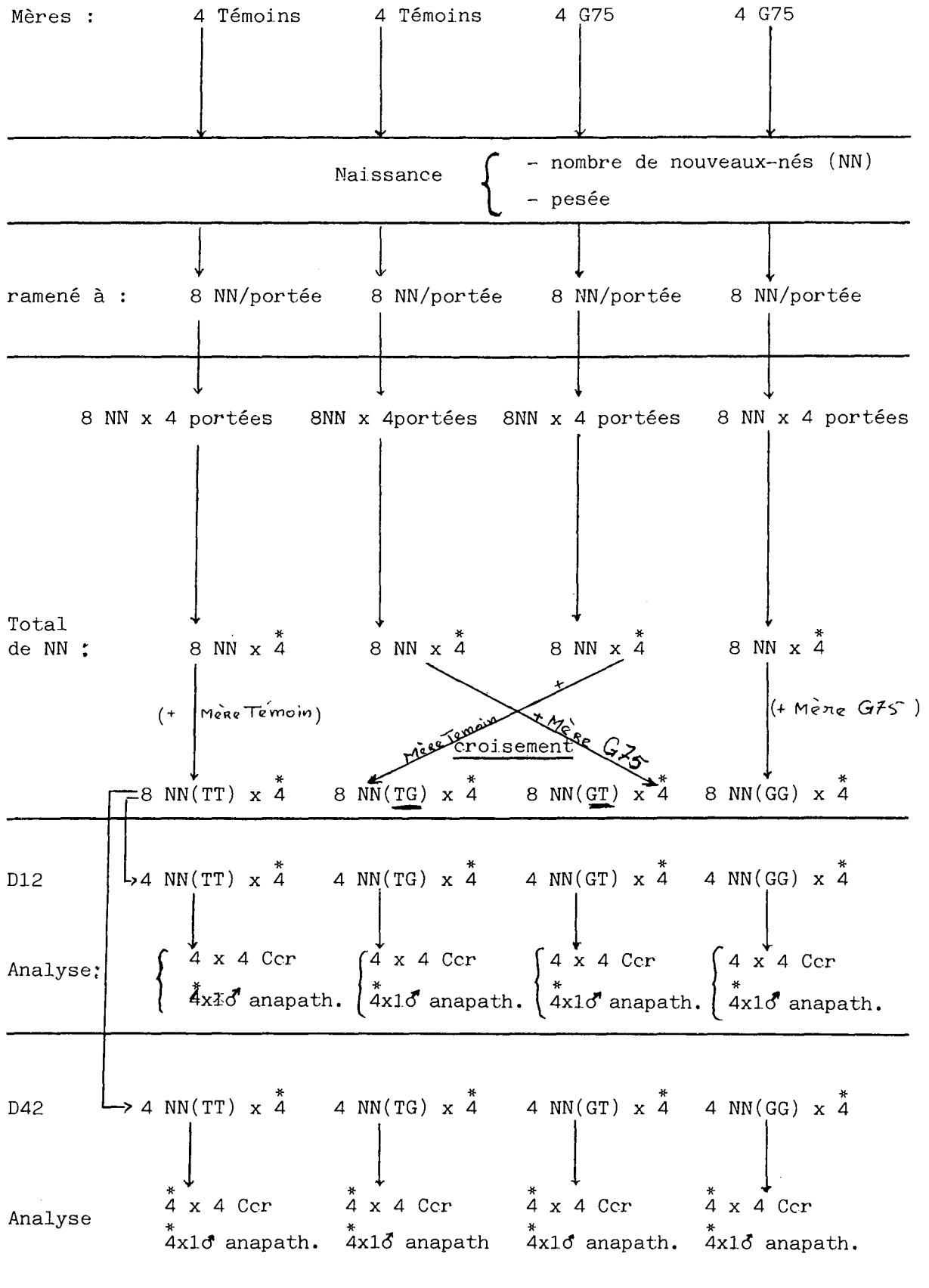
### Technique de prélèvement des reins

- Prélèvement d'un mâle choisi au hasard,
- Mettre l'animal en décubitus dorsal, ouvrir le ventre,
- Prélèvement de :
  - \* rein gauche : à la droite de l'opérateur → microscopie électronique,
  - \* rein droit : à gauche de l'opérateur → pesée.
- Préparation du rein gauche pour la microscopie électronique.



- Rein droit : pesée.

Constitution des groupes



\* indique le nombre de portées

1♂ anapath. = rein droit prélevé sur un mâle pris au hasard aux fins d'analyse en microscopie électronique.

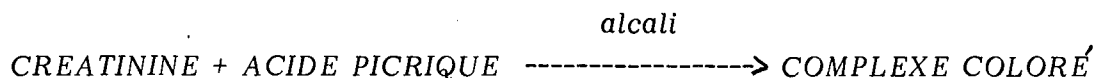
#### IV - ANALYSE DES ECHANTILLONS

##### A) - Détermination cinétique de la créatinine

On utilise la technique modifiée de JAFFE ; méthode décrite pour le dosage de la créatinine dans les liquides biologiques.

##### Principe

Dosage cinétique de la créatinine sans déprotéinisation : mesure pendant une minute du composé formé par la créatinine et l'acide picrique en milieu alcalin. L'équation de la réaction peut ainsi s'écrire :



En solution alcaline, la créatinine forme avec l'acide picrique un complexe de couleur jaune-orangé. Dans cette méthode la concentration de l'acide picrique est faible et il ne se produit pas de précipitation protéique. Le taux de formation du complexe créatinine-alcali-picrate (structure non déterminée) est proportionnel à la concentration de créatinine dans l'échantillon. La quantité de complexe formée est déterminée spectrophotométriquement à 520 nm. Par suite de l'évolution rapide de la réaction entre la créatinine et l'acide picrique, les réactions secondaires ne se déclenchant que tardivement ne sont pas gênantes.

##### Réactifs

##### Concentrations

- solution 1

étalons créatinine

7,5 ; 10 ; 15 ; 30 et 50 mg/l

- solution 2

Tampon Hydroxyde de Sodium

{ Na OH 313 mM/l  
P 12,5 mM/l

- solution 3

réactif de coloration : acide picrique

8,7 mM/l

Remarque : Le NaOH tamponné est préparé dans un tampon borate/phosphate.

Matériel

Analyseur automatique ABA 100 - ABBOTT Diagnostic Division

Filtre 500/600 nm

Plateau de dilution 1/26

Echantillons : plasma (pur), urine diluée au 1/6 dans l'eau distillée.

Conditions opératoires

1) - Solution de travail : à préparer extemporanément

Mélanger : - solution 2 ----- 1 Volume

- solution 3 ----- 1 Volume

stabilité : 24h à 20-25°C

2) - Réglage de l'appareil

3) - Composition du carroussel

godet 01 : eau distillée (relevé)

godet 02 : eau distillée (relevé)

godet 03 : eau distillée (abaissé)

godets 04 à 06 : étalons 7,5 - 10 - 15 mg/l dans le cas du plasma.

+ godet 07 : étalon 30 mg/l dans le cas de l'urine

godets suivants : échantillons.

4) - Détermination du coefficient de calibration (CC)

Passer une série d'étalons : 7,5 ; 10 et 15 mg/l plus 30 mg/l si urine.

faire : somme [éta lon] i/DOi = Z

$$CC = \frac{Z}{\text{nb d'étalons}} \times d \text{ (résultat en mg/l)}$$

d = facteur de dilution (plasma d=1)

pour déterminer la concentration de l'échantillon x :

$$[Cr] = CC \text{ en mg/l } \times DO$$

### Signification clinique du dosage de la créatinine

La détermination *in vitro* de la créatinine, particulièrement de la clairance de la créatinine, réalisé ensemble avec le dosage de l'urée dans le sérum, est important pour évaluer la fonction rénale.

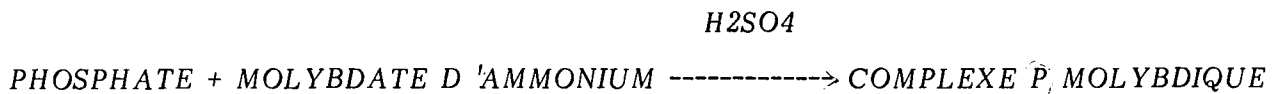
### B) - Dosage du Phosphate

#### Principe

La méthode est basée sur la réduction du complexe phospho-molybdique en bleu de molybdène. L'agent réducteur utilisé est le sulfate p-Méthylaminophénol.

Pour conserver les protéines solubles dans le mélange réactionnel qui est acide le réactif réducteur contient un surfactant.

L'équation de la réaction est la suivante :



La formation du complexe est proportionnelle à la concentration en phosphate de l'échantillon. La quantité de complexe formée est déterminée sur un spectrophotomètre à 690 nm.

#### Réactifs

Principes actifs Concentration dans réactif

. Réactif réducteur :

- sulfate de p-Méthylaminophénol ----- 5 g/l

. Réactif molybdique :

- paramolybdate d'ammonium ----- 10 g/l

- acide sulfurique ----- 21 g/l

- Etalon phosphate ----- 50 g/l

Note : le réactif molybdique contient un catalyseur.



Reconstitution

Ajouter un volume de réactif molybdique à 10 volumes de réactif réducteur pour préparer le réactif de travail (solution extemporanée).

Mode opératoire

	Témoin	Standard	Echantillon
eau distillée	30 ul	-----	-----
standard	-----	30 ul	-----
échantillon	-----	-----	30 ul
réactif de travail	100 ul	100 ul	100 ul

Incubation à température ambiante pendant 30'  
Lecture à 691 nm au photomètre.

Calcul

$$\text{Concentration en Pi (mMole/l)} = \frac{[\text{standard}]}{\overline{\text{DO}}_{\text{Standard}}} \cdot d \cdot 0,0232 \cdot \text{DOx}$$

C) - Dosage des électrolytes Na, K et Cl

1°) - Dosage du Na et K

Les ions Na<sup>+</sup> et K<sup>+</sup> (avec le Cl<sup>-</sup> et H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) présents dans les liquides du corps jouent un rôle important dans le maintien de l'équilibre hydrique entre les cellules, le plasma et les liquides interstitiels par le biais de la pression osmotique qu'ils exercent. Outre leur influence sur la distribution de l'eau dans le corps, le Na et le K jouent un rôle dans la contraction musculaire en assurant l'environnement nécessaire à cette dernière.

Pour doser le Na et le K, la technique la plus employée est la photométrie de flamme. Pour des raisons techniques, nous avons utilisé le dosage par électrodes sélectives au moyen d'un analyseur digital Na/K à lecture directe : le CORNING 902 qui peut être réglé pour

donner des résultats comparables à ceux de la spectrométrie de flamme (+ 2%).

### Principe du fonctionnement

Le principe de base consiste en une mesure de la DDP entre des électrodes sélectives d'un ion et une électrode de référence. Dans une solution électrolytique, les sels les plus simples se dissocient en leurs ions. Il se produit alors un échange électrique entre une électrode donnée et les ions qui lui correspondent avec production d'une DDP entre l'électrode sélective de l'ion et l'électrode de référence. L'électrode de référence a un potentiel relativement constant quelque soit le liquide à analyser.

Le potentiel d'une électrode est donné par la formule de NERNST:

$$E = E_0 + \frac{RT}{nf} \ln (f.C)$$

où  $E$  = Potentiel de l'électrode sélective de l'ion  
 $E_0$  = Potentiel de référence  
 $n$  = nombre d'électrons impliqués dans la réaction  
 $F$  = constante de Faraday  
 $T$  = Température absolue  
 $(C)$  = activité ionique  
 $f$  = coefficient d'activité.

Remarque : Etant donné que la force ionique du sang total, du plasma et du sérum est relativement constante dans la gamme des valeurs physiologiques, le coefficient d'activité ( $f$ ) des ions sodium et potassium peut être considéré comme constant.

En pratique, la DDP entre l'électrode de référence et l'électrode Na est à 25°C est :

$$E_{Na} = 59,16 \times \log C_{Na} \text{ mV}$$

et celle qui existe entre l'électrode de référence et l'électrode K est:

$$E_K = 59,16 \times \log C_K \text{ mV}$$

où  $E_{Na}$  = DDP de l'électrode Na

$E_K = DDP$  de l'électrode K

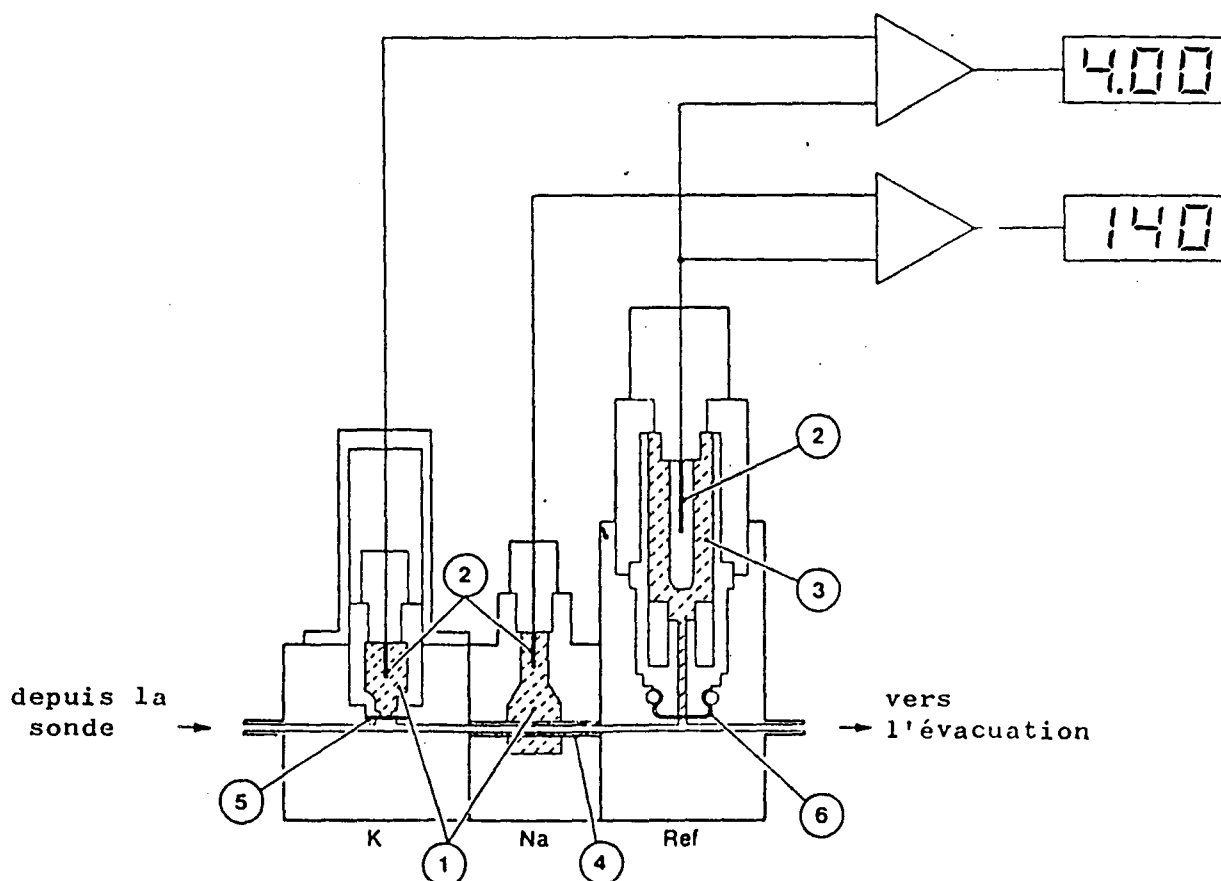
$C_{Na}$  = concentration en ions  $Na^+$

$C_K$  = concentration en ions  $K^+$

de sorte qu'il est possible d'obtenir la concentration ionique en Na et K en mesurant les potentiels des électrodes.

### Les électrodes sélectives

Les électrodes sélectives sont schématisées sur la figure 16 ci-dessous :



**Figure 16.** Electrodes K, Na, et de référence

- 1. Solution de remplissage de l'électrode; 2. Fil d'argent enrobé de chlorure d'argent; 3. Solution de KCl 4M; 4. Capillaire en verre sensible au sodium; 5. Membrane PVC sensible au K; 6. Membrane de la référence.

Les DDP de l'électrode Na ou K par rapport à l'électrode de référence passent par des amplificateurs différentiels possédant une sortie à forte impédance. Le microprocesseur convertit les signaux analogiques en digitaux et effectue une conversion antilog et une détection du point final de l'analyse.

## 2°) - Dosage des ions Cl<sup>-</sup>

Les ions Cl<sup>-</sup> jouent (comme les Na<sup>+</sup> et K<sup>+</sup>) un rôle important dans le maintien de la distribution normale de l'eau entre la cellule le plasma et les fluides interstitiels en raison de la PO qu'ils exercent.

### Principe

Ce principe est basé sur la réaction entre les ions Cl et Ag libérés par les électrodes en formant le AgCl sous forme de précipitation.

La méthode utilisée est celle de VOLHARD de l'estimation des chlorures, les protéines étant oxydées par la méthode utilisant une solution de nitrate d'argent dans l'acide nitrique concentré. La matrice organique est détruite et les chlorures précipités en même temps. L'excès de NO<sub>3</sub>Ag est alors titré avec un standard thiocyanate.

### Réactifs

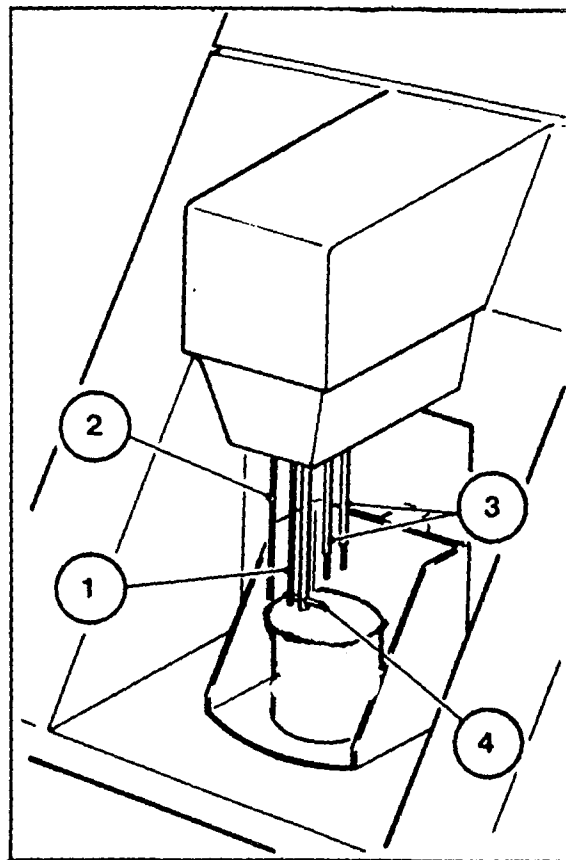
Solution standard de NaCl 100 mM Cl/l (100 mEq/l)

Solution tampon acide combiné : constitué d'un mélange d'acides nitrique et acétique (maintenir le ph correct pendant le cycle complet des titrations) et d'un stabilisateur de colloïde (pour prévenir la précipitation).

### Méthodologie

La technique consiste à ajouter un volume précis de l'échantillon (20 ul) au tampon acide. Le 925 CORNING titre automatiquement les ions chlorures en passant un courant connu entre les 2 électrodes d'argent qui fournissent une génération constante d'ions Ag. Ces ions se combinent avec les ions Cl de l'échantillon et forment le AgCl qui est maintenu en suspension par le stabilisateur de colloïde. Durant la période de titration

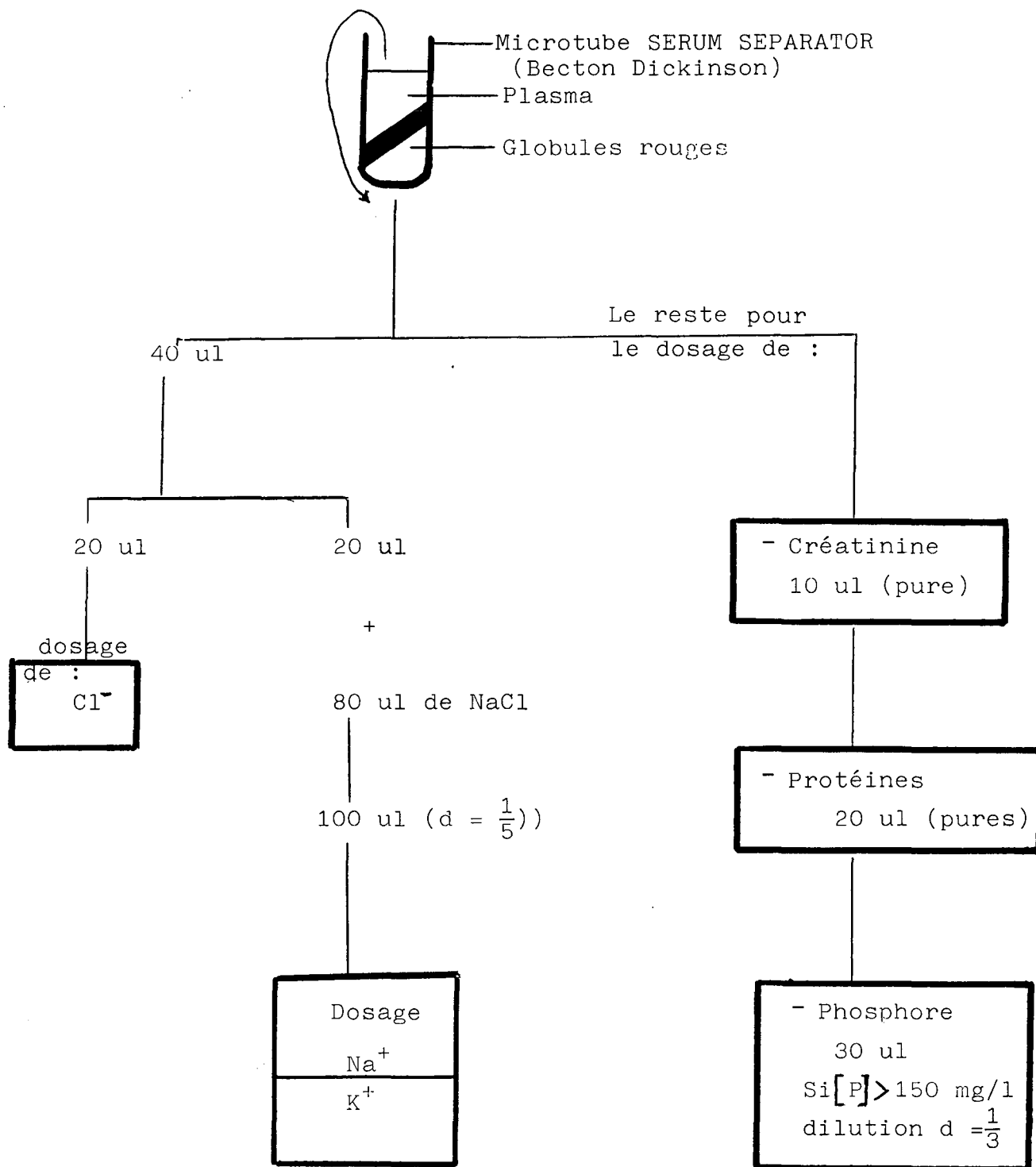
la lecture digitale se fait toutes les 0,2 secondes. Pendant ces périodes le nombre d'ions Ag introduit dans l'échantillon se combine avec une unité de mesure de chlore. Quand tous les chlorures ont été précipités sous forme de AgCl, les ions Ag libres commencent à apparaître et la conductivité de la solution change. Ce changement est détecté par les électrodes sensibles et la lecture est stoppée affichant le résultat directement en mmole /l de Cl. Un autre échantillon peut alors être dosé.



**Figure 17.3 Electrodes and Electrode Head**  
1. Anode 2. Cathode 3. Sense electrodes 4. Stirrer

Protocole suivi pour le dosage de la créatinine

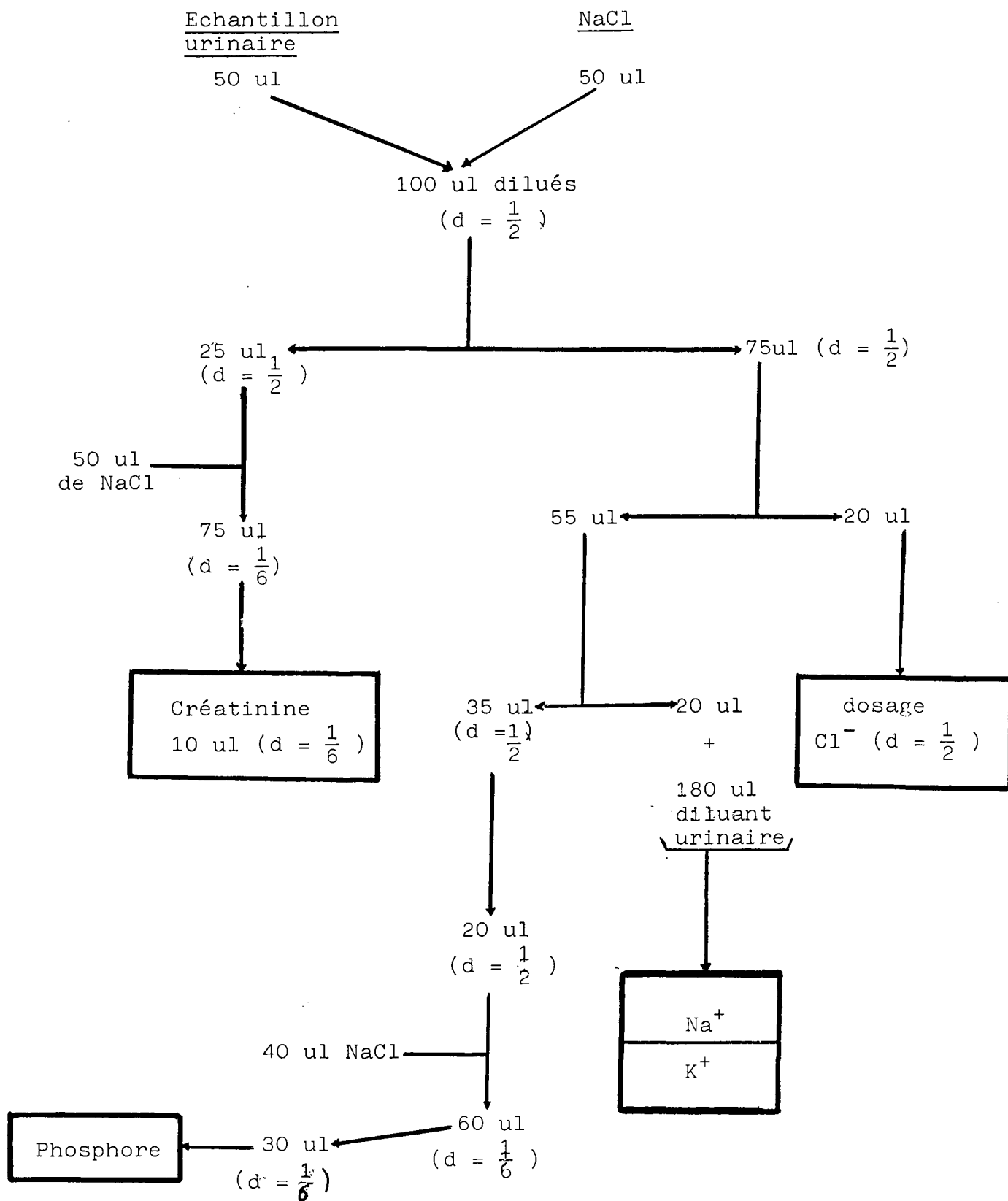
et des électrolytes dans le plasma.



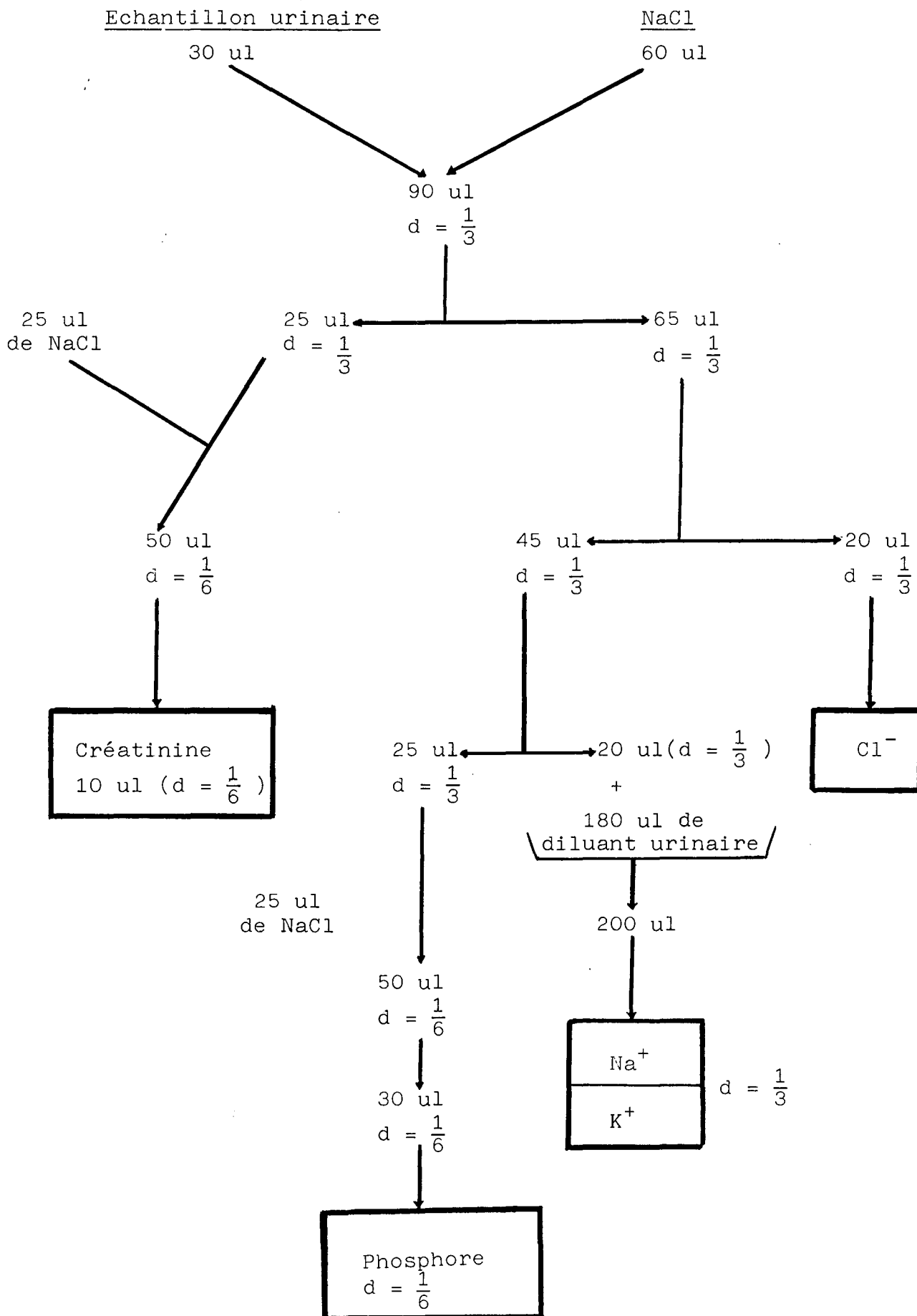
Protocole suivi pour le dosage de la créatinine  
et des électrolytes dans les urines.

Il y a deux possibilités :

a) si le volume urinaire est supérieur à 50 ul/3 heures



b) si  $30 \text{ ul} < \text{Volume urinaire} < 50 \text{ ul}/3 \text{ heures}$





## ADDENDUM

Les calculs de la clairance de la créatinine (Ccr) de la fraction d'excrétion hydrique, <sup>et</sup> de la fraction d'excrétion des électrolytes sont effectués selon les formules :

$$C_{cr} = \frac{U_{cr} \cdot V}{P_{cr}}$$

(ul/h/g)

$$FE_{H_2O} = \frac{V}{FG} \cdot 100$$

(%)

$$FE_{Na, K, Cl \text{ et } Pi} = \frac{C_{Na}}{FG} = \frac{U_{Na} \cdot V}{P_{Na}} \cdot \frac{1}{FG}$$

(%)

Ucr = concentration urinaire de la créatinine

Pcr = concentration plasmatique de la créatinine

FG = filtration glomérulaire ; C<sub>Na</sub> = clairance du sodium ; V = diurèse

Les résultats sont exprimés en moyenne  $\pm$  ESM. Une analyse de variance a été effectuée ; lorsqu'une différence significative était observée, le test "t" de Student était réalisé entre la série traitée et le groupe témoin. Le seuil de significativité retenu était  $p < 0,05$ . La recherche d'une corrélation entre 2 ou plusieurs paramètres est faite en utilisant le programme statistique prévu à cet effet à l'aide d'une calculatrice scientifique (Casio scientific calculator fx-180P).  
*r* = coefficient de corrélation.

*A* = coefficient de Rebroussement ou de Régression.

La puissance ou significativité du coefficient de corrélation est calculée en utilisant le test "t" de STUDENT avec après avoir effectué le changement suivant :

$$|t_{cal}| = \frac{r}{\sqrt{1-r^2}} \times \sqrt{n-2}$$

\*  $p < 0.05$     \*\*  $p < 0.01$     \*\*\*  $p < 0.001$



## CHAPITRE VII

### POINT SUR LES TRAVAUX ANTÉRIEURS

*'Le bénéfice d'un héritage implique  
qu'il faut le faire fructifier'.*

*Proverbe Congolais*

## POINT SUR LES TRAVAUX ANTERIEURS

Les travaux que nous rapportons ici ont été surtout réalisés chez le rat, dont les 2/3 de la néphrogenèse se déroulent pendant les quinze jours de vie après naissance.

- **KAISLING et STATON** (171, 172, 175, 176)

Après une administration chronique du furosémide ces travaux mettent en évidence des modifications morphologiques qui consistent en une hypertrophie du tube distal, avec dilatation diamétrale. Ces variations accroissent la surface d'échange et aussi le nombre d'unités enzymatiques de la membrane basolatérale. Ces changements s'accompagnent d'une augmentation de la capacité de transport de solutés dans ce segment tubulaire.

- **EL MERNISSI** (174)

met en évidence une stimulation de l'activité  $\text{Na}^+/\text{K}^+-\text{ATPase}$  à la suite d'un traitement par le furosémide chez le rat adulte.

- **MAILLET** (207)

Etudes histologiques et morphométriques du rein de rat en fin de maturation. L'exposition médicamenteuse in-utero se traduit par des modifications morphologiques rénales à la naissance. La Gentamicine entraîne des altérations tubulaires au niveau du cortex externe. Le furosémide diminue le nombre de glomérules par unité de volume cortical.

- **DUPONT** (193)

Le furosémide semble induire un retard de la maturation rénale, chez le nouveau-né de rat après administration in-utero. Il provoque un retard d'acquisition de la capacité à excréter une surcharge hydrique.

- **MALLIE** (58, 201-206, 208, 209)

Il met en évidence l'existence de néphrotoxicité néonatale chez le rat, à la naissance, après traitement in-utero par la Gentamicine. Cette néphrotoxicité est dose et "Drug" - dépendante. La Gentamicine provoque une atteinte de la différenciation glomérulaire quelque soit l'étape de celle-ci. Des lésions tubulaires sont aussi observées. Ces lésions sont du même type que celles décrites chez l'adulte. Le Furosémide

a induit un retard de la différenciation glomérulaire par réduction de la densité glomérulaire.

### **But de notre travail**

Nous nous sommes donnés comme but de voir si les lésions morphologiques constatées dans les travaux ci-dessus sont accompagnées de lésions fonctionnelles à travers l'étude de la maturation de la capacité de concentration urinaire en période néonatale et chez les jeunes rats après traitement in-utero par la Gentamicine ou Furosémide.

### **Intérêt de cette étude**

L'exploration de la modulation de la maturation de la fonction rénale chez le rat peut être étendue à l'homme : enfant né à terme ou prématuré. Cela permet une adaptation de la prescription et de la posologie chez la femme enceinte, compte-tenu des effets néphrotoxiques constatés post-partum longtemps après la naissance chez le jeune rat.



## CHAPITRE VIII

### RÉSULTATS

*'Les difficultés ont été créées par la Nature pour exalter au plus haut point le génie du chercheur'.*

P. BOULLE

## RESULTATS

### I - LE FUROSEMIDE

A) - Etude de la réponse rénale au Furosémide chez les nouveaux-nés de rat témoins ou traités in-utero, en condition d'accès libre à l'approvisionnement en eau et nourriture

- Etude de la Variation pondérale

\* Chez les mères traitées ou non par le Furosémide pendant la gestation. Tableau I

Au terme de la période de gestation, le gain de poids exprimé en % révèle une différence non significative entre le lot témoin et le lot des mères traitées au Furosémide.

Le rapport gain de poids / nb de nouveaux-nés n'est pas non plus significativement différent entre les 2 groupes. Tableau I.

\* Variation de poids chez les nouveaux-nés issus de mères soit témoins soit traitées par le Furosémide. Tableau II.

Quelque soit le groupe considéré le poids varie avec l'âge.

A D1, les nouveaux-nés de rat du groupe Furosémide sont plus petits (de 10%) que ceux du groupe Témoin ( $p < 0,001$ ).

A D5, la différence de poids entre les 2 groupes n'est pas significative; et le gain de poids est plus important dans le groupe Furosémide (+107%) que dans le groupe témoin (+ 93%).

A D12, le groupe témoin gagne + 94,6% (gain semblable à D5) et le groupe Furosémide gagne + 99%.

La récupération de poids pendant toute la période de croissance étudiée est plus conséquente chez les nouveaux-nés du groupe "Furosémide" que chez ceux du lot témoin. La variation du capital hydrique pouvant en être le facteur causal plutôt qu'une variation dans la masse cellulaire.

Tableau I

Variation du poids corporel chez les mères témoins et chez les mères traitées par le furosémide au cours de la gestation chez le rat.

	Variation du poids corporel (g) pendant la gestation		Gain de poids en pourcentage (%)	Rapport gain de poids <hr/> Nb de nouveaux-nés
	début	fin		
Témoin	318.19 $\pm$ 16.26 (15)	393.80 $\pm$ 21.00 (15)	24.74 $\pm$ 6.21	1.73 $\pm$ 0.36
Furosémide	333.34 $\pm$ 16.27 (15)	407.07 $\pm$ 13.08 (15)	22.11 $\pm$ 3.34	1.91 $\pm$ 0.18

Ces résultats représentent des valeurs moyennes  $\pm$  ESM.

- Etude des variations du débit urinaire. Tableau II

Le débit urinaire a été observé sur une période de 3 heures pendant la croissance de D1 à D12. Il est exprimé en ul/h/g de poids corporel.

Chez les nouveaux-nés témoins, la diurèse pendant cette période de croissance évolue en proportion inverse de l'âge. Les nouveaux-nés "Furosémide" présentent à tout âge, une hyperdiurèse par rapport aux témoins: à D1,  $p < 0,02$ ; à D5, NS ; et à D12,  $p < 0,01$ .

Dans les 2 groupes , la diurèse évolue en sens inverse de l'âge.

- La concentration plasmatique en protéines sanguines ne varie pas entre les 2 groupes à tout âge. Cependant, cette concentration plasmatique augmente en même temps que le poids, c'est-à-dire avec l'âge.

- Etude du débit de filtration glomérulaire (DFG) ou taux de filtration glomérulaire (TFG) . Tableau II.

Le débit de filtration glomérulaire est estimé par la valeur de la clairance de la créatinine endogène (Ccr) exprimée en ul/h/g de poids corporel.

A D1, le Furosémide a provoqué une hyperfiltration glomérulaire chez les animaux du groupe "Furosémide" ( $p < 0,001$ ) comparés aux témoins. L'hyperfiltration persiste à D5, cependant elle n'est plus significative. A D12, la filtration glomérulaire a sensiblement la même valeur dans les 2 groupes d'animaux.

- Evolution de la créatinine à travers l'excrétion et le rapport  $\frac{U}{P}$  de la créatinine. Tableau II

Les variations du rapport  $\frac{U}{P}$  de la créatinine permettent de suivre la créatinine (et indirectement les mouvements de l'eau le long de l'axe tubulaire) et la capacité de concentration urinaire chez les nouveaux-nés de rats.

Chez les animaux témoins comme chez les nouveaux-nés "Furosémide",  $\frac{U}{P}$  créatinine s'élève avec l'âge ; il est cependant plus faible à D1 ( $p < 0,001$ ) et D12 ( $p < 0,001$ ) chez les nouveaux-nés traités in-utero par le Furosémide que chez les animaux témoins.



Tableau II

Poids corporel, gain pondéral, diurèse, concentration plasmatique de la créatinine, clairance de la créatinine, rapport U/P de la créatinine et concentration sérique en protéines chez les nouveaux nés de rat issus de mères témoins ou de mères traitées par le furosémide pendant la gestation. Les résultats sont donnés en moyenne  $\pm$  ESM.

.Jours d'étude	D1		D5		D12	
	Témoin	Furosémide	Témoin	Furosémide	Témoin	Furosémide
Poids corporel (g)	7.12 $\pm$ 0.07 (79)	6.50 $\pm$ 0.08 <sup>***</sup> (84)	13.73 $\pm$ 0.33 (54)	13.48 $\pm$ 0.22 (35)	26.73 $\pm$ 0.88 (39)	26.83 $\pm$ 0.38 (37)
Gain pondéral			+93%	+107%	+95%	+99%
Diurèse (ul/h/g)	3.23 $\pm$ 0.10 (79)	3.63 $\pm$ 0.13 <sup>†</sup> (83)	2.72 $\pm$ 0.19 (54)	2.49 $\pm$ 0.14 (35)	1.89 $\pm$ 0.17 (38)	2.58 $\pm$ 0.17 <sup>**</sup> (37)
Pcr (mg/l)	4.77 $\pm$ 0.07 (79)	4.96 $\pm$ 0.08 (84)	4.48 $\pm$ 0.06 (54)	4.16 $\pm$ 0.11 (35)	4.62 $\pm$ 0.08 (36)	4.95 $\pm$ 0.09 (32)
Ccr (ul/h/g)	63.10 $\pm$ 1.82 (79)	80.80 $\pm$ 3.34 <sup>***</sup> (82)	78.91 $\pm$ 6.54 (54)	85.78 $\pm$ 3.47 (35)	92.42 $\pm$ 5.96 (36)	92.81 $\pm$ 3.14 (32)
U/P cr	21.01 $\pm$ 0.89 (79)	16.93 $\pm$ 0.88 <sup>**</sup> (82)	29.41 $\pm$ 1.64 (54)	38.27 $\pm$ 2.37 (35)	54.09 $\pm$ 2.93 (35)	40.18 $\pm$ 1.86 <sup>***</sup> (32)
Prot.sériques (g/l)	22.10 $\pm$ 0.37 (79)	21.6 $\pm$ 0.23 (82)	28.65 $\pm$ 0.67 (51)	29.41 $\pm$ 0.43 (34)	40.75 $\pm$ 0.70 (38)	40.93 $\pm$ 0.55 (27)

† p < 0.02      \* p < 0.05      \*\* p < 0.01      \*\*\* p < 0.001

Les nombres indiqués entre les parenthèses = effectif du groupe

Tableau IV

Composition de l'urine en électrolytes (Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup> et Pi) et créatinine à D1, D5 et D12. Résultats exprimés en mEq/l.

	D1		D5		D12	
	Témoin	Furosémide	Témoin	Furosémide	Témoin	Furosémide
U <sub>Na<sup>+</sup></sub>	55.21 ± 5.61 n = 79	34.18 ± 3.61 <sup>***</sup> n = 79	67.90 ± 5.47 n = 54	67.03 ± 5.90 n = 31	71.52 ± 6.74 n = 38	44.29 ± 3.71 <sup>**</sup> n = 37
U <sub>K<sup>+</sup></sub>	31.36 ± 1.41 n = 79	42.34 ± 1.73 <sup>***</sup> n = 79	67.01 ± 5.37 n = 53	65.86 ± 2.37 n = 35	95.26 ± 5.96 n = 38	77.42 ± 5.45 <sup>*</sup> n = 37
U <sub>Cl<sup>-</sup></sub>	62.39 ± 3.61 n = 79	40.36 ± 2.67 n = 79	19.34 ± 1.75 n = 55	28.63 ± 1.54 n = 35	17.53 ± 1.03 n = 38	12.81 ± 1.07 n = 37
U <sub>Pi</sub>	ND	ND	14.62 ± 2.34 n = 42	21.57 ± 2.12 n = 26	24.65 ± 1.78 n = 33	22.63 ± 1.59 n = 32
U <sub>Cr</sub>	98.29 ± 3.94 n = 79	80.89 ± 3.34 <sup>*</sup> n = 82	129.17 ± 6.55 n = 54	151.05 ± 7.12 <sup>**</sup> n = 35	250.87 ± 11.81 n = 37	196.47 ± 10.13 <sup>***</sup> n = 37

\* p < 0.05    \*\* p < 0.01    \*\*\* p < 0.001    Les résultats sont exprimés en moyenne ± ESM.

A D5, le groupe Furo a une valeur de  $\frac{U}{P}$  créatinine plus forte que le groupe témoin, mais la différence n'est pas significative.

L'excrétion absolue de la créatinine est plus forte à D1 chez les témoins que chez les nouveaux-nés furosémide (NN Furo ou F75).

- L'excrétion hydrique fractionnée.

Elle varie en sens inverse du rapport  $\frac{U}{P}$  créatinine. Le Groupe Furo-sémide présente à tout moment une hyperexcrétion fractionnée d'eau par rapport au témoin : à D1  $p < 0,001$  ; à D5 sans signification et à D12  $p < 0,05$ . Fig. 18.

- Effet sur la natrémie et la Kaliémie.

#### (Tableau III)

Les nouveaux-nés présentent à D1 et D5 une hypernatrémie ( $p < 0,001$ ) et une hyperkaliémie ( $p < 0,01$ ). A D12, les concentrations sanguines de sodium et de potassium sont plus faibles chez les nouveaux-nés F 75 que chez les témoins (respectivement NS et  $p < 0,05$ ). Le decours temporel de ces paramètres est décroissant de D1 à D12 chez les nouveaux-nés traités alors que simultanément chez les témoins la natrémie est croissante et la kaliémie constante.

- Composition urinaire

#### (Tableau IV)

La concentration urinaire de la créatinine est ostensiblement croissante de D1 à D12 ; celle-ci étant fonction de la masse musculaire. Cependant elle est nettement inférieure chez les nouveaux-nés F75 à D1 ( $p < 0,05$ ) et à D12 ( $p > 0,0$ ). A D5 on a une situation inverse.

La concentration urinaire en  $Na^+$  est plus faible chez les nouveaux-nés F75 à D1 ( $p < 0,001$ ). D5 présente des nouveaux-nés témoins

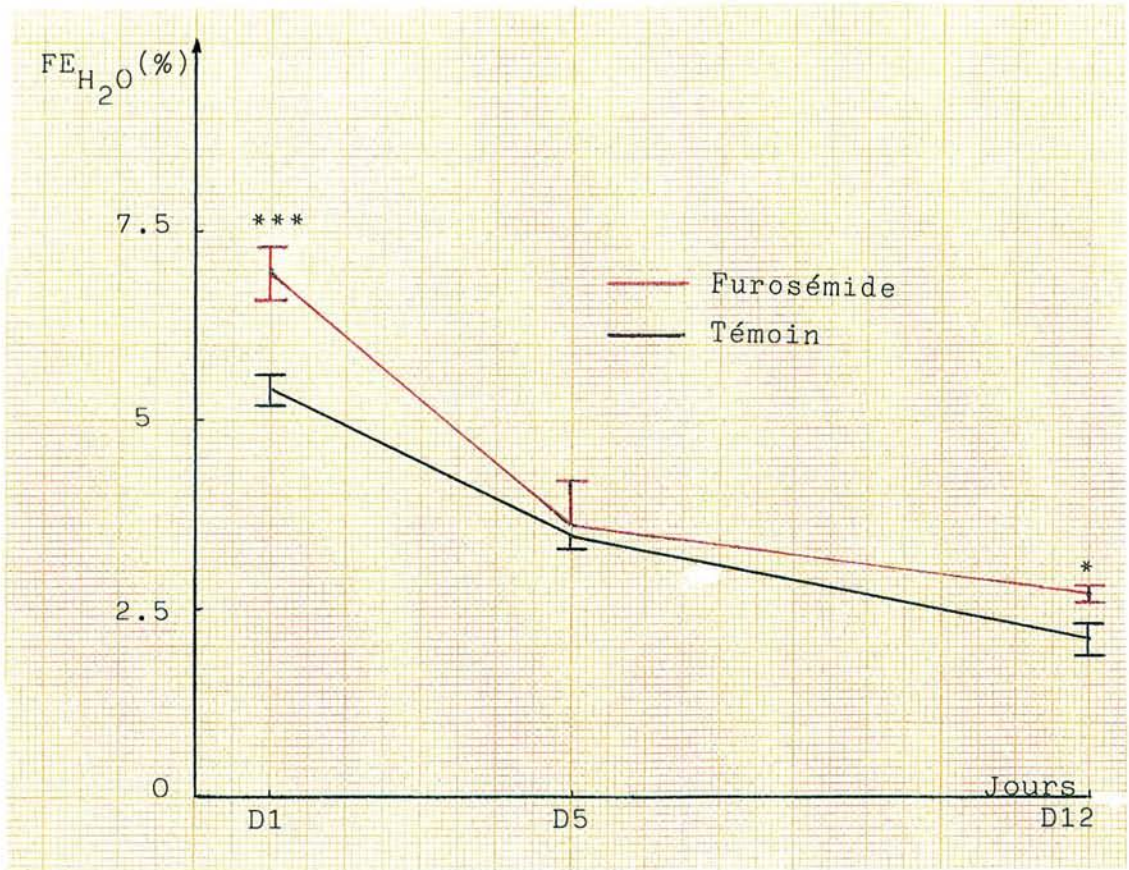


Fig.18 Variation de la fraction d'excrétion hydrique chez les nouveaux-nés de rat de 1, 5 et 12 jours traités ou non au furosémide, in-utero.

\* p < 0,05

\*\*\* p < 0,001

Tableau III

Biologie sanguine chez les nouveaux-nés issus des mères traitées ou non traitées par le furosémide : concentrations plasmatiques de sodium (Na<sup>+</sup>) et potassium (K<sup>+</sup>) à l'âge de 1, 5 et 12 jours chez le rat. Les résultats sont donnés en moyenne  $\pm$  ESM.

	D1		D5		D12	
	Témoin	Furosémide	Témoin	Furosémide	Témoin	Furosémide
Na <sup>+</sup> mEq/l	134.67 $\pm$ 1.77 (75)	179.08 $\pm$ 3.42 <sup>***</sup> (84)	139.89 $\pm$ 3.23 (52)	166.82 $\pm$ 4.50 <sup>***</sup> (35)	147.07 $\pm$ 3.46 (29)	138.82 $\pm$ 3.60 (25)
K <sup>+</sup> mEq/l	6.27 $\pm$ 0.07 (79)	11.84 $\pm$ 1.99 <sup>***</sup> (84)	5.93 $\pm$ 0.24 (54)	6.59 $\pm$ 0.21 <sup>**</sup> (35)	6.65 $\pm$ 0.22 (36)	5.98 $\pm$ 0.13 <sup>*</sup> (30)

\* p < 0.05

\*\* p < 0.01

\*\*\* p < 0.001

et traités par le Furosémide (F75) ayant la même concentration urinaire en sodium ( $\text{Na}^+$ ) ; qui à nouveau devient plus petite chez les animaux F75 à D12.

La Kaliurie chez les nouveaux-nés F75 est plus forte que chez les témoins à D1, s'égalise à D5 puis devient plus faible à D12.

La Chlorurie décroît dans les 2 groupes ; cependant par rapport aux témoins , on a chez les nouveaux-nés Furosémide une hypochlorurie à D1, non observée à D5, puis se revoit à D12.

Il y a une hyperphosphaturie importante à D5 chez les nouveaux-nés Furosémide. Les valeurs à D1 sont manquantes.

\* Excrétion absolue des électrolytes dans l'urine. Tableau V.

Les variations d'excrétion sont résumées dans le tableau V. Elles concernent principalement à D1, les excrétions urinaires de sodium (ENa) plus faible ( $p < 0,01$ ), de chlorure (ECl) aussi plus faible ( $p < 0,001$ ), et de potassium (EK) plus élevée ( $p < 0,001$ ) comparées aux témoins. Aux autres étapes de la croissance, les variations de ENa et de EK ne sont pas significativement différentes. ECl et EPi sont significativement accrus face aux témoins à D5 (respectivement  $p < 0,05$  et  $p < 0,001$ ). A D12 EPi reste significativement accrus ( $p < 0,05$ ) chez les nouveaux-nés F75 alors que la baisse de ECl n'est pas significative. Les valeurs de EPi à D1 sont manquantes.

ENa chez les animaux nouveaux-nés témoins est presque stable de D1 à D5, et diminue à D12. Dans le groupe des animaux traités, ENa de D1 à D12 s'apparente à une courbe en cloche (GAUSS) dans son profil uniquement, avec comme sommet D5. ECl décroît dans les 2 groupes et dans la même période de temps. EK s'élève de D1 à D5, se stabilise de D5 à D12 chez les témoins et chez les nouveaux-nés F75. EPi est manquant à D1, cependant l'excrétion de Pi de D5 à D12 est croissante dans le même intervalle de temps chez les nouveaux-nés F75 ; mais celle-ci reste toujours supérieure à EPi des témoins. Le Furosémide induit un diabète phosphaté.

Tableau V

Excrétion absolue (E) des électrolytes ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  et Pi) et de la créatinine chez les nouveaux nés de rat issus de mères témoins ou de mères traitées par le furosémide. Les résultats sont exprimés en nMoles par heure et par gramme de poids corporel. Les résultats sont donnés en moyenne  $\pm$  ESM.

	D1		D5		D12							
	N	Témoin	N	Furosémide	N	Témoin	N	Furosémide				
$E_{\text{Na}^+}$	79	177.86 $\pm$ 18.38	79	116.16 $\pm$ 11.48**	54	179.43 $\pm$ 21.40	31	217.24 $\pm$ 31.11	38	127.10 $\pm$ 16.14	35	102.29 $\pm$ 7.
$E_{\text{K}^+}$	76	102.49 $\pm$ 5.74	77	148.84 $\pm$ 6.87***	54	183.82 $\pm$ 19.25	35	178.25 $\pm$ 40.02	39	175.89 $\pm$ 17.68	35	186.45 $\pm$ 14
$E_{\text{Cl}^-}$	78	189.00 $\pm$ 8.28	79	140.03 $\pm$ 8.61**	54	51.67 $\pm$ 5.31	35	75.33 $\pm$ 10.68*	38	35.19 $\pm$ 4.56	35	31.23 $\pm$ 2.5
$E_{\text{Pi}}$		ND		ND	43	37.09 $\pm$ 6.89	30	74.42 $\pm$ 3.93***	32	47.54 $\pm$ 4.66	30	60.59 $\pm$ 5.3*
$E_{\text{Cr}}$	79	290.70 $\pm$ 8.99	79	265.98 $\pm$ 14.32	38	345.16 $\pm$ 6.59	32	349.31 $\pm$ 8.45	38	413.94 $\pm$ 23.45	37	453.58 $\pm$ 13.79

ND = Non Déterminé

\*  $p < 0.05$

\*\*  $p < 0.01$

\*\*\*  $p < 0.001$

Quelque soit l'état de l'animal, témoin ou traité au Furosémide, la somme des cations ( $\text{Na}^+ + \text{K}^+$ ) est toujours supérieure à la somme des anions ( $\text{Cl}^-$  et  $\text{PO}_4^{=}$ ) malgré le diabète phosphaté induit par le Furosémide et constaté à D5 et à D12. Ce qui incline à penser que d'autres anions ( $\text{H}_2\text{CO}_3^-$  peut être) accompagnent l'excrétion des cations  $\text{Na}^+$  et  $\text{K}^+$ . Des difficultés techniques ne nous ont pas permis de doser les ions bicarbonates qui nous auraient fait apprécier l'état métabolique de l'animal. Cette différence entre les cations et les anions dosés, définit le trou anionique.

Les figures 19 a et b montrent les variations en % de l'excrétion des ions sous l'action du Furosémide à D1, D5 et D12 par rapport aux témoins.

\* Etude des variations des fractions d'excrétion des ions  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  et  $\text{Pi}$ . (Fig. 20, 21, 22 et 23).

Les animaux du groupe Furosémide présentent une fraction d'excrétion de sodium ( $\text{FENa}$ ) et de Chlore ( $\text{FECl}$ ) inférieures à celle du lot témoin à D1 ( $p < 0,05$ ) et NS respectivement).

L'excrétion fractionnée du potassium ( $\text{FEK}$ ) est plus élevée chez les animaux Furosémide que chez les témoins à D1 et D12 ( $p < 0,001$  et  $p < 0,01$ ). Les valeurs de  $\text{FEPi}$  sont manquantes à D1.

A D5 on a des excrétions fractionnées de sodium ( $\text{FENa}$ ) plus faible (NS), de chlore, de potassium et de phosphate ( $\text{FECl}$ ,  $\text{FEK}$  et  $\text{FEPi}$ ) plus fortes, mais toujours non significatives.

A D12, la fraction d'excrétion dans le groupe F75 reste inférieure (NS) tandis que la  $\text{FECl}$  présente dans les 2 groupes des valeurs à peu près similaires. La  $\text{FEPi}$  est plus élevée ( $p < 0,001$ ) dans le groupe Furosémide.

Le comportement des électrolytes a été également étudié en comparant le rapport  $\text{FENa}/\text{FEK}$  entre les témoins et les animaux traités (F75) aux différents âges d'étude : D1, D5 et D12 : Tableau VI.

A D1 la valeur du rapport  $\frac{\text{FENa}}{\text{FEK}}$  témoin est supérieur au  $\frac{\text{FENa}}{\text{FEK}}$  Furosémide

de 57% et la différence ( $\Delta$ ) est égale à 0,046.



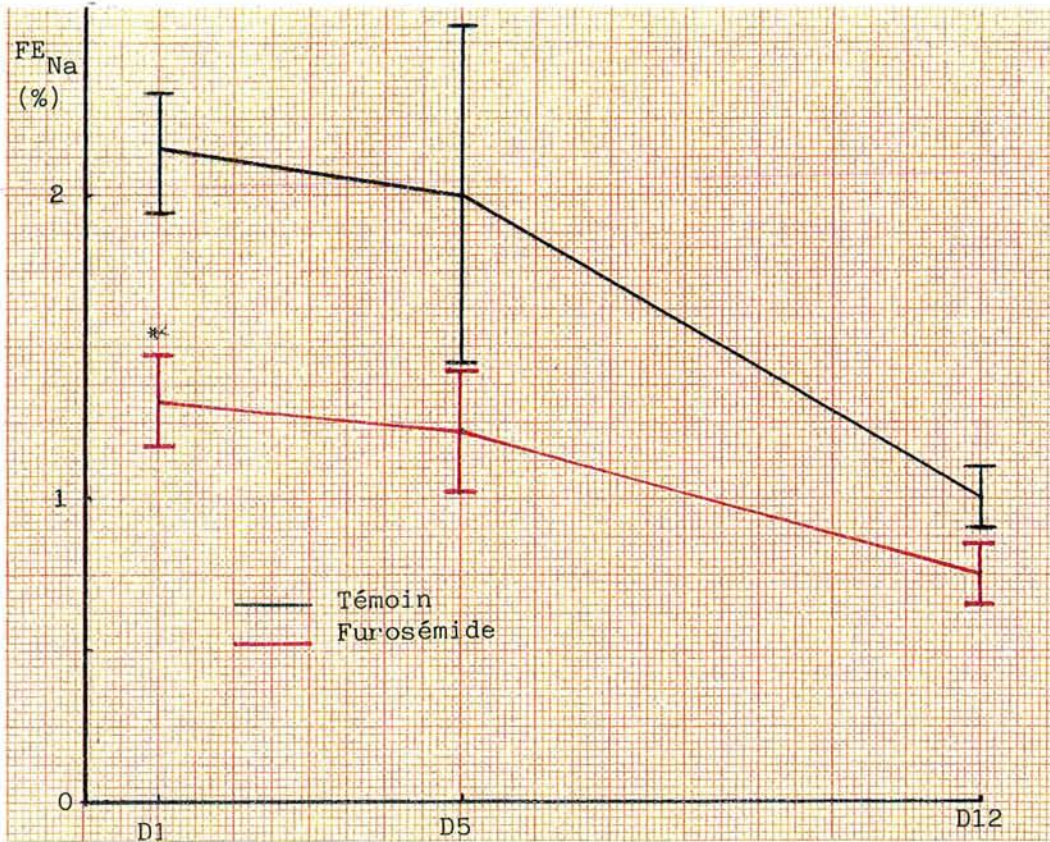


Fig. 20 - Variation de la fraction d'excrétion du sodium ( $FE_{Na}$ ) chez les nouveaux-nés de rat après administration in-utero de furosémide chez la mère gestante. Age des nouveaux-nés: 1,5 et 12 jours. \*  $p < 0.05$

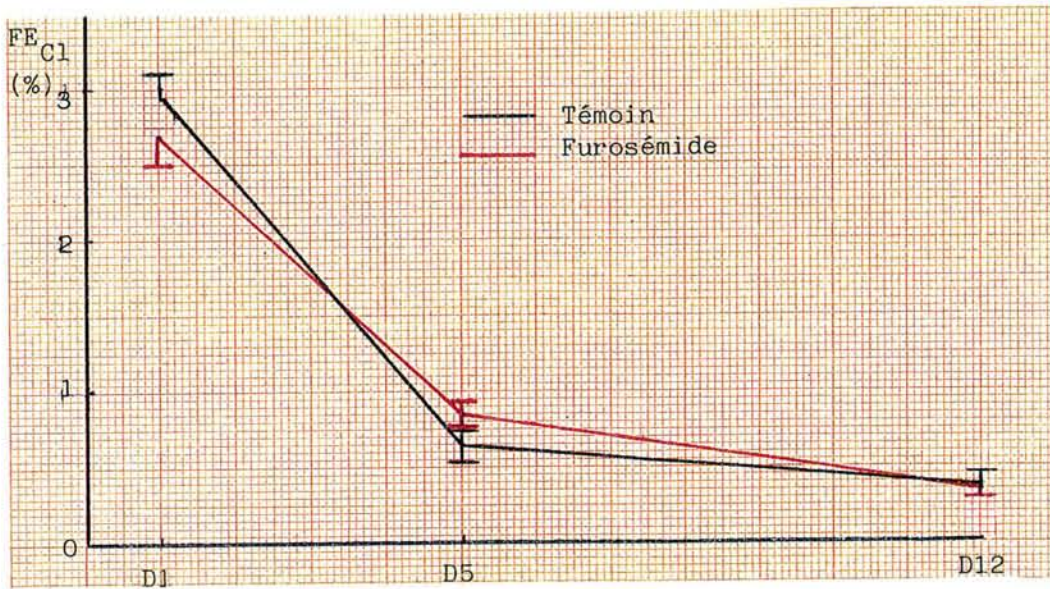


Fig. 21 - Variation de la fraction d'excrétion du chlore ( $FE_{Cl}$ ) chez les nouveaux-nés de rat exposés in-utero au furosémide et âgés de 1, 5 et 12 jours

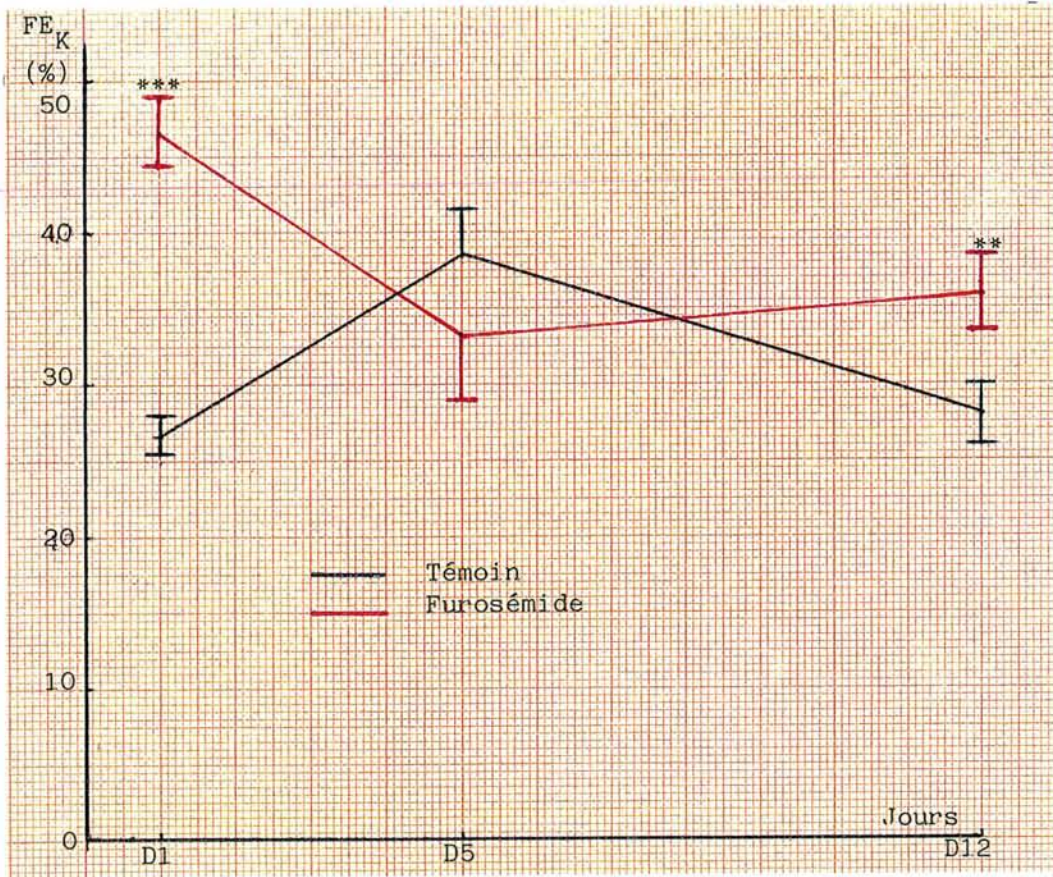


Fig. 22 - Variation de la fraction d'excretion du potassium ( $FE_K$ ) après administration in-utero du furosémide chez les nouveaux-nés de rat âgés de 1, 5 et 12 jours.

\*\*  $p < 0.01$       \*\*\*  $p < 0.001$

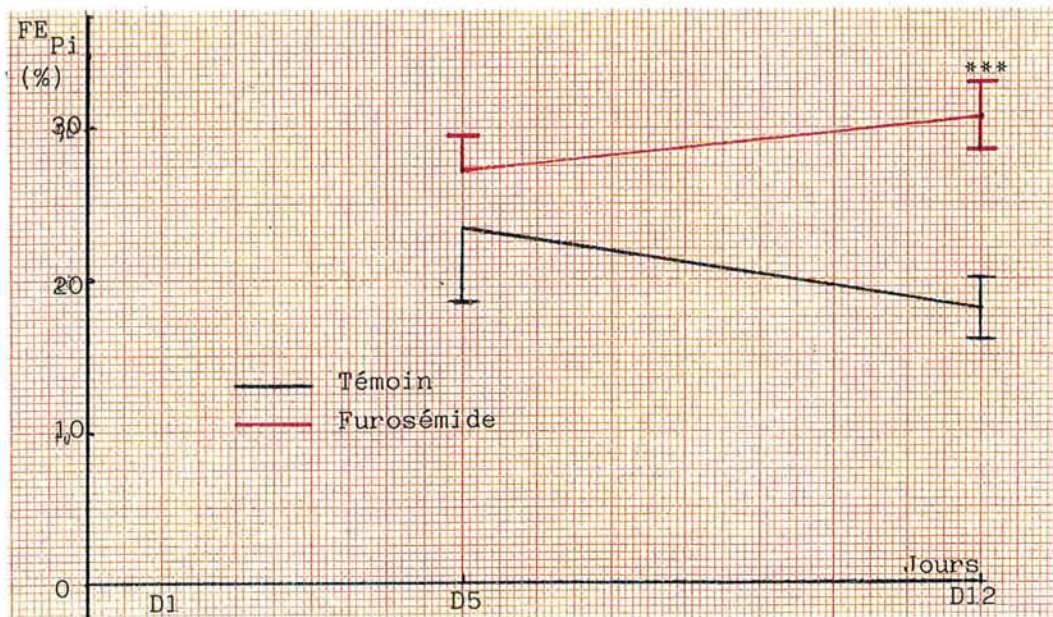


Fig. 23 - Variation de la fraction d'excretion du phosphore ( $FE_{Pi}$ ) après administration du furosémide in-utero chez les nouveaux-nés de rat (Les valeurs de D1 sont manquantes) de 5 et 12 jours.

\*\*\*  $p < 0.001$

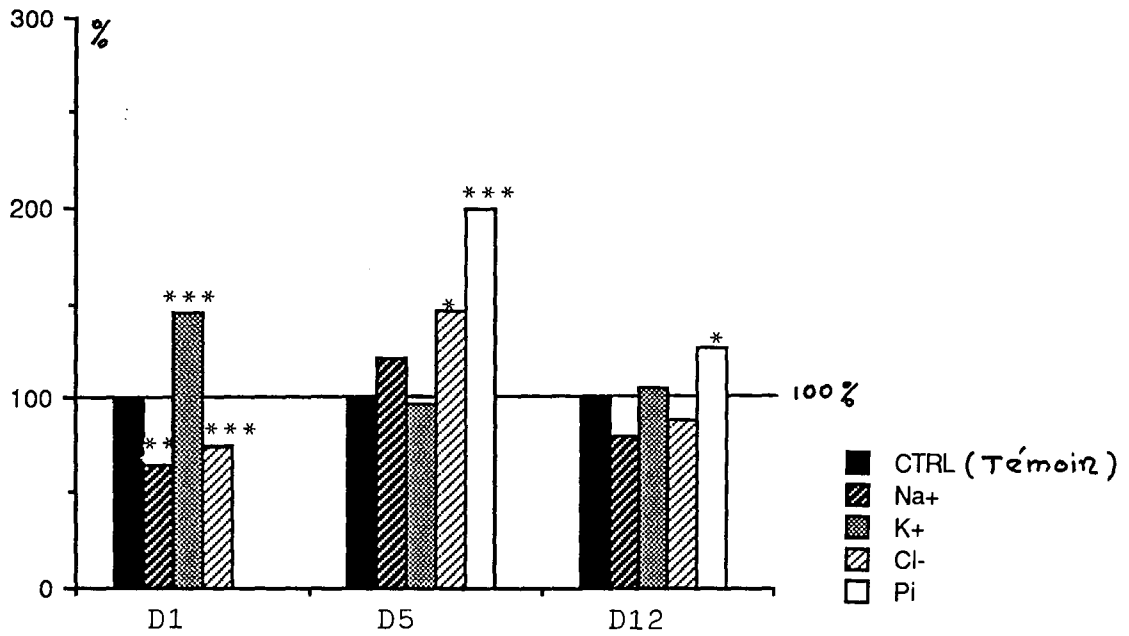


Fig.19 - Variations de l'excrétion des électrolytes en % par rapport au témoin (100%) sous l'action du Furosémide administré in-utero chez les nouveaux-nés de rat âgés de 1,5 et 12jours.  
\*  $p < 0.05$  ; \*\*  $p < 0.01$  ; \*\*\*  $p < 0.001$

Tableau VI

Variation du rapport  $\frac{FE_{Na}}{FE_K}$  au cours de la période d'étude: D1, D5 et D12 chez les nouveaux nés de rat  
 Les résultats sont exprimés en moyenne  $\pm$  ESM.

	D1		D5		D12	
	Témoin	Furosémide	Témoin	Furosémide	Témoin	Furosémide
$FE_{Na}^+$	2.14 $\pm$ 0.22	1.33 $\pm$ 0.15 *	1.98 $\pm$ 0.56	1.26 $\pm$ 0.18	0.96 $\pm$ 0.08	0.77 $\pm$ 0.08
$FE_K^+$	26.75 $\pm$ 1.40	46.83 $\pm$ 2.28 ***	38.63 $\pm$ 3.26	33.39 $\pm$ 4.39	28.07 $\pm$ 1.91	36.18 $\pm$ 3.47 **
$\frac{FE_{Na}^+}{FE_K^+}$	0.080	0.034	0.051	0.038	0.034	0.021
$\Delta \frac{FE_{Na}^+}{FE_K^+}$	0.046		0.013		0.013	

$\Delta \frac{FE_{Na}}{FE_K}$  : représente la différence de ce rapport entre les animaux témoins et les animaux traités par le furosémide.

\*  $p < 0.05$

\*\*  $p < 0.01$

\*\*\*  $p < 0.001$

A D5, cette différence persiste mais nettement moins importante (  $\Delta \frac{FENa}{FEK} = 0,013$  ) et les F75 représentent 75% des témoins.

A D12, le  $\Delta \frac{FENa}{FEK}$  entre les témoins et les F75 reste stable à 0.013;

et les F75 représentent 62% des témoins.

Ceci traduit une tendance à la reprise des mécanismes normaux de transport ionique.

B) - Etude de la réponse hydropénique des animaux traités ou non au Furosémide

Cette étude apprécie le pouvoir de concentration urinaire lorsque l'animal est soumis à une hydropénie. Pour ce faire, on détermine l'osmolarité urinaire avant et après le test. Compte-tenu des microquantités d'urine obtenues chez les animaux âgés de 1 et 5 jours, et compte tenu du fait que l'osmomètre dont nous avons disposés ne nous a pas permis d'effectuer des mesures sur d'aussi faibles volumes, la réalisation d'une telle expérience ne fut possible que chez les animaux de 12 et 42 jours (6 semaines).

Les résultats de ces expériences sont résumés dans le tableau VII.

- Les animaux D12.

L'osmolalité de base n'est pas significativement différente dans les 2 groupes. A l'issue d'une période de déprivation de 6h, les nouveaux-nés Furosémide présentent une osmolalité plus faible que chez les témoins ( $p < 0,001$ ) de 16% : 1026 m Osm / 870 m Osm.

- Les animaux D42.

A 6 semaines d'âge, la différence d'osmolalité entre les 2 groupes (Témoins et traités in-utero au Furosémide) n'est pas statistiquement significative avant et après le test d'hydropénie qui à cet age dure 24 heures. Fig. 24a et Tableau VII.

Tableau VII

Réponse hydropénique des nouveaux-nés témoins et des nouveaux-nés traités in-utero par le furosémide. Les résultats sont exprimés en milliOsmoles (mOsm). \*\*\* p < 0.001

	D12				D42				%
	N	Témoin	N	Furosémide	N	Témoin	N	Furosémide	
Osmolalité de base: (mOsm)	27	294.89 ± 22.22	28	307.29 ± 16.99	27	1688.37 ± 141.14	29	1639.62 ± 79.06	100 %
Durée du Test :		6 heures		6 heures		24 heures		24 heures	
Osmolalité après Test: (mOsm)	27	1026.11 ± 23.84	27	869.96 ± 19.54***	25	3043.44 ± 271.03	28	2920.79 ± 151.18	
Différentiel: (mOsm)	26	717.77 ± 27.31	27	558.74 ± 29.65***	22	1569.50 ± 218.85	26	1356.35 ± 149.27	
Différentiel (en % de la base):		243.40 %		181.80 %		92.96 %		82.72%	

Les résultats sont exprimés en moyenne ± ESM

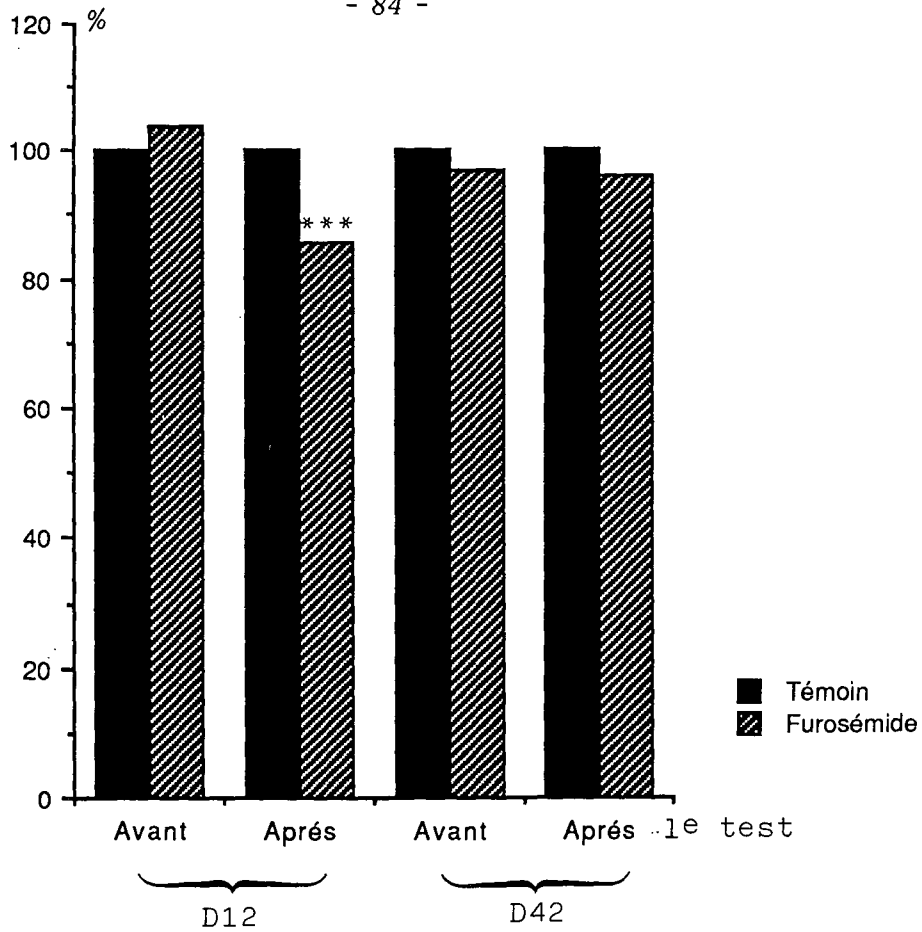


Fig. 24 - a) Variation de l'osmolalité avant et après le test de déprivation en % du témoin (100 % )

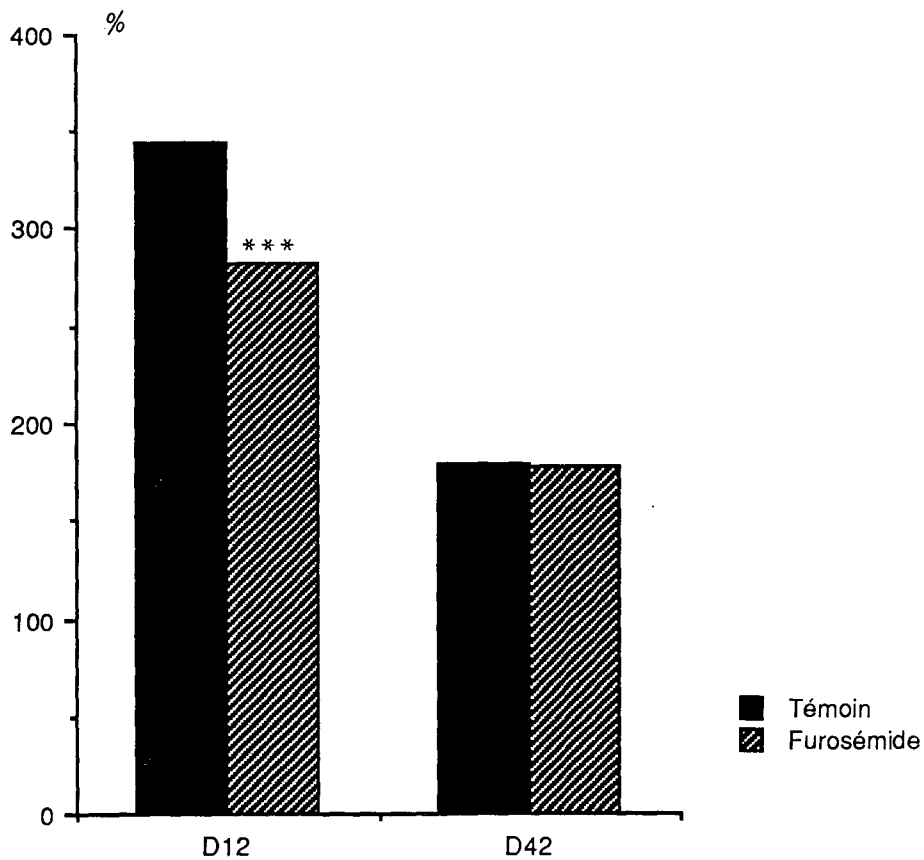


Fig. 24- b) Variation de l'osmolalité à la fin du test , en % de l'osmolalité de base (100 % )

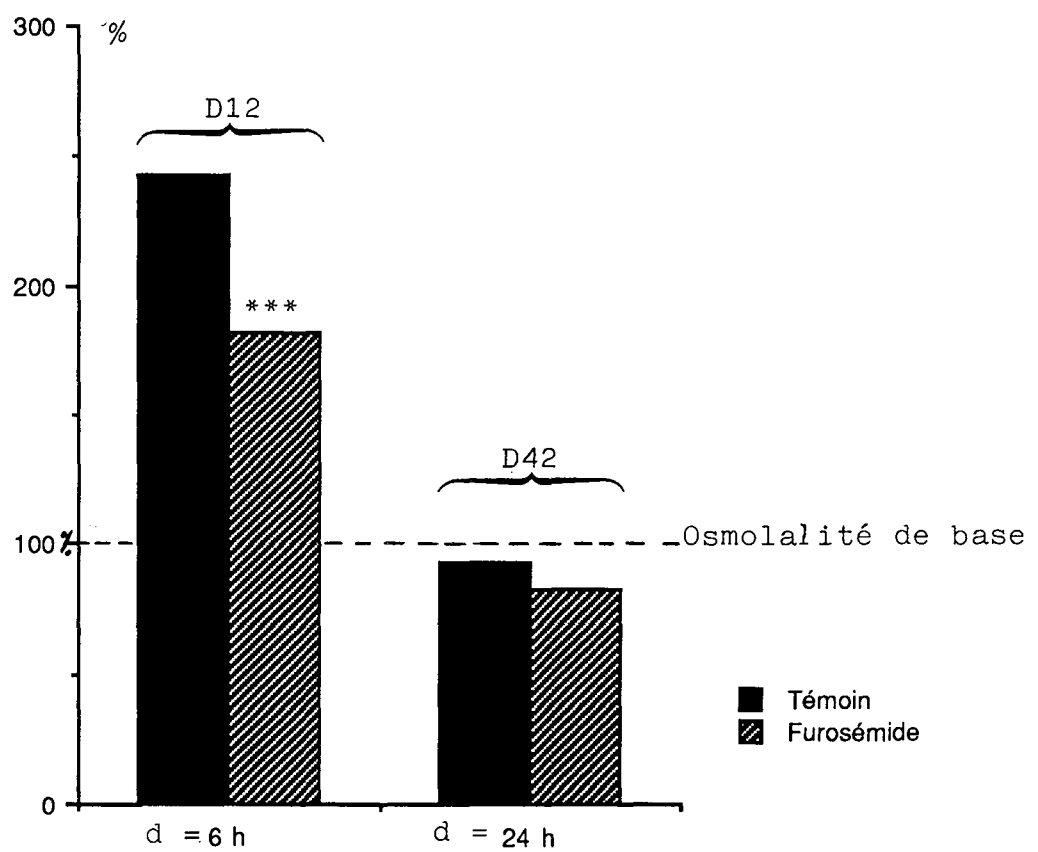


Fig. 24- c) Différentiel osmolaire en % de l'osmolalité de base après une période de déprivation (d)



Ceci pourrait être un indice d'une récupération fonctionnelle tardive de la capacité à concentrer l'urine chez les nouveaux-nés F75.

## II - GENTAMICINE

### A) - Etude des effets de l'administration in-utero de la Gentamicine chez les nouveaux-nés de rat soumis aux conditions normales d'allaitement

- Etude des variations pondérales

#### \* Chez les mères : Tableau VIII et IX

Du début et à la fin de la gestation, la différence de poids n'est pas significative entre le lot témoin et le lot G75, comme en témoignent les valeurs du gain pondéral (en %) pendant cette période.

Le rapport gain pondéral est similaire dans les deux groupes.  
nb de nouveaux-nés

Cependant le nombre moyen de nouveaux-nés par portée est significativement plus élevé dans le groupe Gentamicine (G75).

#### \* Variation de poids chez les nouveaux-nés témoins et G75 Tableau X

Quelque soit le groupe considéré le poids varie naturellement avec l'âge.

A D1, les nouveaux-nés G75 sont plus petits que les nouveaux-nés témoins de 8% ( $p < 0,001$ ).

A D5, et à D12 il n'y a plus de différence significative; cependant à D12 on observe encore un retard de croissance chez les G75 par rapport aux témoins (- 7,55%).

Remarque : les résultats étudiés à l'âge de 12 Jours sont divisés en 2 groupes :

#### 1ère série de résultats

Tous les nouveaux-nés des portées ont été utilisés pour l'expérimentation. Ceci est aussi vrai pour les animaux à D1 et à D5. C'est la série non limitée.

Tableau VIII

Variation de poids avant et après la gestation chez la rate témoin ou traitée à la gentamicine. Les résultats sont exprimés en moyenne  $\pm$  ESM

Mères	Témoin	Gentamicine (G75)
Poids corporel - début :	318.19 $\pm$ 16.26 (10)	307.31 $\pm$ 4.59 (7)
et -fin gestation	393.80 $\pm$ 21.00 ( )	372.94 $\pm$ 0.02 (7)
Gain pondéral (%)	24.74 $\pm$ 6.21	21.33 $\pm$ 2.60
Rapport $\frac{\text{gain}(\%)}{\text{Nb de NN}}$	1.73 $\pm$ 0.36	1.72 $\pm$ 0.21
Nombre moyen de nouveaux-nés/portée à D1	7.9 $\pm$ 0.95	12.57 $\pm$ 0.78

Tableau IX

Nombre de rates gestantes et de nouveaux-nés étudiés  
dans les groupes Témoin et Gentamicine (G75)

	D1		D5		D12		D42	
	Témoin	Gentamicine	Témoin	Gentamicine	Témoin	Gentamicine	Témoin	Gentamicine
Nombre de mères	10	7	<b>9</b>	<b>5</b>	14	14	14	14
Nombre de nouveaux-nés (NN) étudiés	79	88	54	31	59	56	55	59

### 2ème série de résultats

Le nombre de nouveaux-nés par portée a été limité à 8, dont 4 ont servi pour l'étude à D12 et les 4 autres à 6 semaines : c'est la série limitée.

A D42 (6 semaines) le retard de croissance observé à D1 et D12 persiste (-2,86%) mais n'est pas significatif. Le gain par rapport à D12 est 500% pour les témoins et de 531,11% pour les G75 ; soit une vitesse de croissance plus rapide pour les G75 comme l'indique la lecture de la zone hachurée en diagonal du tableau XI. Les animaux malades, hypotropiques à la naissance récupèrent leur poids au cours de la croissance par un rattrapage du retard pondéral observé (excepté les résultats à D5).

#### - Variation de la Diurèse

Au cours de la croissance la diurèse (ul/h/g) baisse régulièrement. A D1 les animaux traités in-utero ont un débit urinaire plus faible que celui de ceux issus du groupe témoin ( $p < 0,05$ ). Cette hypodiurèse persiste à D5 et D12, mais elle n'est pas significative sauf si les portées sont limitées D12 ( $p < 0,01$ ). Tableau XIII.

A 6 semaines apparaît une hypodiurèse chez les animaux G75 ( $p < 0,01$ ).

- Les concentrations plasmatiques en protéines ne sont pas différentes d'un groupe à un autre à un âge donné, mais augmentent avec le poids du corps. Tableau X.

- Etude de la variation de la filtration glomérulaire (FG). Le débit de filtration glomérulaire est estimé par la clairance de la créatinine et exprimée en ul/h/g de poids corporel.

A D1, le groupe G75 présente une filtration glomérulaire significativement plus faible que le groupe témoin ( $p < 0,05$ ). Cette hypofiltration persiste jusqu'à D12 ( $p < 0,01$ ) dans le cas des portées limitées (Tableau XIII) et seulement jusqu'à D5 dans le cas de la série des portées<sup>non</sup> limitées où à D12, les valeurs sont sensiblement les mêmes (Tableau X).

Tableau X

Poids corporel, diurèse, concentration de la créatinine plasmatique, clairance de la créatinine et fraction d'excrétion hydrique chez les nouveaux-nés témoins et chez les nouveaux-nés traités par la gentamicine, âgés de 1, 5, 12 et 42 jours (D1, D5, D12 et D42). Les résultats sont exprimés en moyenne  $\pm$  ESM

	D1		D5		D12		D42	
	Témoin	Gentamicine	Témoin	Gentamicine	Témoin	Gentamicine	Témoin	Gentamicine
Poids corporel (g)	7.12 $\pm$ 0.07 (79)	6.54 $\pm$ 0.07*** (88)	13.02 $\pm$ 0.55 (54)	14.75 $\pm$ 0.99 (31)	27.29 $\pm$ 0.44 (98)	25.23 $\pm$ 0.53 (82)	163.91 $\pm$ 3.21 (55)	159.23 $\pm$ 2.78 (59)
Diurèse (ul/h/g)	3.25 $\pm$ 0.10 (79)	2.75 $\pm$ 0.09* (88)	2.72 $\pm$ 0.19 (54)	2.36 $\pm$ 0.24 (29)	2.20 $\pm$ 0.11 (97)	2.16 $\pm$ 0.10 (70)	1.93 $\pm$ 0.09 (55)	2.66 $\pm$ 0.22** (55)
Pcr (mg/l)	4.77 $\pm$ 0.07 (79)	5.11 $\pm$ 0.08* (87)	4.48 $\pm$ 0.06 (54)	4.39 $\pm$ 0.08 (31)	5.12 $\pm$ 0.09 (90)	5.17 $\pm$ 0.10 (70)	6.01 $\pm$ 0.17 (51)	5.80 $\pm$ 0.16 (54)
Ccr (ul/h/g)	63.10 $\pm$ 1.80 (79)	52.3 $\pm$ 2.3* (84)	78.9 $\pm$ 6.5 (54)	62.2 $\pm$ 3.9 (29)	85.02 $\pm$ 3.26 (90)	84.71 $\pm$ 2.85 (70)	161.50 $\pm$ 6.19 (51)	179.83 $\pm$ 6.9 (53)
FE <sub>H2O</sub> (%)	5.42 $\pm$ 0.23 (79)	6.01 $\pm$ 0.33 (84)	3.44 $\pm$ 0.17 (54)	3.73 $\pm$ 0.28 (29)	2.89 $\pm$ 0.15 (89)	2.87 $\pm$ 0.17 (70)	1.26 $\pm$ 0.07 (51)	1.45 $\pm$ 0.12* (54)
Prot.sériques (g/l)	22.15 $\pm$ 0.37 (79)	21.62 $\pm$ 0.36 (84)	28.65 $\pm$ 0.67 (54)	27.31 $\pm$ 0.87 (29)	40.75 $\pm$ 0.71 (90)	41.75 $\pm$ 0.85 (70)	51.56 $\pm$ 1.09 (51)	54.04 $\pm$ 3.14 (54)

\* p < 0.05

\*\* p < 0.01

\*\*\* p < 0.001

Les chiffres indiqués entre parenthèses = Nombre d'animaux/groupe

Tableau XI

Comparaison des gains de poids (en %) entre : 1°) entre les témoins et les animaux traités in-utero par la gentamicine (G75) , 2°) et à l'intérieur d'un même groupe entre les animaux d'ages différents : D1, D5, D12 et D42

		D1		D5		D12		D 42	
		Témoin	G75	Témoin	G75	Témoin	G75	Témoin	
D1	Témoin					+ 283.29%			
	G75		- 8%***				+ 285.78%		
D5	Témoin					+ 109.60%			
	G75			+ 13.29%			+ 71.05 %		
D12	Témoin							+ 500 %	
	G75					- 7.55%*			+ 531.11 %
D42	Témoin								
	G75							- 2.86 %	

Les zones hachurées représentent le retard de croissance des animaux du groupe G75 par rapport à ceux du groupe témoin; exception faite pour les nouveaux-nés G75 à D5 où ils sont supérieurs aux témoins.

- La concentration plasmatique de la créatinine est supérieure chez les G75 à D1 ( $p < 0,05$ ) ; puis elle reste non significativement différente de celle des témoins, tout en étant cependant supérieure durant la période de croissance étudiée (Tableau X). L'élévation de la concentration plasmatique de créatinine à D1 est une conséquence de la baisse de la filtration glomérulaire, indice précoce d'une insuffisance rénale.

- La capacité de concentration urinaire étudiée à travers l'évolution du rapport de concentration  $\frac{U}{P}$  de la créatinine est à D1 plus

faible pour les G75 que pour les témoins (fig. 25.). A D5 et à D12, on obtient les mêmes valeurs entre les 2 groupes. Dans le cas des séries limitées, on a à D12 des valeurs de  $\frac{U}{P}$  créatinine chez les G75, supérieures

significativement à celles des témoins ( $p < 0,01$ ) Tableau XIII.

A 6 semaines, le groupe G75 présente comme à D1 un rapport de concentration  $\frac{U}{P}$  créatinine inférieur à celui du témoin.

- La fraction d'excrétion hydrique évolue dans le sens inverse de celui du rapport  $U/P$  créatinine. (Tableau X)

A D1 et D5 elle est supérieure chez les G75 (NS).

A D12, elle est la même dans les 2 groupes dans le cas de la série non limitée. Quand le nombre de nouveaux-nés dans une série est limité, la FEH<sub>2</sub>O des G75 est significativement plus faible que celle des témoins ( $p < 0,01$ ).

A 6 semaines, la FEH<sub>2</sub>O des G75 est à nouveau supérieure à celle des témoins ( $p < 0,05$ ). Les troubles de la réabsorption d'eau (et donc de concentration urinaire) persistent comme séquelles des perturbations tubulaires.

- Composition urinaire (U) et excrétion absolue (E) des électrolytes  
Tableau XII.

Le sodium urinaire (mM/l) chez les témoins augmente de D1 à D42, avec un palier entre D5 et D12. Dans le groupe G75, cette augmentation est plus tardive après un début en plateau entre D1 et D5. La [Na] urinaire est toujours plus faible chez les G75 que chez les témoins :

à D1  $p < 0,05$  ; D5  $p < 0,05$ ; D12 (NS); D42 (NS). L'excrétion de sodium (Una.V) exprimée en nMole/h/g débute par un plateau de D1 à D5, baisse à D12 puis s'élève à D42 chez les témoins. Chez les G75, cette excrétion absolue reste stable jusqu'à D12 avant de s'élever à D42. Dans le groupe traité, l'effet de la gentamicine, comparé au témoin, a provoqué une baisse de ENa à D1 ( $p < 0,001$ ), à D5 ( $p < 0,01$ ) et à D12 (NS); à D42 ENa dans le groupe traité est supérieur à celle des témoins (NS)

Le potassium urinaire dans les 2 groupes augmente de D1 à D42. Cependant à D1, il est plus élevé après Gentamicine ( $p < 0,001$ ), plus faible à D5 (NS) et à D42 ( $p < 0,05$ ) ; à D12 la concentration urinaire du potassium est la même dans les groupes d'animaux. L'excrétion absolue du potassium augmente de D1 à D5, baisse à D12 puis s'élève à nouveau à D42 chez les témoins. Chez les G75 cette excrétion s'élève d'abord lentement jusqu'à D12, puis cette augmentation s'accélère à D42. Par rapport aux témoins, les G75 présentent une hyperkaliurèse à D1 ( $p < 0,01$ ), à D12 (NS) et à D42 ( $p < 0,05$ ).

La chlorurie chez les témoins et les G75 diminue avec l'âge jusqu'à D12 pour s'élever à D42. La différence entre les 2 groupes n'est pas significative. L'excrétion absolue est plus faible à D1 ( $p < 0,001$ ) et D12 (NS), et supérieure à D5 (NS) et D42 ( $p < 0,001$ ). Elle décroît de D1 à D12 puis s'élève à D42.

La phosphaturie s'accroît de D1 à D12 puis s'abaisse à D42. Elle est toujours plus faible chez les G75, à D1 ( $p < 0,001$ ) et NS aux autres stades. La phosphaturèse est plus faible à D1 ( $p < 0,01$ ) chez les G75 ; à D5 et D12 les valeurs ne sont pas différentes d'un groupe à un autre; et à D42 on a une hyperphosphaturèse chez les animaux traités.

- Les fractions d'excrétion des électrolytes.

\* Les fractions d'excrétion du sodium (FENa) et du chlore (FECl) diminuent de D1 à D12 puis sont très augmentées à D42. La FENa des G75 sont inférieures à celle des témoins (NS) à tous les âges; excepté à D42 où le groupe témoin ainsi que les G75 présentent des valeurs comparables (Fig. 26 a et d).

Remarque : Quand les portées sont limitées dès la naissance la valeur de la FENa des animaux G75 à D12 est significativement inférieure



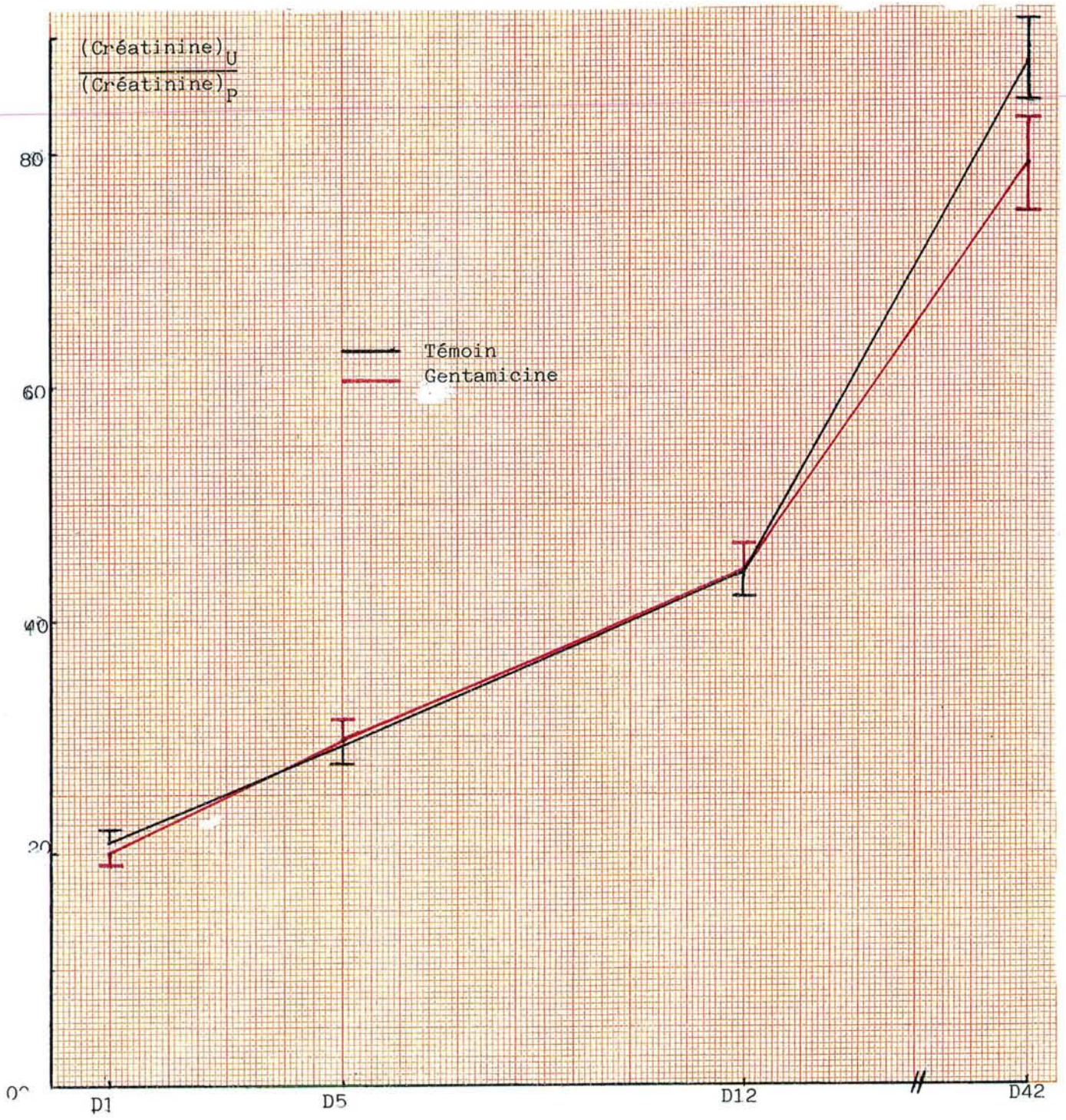


Fig. 25- Evolution du rapport U/P de la créatinine chez les nouveaux-nés de rat de 1,5,12 et 42 jours traités ou non à la gentamicine.

Tableau XIII

Poids du corps, diurèse, concentration plasmatique de la créatinine, clairance de la créatinine, rapport U/P de la créatinine et excrétion fractionnelle en % ) et absolue (E exprimée en nM/h/g) des électrolytes (Na, K, Cl et Pi) chez les nouveaux-nés de rat de 12 jours dans le cas de la série où la portée a été limitée à 8 animaux dès la naissance. Les résultats sont exprimés en moyenne  $\pm$  ESM.

	N	Témoïn	N	Gentamicine
Poids corporel (g)	59	27.65 $\pm$ 0.45	56	23.25 $\pm$ 0.48 <sup>***</sup>
Diurèse (ul/h/g)	59	2.39 $\pm$ 0.13	56	1.94 $\pm$ 0.11 <sup>**</sup>
Créatinine plasmatique (mg/l)	55	5.44 $\pm$ 0.11	50	5.34 $\pm$ 0.12
Ccr (ul/h/g)	55	78.84 $\pm$ 3.70	51	79.78 $\pm$ 3.25
$\frac{U}{P}$ créatinine	55	36.42 $\pm$ 2.37	51	49.24 $\pm$ 3.41 <sup>**</sup>
FE <sub>H2O</sub> (%)	55	3.40 $\pm$ 0.19	51	2.63 $\pm$ 0.21 <sup>**</sup>
FE <sub>Na</sub> (%)	48	1.20 $\pm$ 0.10	49	0.79 $\pm$ 0.08 <sup>**</sup>
FE <sub>K</sub> (%)	52	37.72 $\pm$ 2.81	44	29.69 $\pm$ 2.75 <sup>*</sup>
FE <sub>Cl</sub> (%)	47	0.37 $\pm$ 0.04	45	0.42 $\pm$ 0.05
FE <sub>Pi</sub> (%)	48	40.09 $\pm$ 3.30	39	23.19 $\pm$ 3.12 <sup>***</sup>
E <sub>Na</sub> (nM/h/g)	58	113.73 $\pm$ 8.05	56	83.73 $\pm$ 8.12 <sup>**</sup>
E <sub>K</sub> (nM/h/g)	59	146.46 $\pm$ 10.29	57	133.99 $\pm$ 9.89
E <sub>Cl</sub> (nM/h/g)	58	30.45 $\pm$ 0.02	54	28.22 $\pm$ 2.63
E <sub>Pi</sub> (nM/h/g)	57	59.47 $\pm$ 5.33	47	41.84 $\pm$ 4.60 <sup>*</sup>

\* p < 0.05

\*\* p < 0.01

\*\*\* p < 0.001

Tableau XII

Composition (U) et excrétion absolue (E) urinaires des électrolytes chez les nouveaux-nés âgés de 1,5,12 et 42 jours ayant reçu de la gentamicine in-utero. Les résultats sont exprimés en moyenne  $\pm$  ESM. \*  $p < 0.05$ ; \*\*  $p < 0.01$   
\*\*\*  $p < 0.001$

	D1		D5		D12		D42	
	Témoïn	Gentamicine	Témoïn	Gentamicine	Témoïn	Gentamicine	Témoïn	Gentamicine
U <sub>Na</sub>	55.21 $\pm$ 5.61 (79)	43.02 $\pm$ 3.90* (86)	64.01 $\pm$ 5.37 (54)	38.04 $\pm$ 5.24* (28)	59.59 $\pm$ 3.60 (96)	50.88 $\pm$ 3.05 (79)	143.82 $\pm$ 7.44 (53)	132.13 $\pm$ 8.25 (54)
U <sub>K</sub>	31.36 $\pm$ 1.41 (76)	47.68 $\pm$ 2.73*** (86)	67.90 $\pm$ 5.47 (53)	54.57 $\pm$ 4.03 (28)	75.45 $\pm$ 3.66 (97)	75.20 $\pm$ 3.68 (82)	287.95 $\pm$ 12.87 (51)	265.82 $\pm$ 12.49* (53)
U <sub>Cl</sub>	62.39 $\pm$ 3.61 (78)	54.92 $\pm$ 3.19 (86)	12.34 $\pm$ 1.75 (55)	22.28 $\pm$ 2.10*** (28)	14.24 $\pm$ 0.84 (97)	14.51 $\pm$ 1.01 (81)	161.01 $\pm$ 6.58 (47)	163.04 $\pm$ 8.94 (50)
U <sub>Pi</sub>	0.49 $\pm$ 0.07 (15)	0.12 $\pm$ 0.01*** (15)	14.62 $\pm$ 2.34 (42)	12.87 $\pm$ 0.91 (26)	25.35 $\pm$ 1.34 (91)	21.82 $\pm$ 1.69 (74)	1.80 $\pm$ 0.55 (47)	1.32 $\pm$ 0.50 (52)
E <sub>Na</sub>	177.9 $\pm$ 18.4 (79)	109.2 $\pm$ 8.6*** (86)	179.4 $\pm$ 21.4 (54)	103.5 $\pm$ 18.9** (28)	120.9 $\pm$ 8.1 (95)	115.3 $\pm$ 9.3 (79)	274.8 $\pm$ 16.3 (53)	308.7 $\pm$ 19.6 (55)
E <sub>K</sub>	102.5 $\pm$ 5.7 (76)	126.5 $\pm$ 6.9** (81)	183.8 $\pm$ 19.3 (54)	146.7 $\pm$ 20.2 (28)	159.2 $\pm$ 9.5 (97)	161.9 $\pm$ 9.5 (81)	536.1 $\pm$ 24.2 (51)	601.4 $\pm$ 21.1* (51)
E <sub>Cl</sub>	189.8 $\pm$ 8.3 (78)	136.9 $\pm$ 5.5*** (86)	51.67 $\pm$ 5.31 (54)	58.23 $\pm$ 7.84 (28)	32.32 $\pm$ 2.76 (96)	30.95 $\pm$ 2.24 (81)	294.2 $\pm$ 16.2 (47)	372.6 $\pm$ 16.7*** (50)
E <sub>Pi</sub>	1.6 $\pm$ 0.4 (15)	0.32 $\pm$ 0.02** (15)	37.09 $\pm$ 6.89 (43)	38.01 $\pm$ 5.53 (26)	55.24 $\pm$ 3.84 (89)	51.92 $\pm$ 3.49 (73)	0.78 $\pm$ 0.21 (38)	1.06 $\pm$ 0.23 (38)

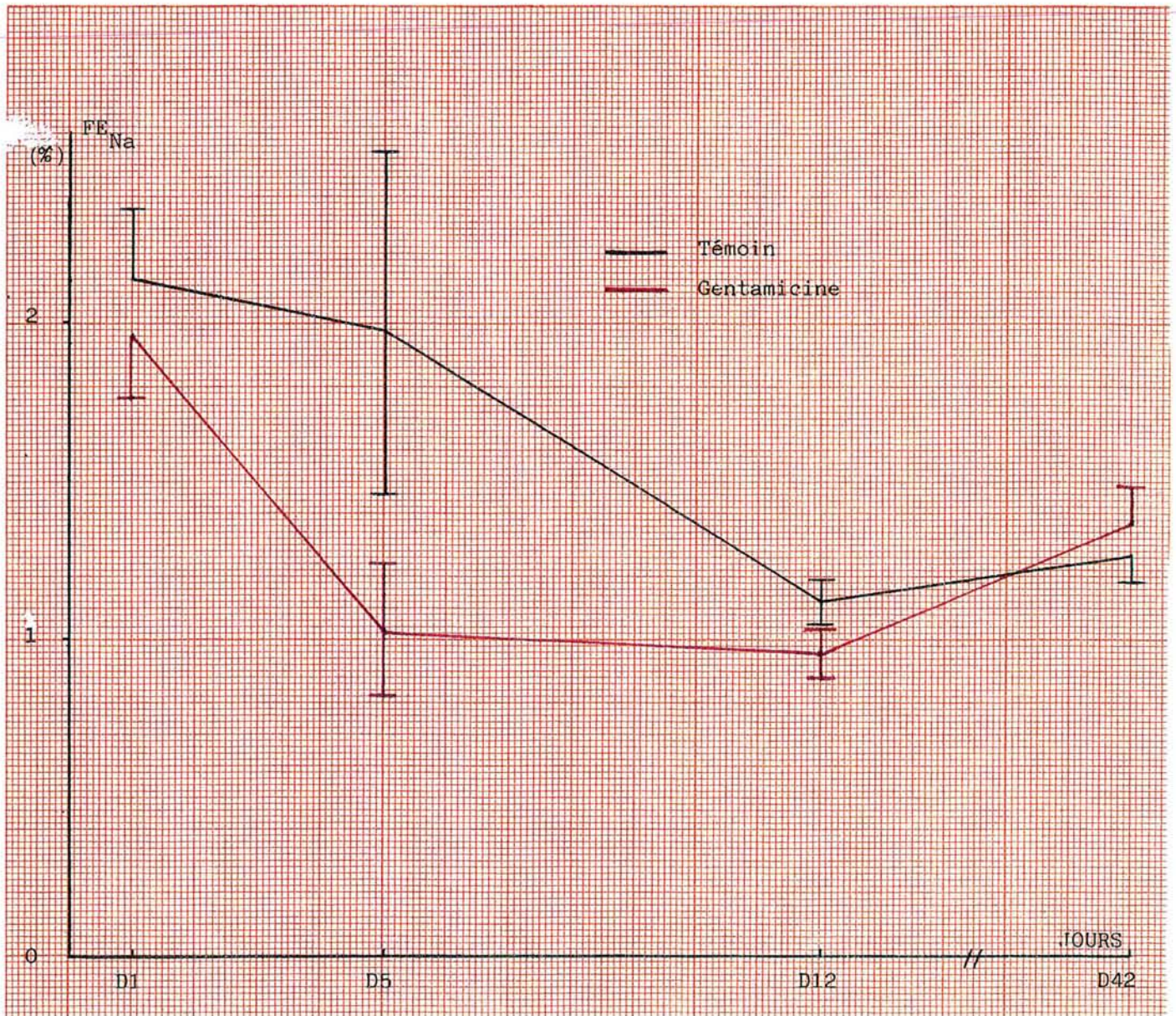


Fig. 26 a

Fraction d'excrétion du sodium ( $FE_{Na}$ ) chez les nouveaux-nés de rat agés de 1, 5, 12 et 42 jours.

à celle des animaux témoins ( $p < 0,01$ ) Tableau XIII.

\* La fraction d'excrétion du potassium (FEK) chez les témoins augmente de D1 à D5, reste stable jusqu'à D12 puis s'élève à nouveau à D42. Dans le groupe traité, la FEK est plus élevée à D1 ( $p < 0,001$ ), puis diminue progressivement jusqu'à D12 où elle devient inférieure au témoin (NS). A D42 la FEK des animaux G75 redevient supérieure à celle des témoins (NS) (fig. 26 b).

Remarque : la série des portées limitées dès la naissance présente des FEK de G75 significativement abaissées par rapport aux témoins à D12 ( $p < 0.05$ ) tableau XIII.

\* Le phosphate présente une excrétion fractionnée (FEPi) qui augmente de D1 à D12 ; cependant elle reste toujours pour les animaux G75 inférieure aux témoins : à D1  $p < 0,05$  ; à D5 et D12 : NS. Elle diminue à D42 mais G75 est toujours inférieur au témoin (NS). (Fig. 26c)

Remarque : A D12 les animaux G75 de la série limitée dès la naissance présente une FEPi significativement plus basse que les témoins ( $p < 0,001$ ) . Tableau XIII.

Le profil de nos excrétions fractionnées, exceptées les valeurs absolues, ressemble à celui trouvé par Kavlock (166) dans les conditions physiologiques normales.

**- Etude de la corrélation entre les variations du poids corporel et celles des paramètres suivants : FENa, FEK et le rapport U/P créatinine,**

au cours de la croissance chez les nouveaux-nés témoins et G75 . Tableau XIV.

Il existe une forte corrélation entre le poids corporel d'une part et (par ordre décroissant) le rapport des concentrations  $\frac{U}{P}$  créatinine ( $r = 0,79$

$p < 0,01$ ), la FEK ( $r = 0,6387$   $p < 0,01$ ) et la FENa ( $r = 0,1534$   $p < 0,05$ ) d'autre part chez les témoins.

Les animaux traités G75 présente une corrélation du rapport  $\frac{U}{P}$  créatinine

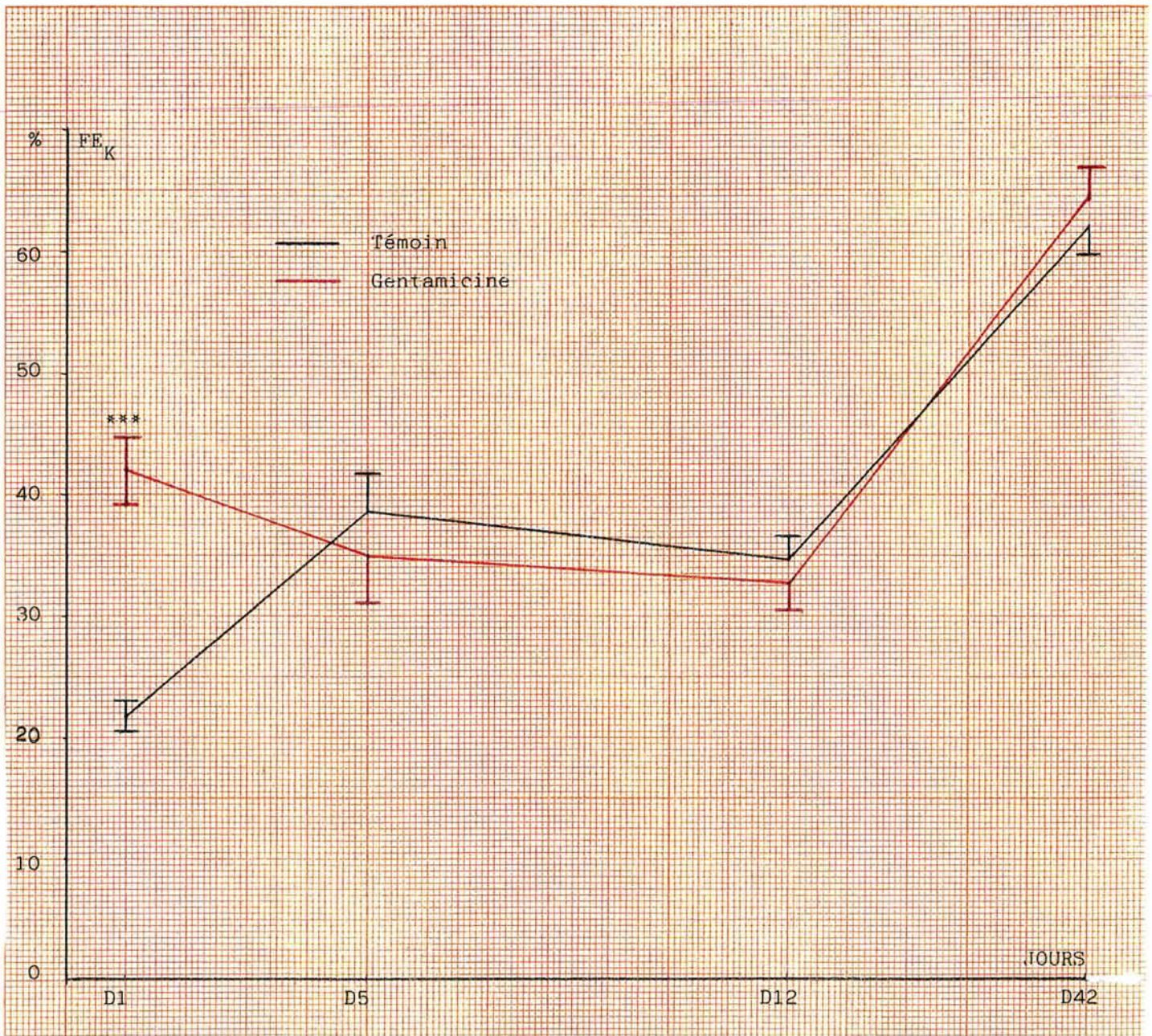


Fig. 26 b

Fraction d'excrétion du potassium ( $FE_K$ )  
chez les nouveaux-nés de rat. âgés de 1,  
5, 12 et 42 jours.

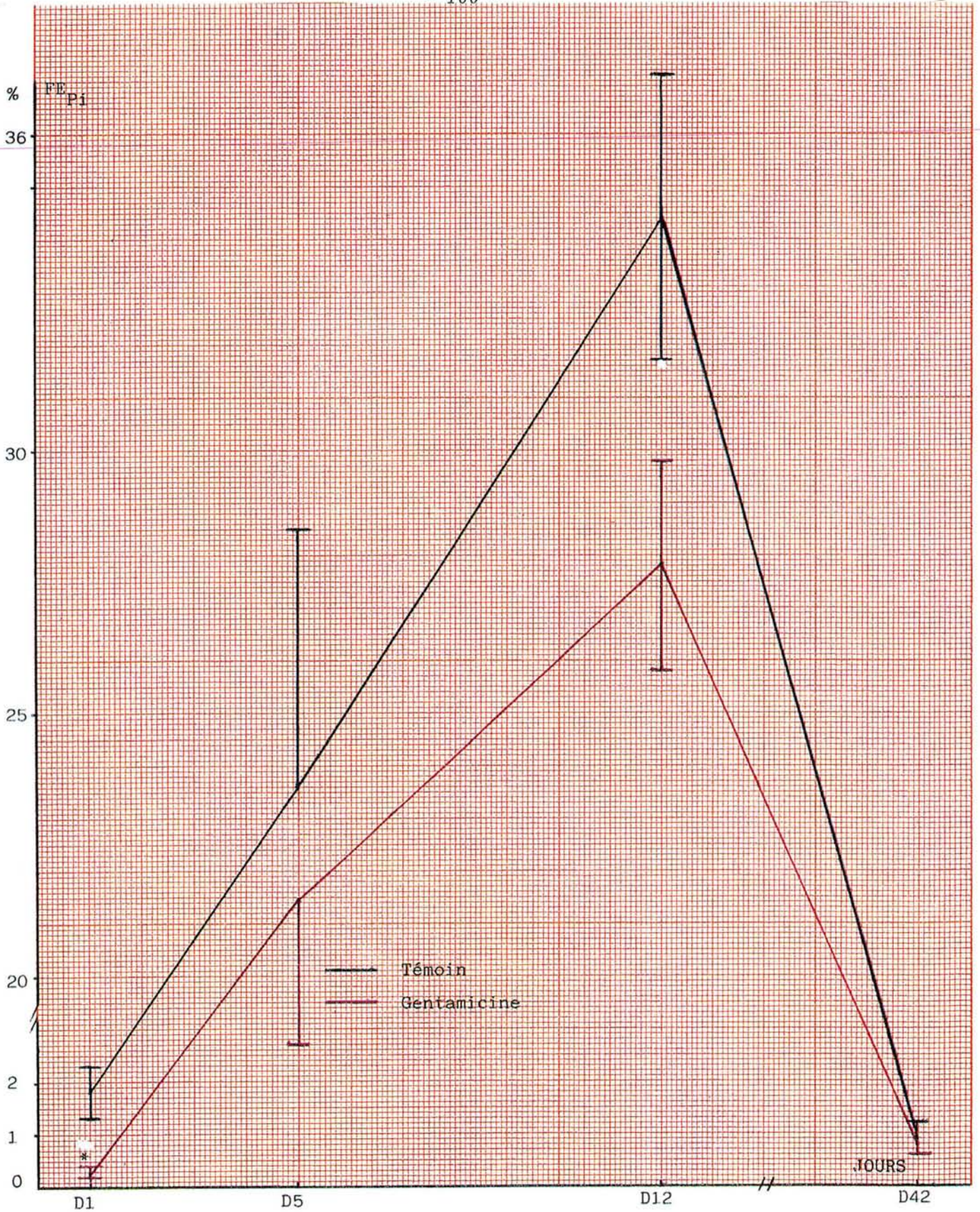


Fig. 26 c

Fraction d'excrétion du phosphore ( $FE_{P_i}$ )  
chez les nouveaux-nés de rat âgés de 1,  
5, 12 et 42 jours.

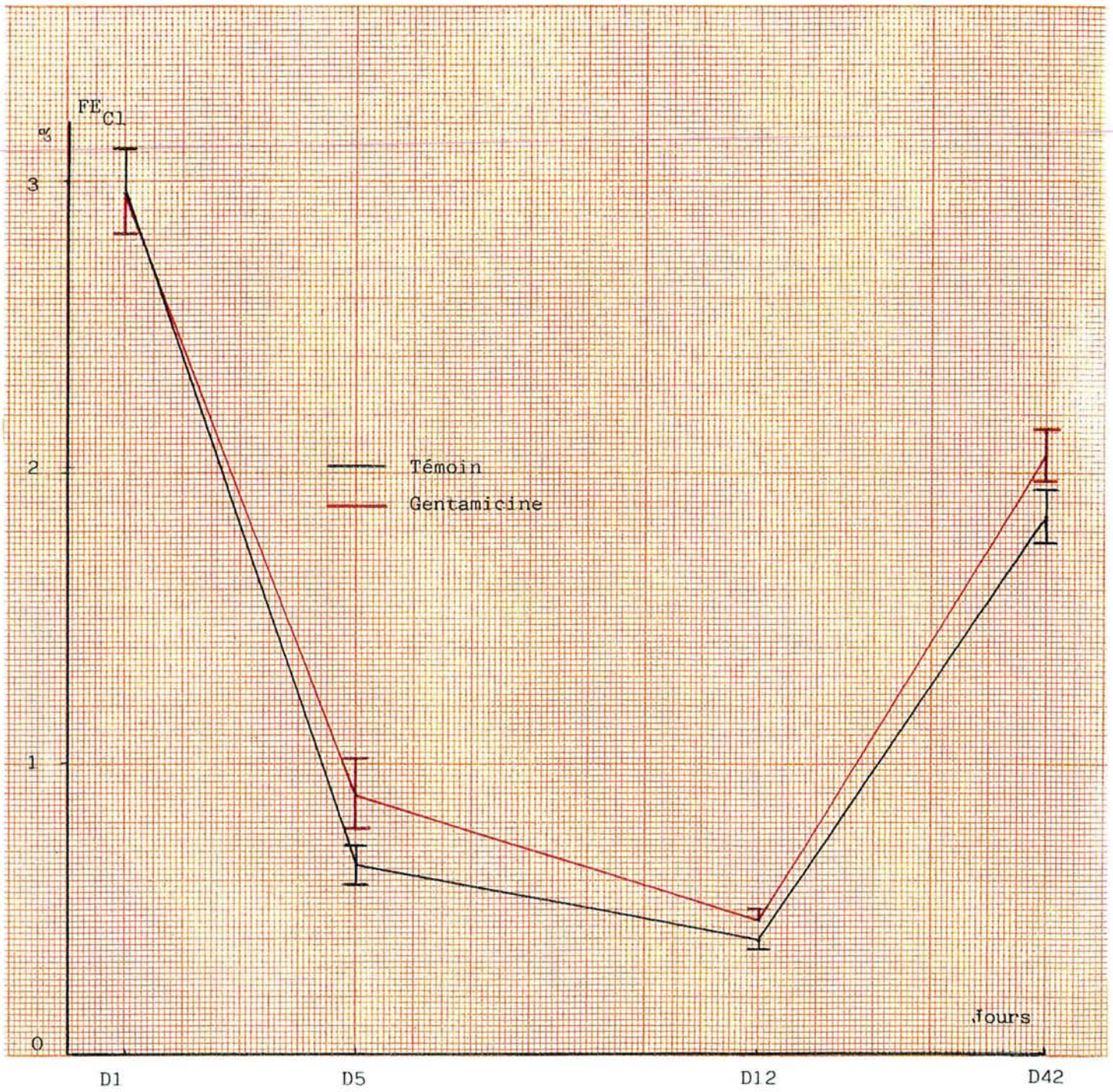


Fig. 26 d

Fraction d'excrétion du chlore ( $FE_{Cl}$ )  
chez les nouveaux-nés de rat, de 1, 5,  
12 et 42 jours d'âge



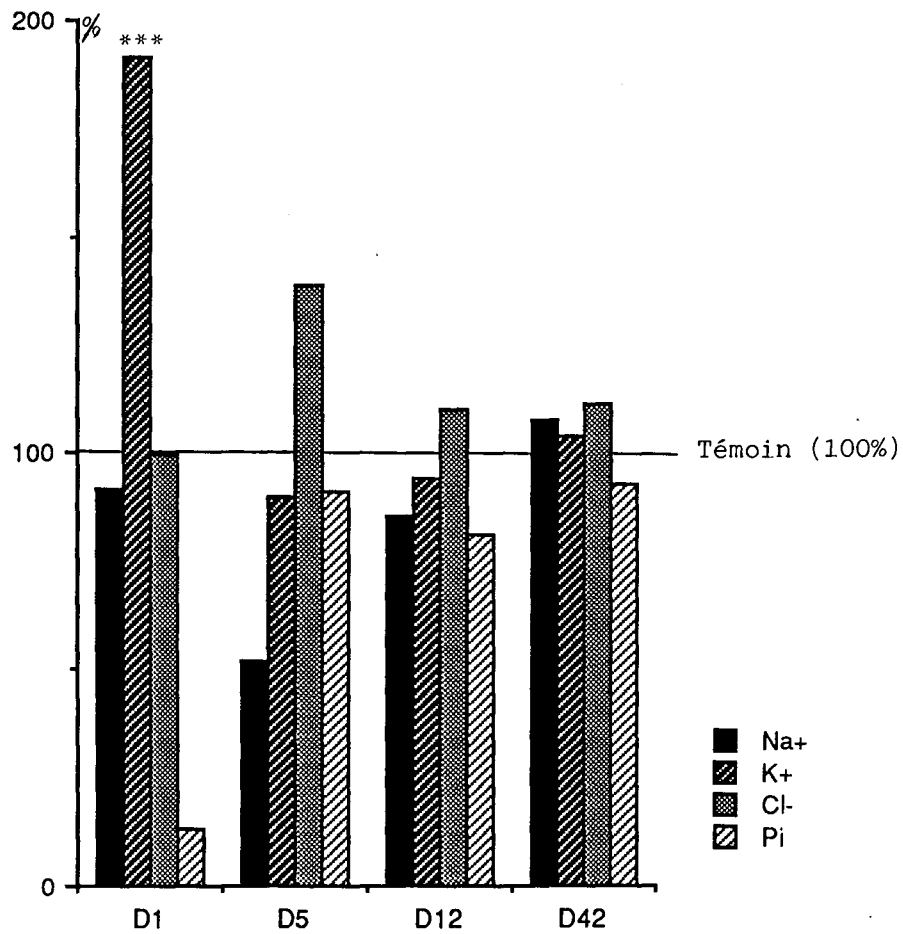


Fig. 26 e - Fractions d'excrétion des électrolytes:  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  et  $\text{Pi}$  exprimées en % par rapport au témoin chez les nouveaux-nés de rat, à 1, 5, 12 et 42 jours.

\*\*\*  $p < 0.001$

Tableau XIV

Recherche de corrélation entre :

- les variations du poids corporel d'une part et celles de : 1°) excréctions fractionnelles du sodium( $FE_{Na}$ ) et du potassium( $FE_K$ ); 2°) rapport U/P de la créatinine d'autre part;

- les variations de U/P créatinine d'une part, et  $FE_{Na}$  et  $FE_K$  d'autre part;

au cours de la croissance de D1 à D42 chez les nouveaux-nés traités in-utero et non traité (Témoin) à la gentamicine.

	Témoin		Gentamicine	
	Coefficient de regression (A)	Coefficient de corrélation (r)	Coefficient de regression (A)	Coefficient de corrélation (r)
Poids corporel / $FE_{Na}$ $FE_K$ U/P créatinine	- 0.003	- 0.1534*	- 0.002	- 0.0732
	0.21	0.6387**	0.16	0.4847*
	0.39	0.79**	0.34	0.71*
U/P créatinine / $FE_{Na}$ $FE_K$	- 0.01673	- 0.3621***	- 0.01281	- 0.2958***
	0.21	0.3079***	0.26	0.2779**

\*  $p < 0.05$ ;    \*\*  $p < 0.01$ ;    \*\*\*  $p < 0.001$

avec  $|t_{cal}| = \frac{r}{\sqrt{1-r^2}} \times \sqrt{n-2}$

( $r = 0,71$   $p < 0,05$ ), la FEK ( $r = 0,4847$   $p < 0,05$ ) avec le poids corporel, exceptée la FENa qui n'en présente plus.

Le rapport de concentration  $\frac{U}{P}$  créatinine et la FENa sont fortement corrélés chez les témoins ( $r = -0,3621$   $p < 0,001$ ) et chez les G75 ( $r = -0,2958$   $p < 0,001$ ). Ce qui suggère que la capacité de concentration évolue avec le poids dans la période de croissance étudiée ; la réabsorption sodique contribue à la prise de poids ; la réabsorption sodique n'intervient pas dans le cas présent dans la concentration urinaire.

B) - Influence de la lactation sur la néphrotoxicité induite in-utero par la gentamicine chez les nouveaux-nés

L'étude de l'influence de la composition du lait maternel sur le comportement physiologique du rein néonatal a été réalisée en croisant dès leur naissance, les nouveaux-nés des mères traitées avec ceux des mères non traitées. L'étude a été faite à l'âge de 12 et 42 jours.

Nous rapportons ci-dessous la signification des symboles utilisés.

TT = mère témoin + nouveaux-nés témoins

GG = mère Gentamicine + nouveaux-nés traités (G75)

TG = mère témoin + nouveaux-nés G75

GT = mère G75 + nouveaux-nés témoin

- Variations pondérales

\* Poids du rein droit (fig. 27 a,b)

Dans la série où les nouveaux-nés et les mères n'ont pas été croisés à D12, les nouveaux-nés G75 issus de mère G75 (GG) ont un rein droit non significativement plus petit que celui des nouveaux-nés témoins issus de mères non traitées (TT). Le poids du rein droit GG représente 91% du poids du rein droit témoin. Le rein des animaux TG représente 108% et celui des animaux GT 92,5% du poids du rein TT témoin (100%).

A 6 semaines, comparé au témoin TT le rein des animaux GG représente 98,65% , celui des TG 122,32% et celui des GT 113,19%.

Les animaux GG et GT dont les reins droits sont plus petits comparés aux témoins à D12, réduisent le retard à 6 semaines ; comparés à D12,

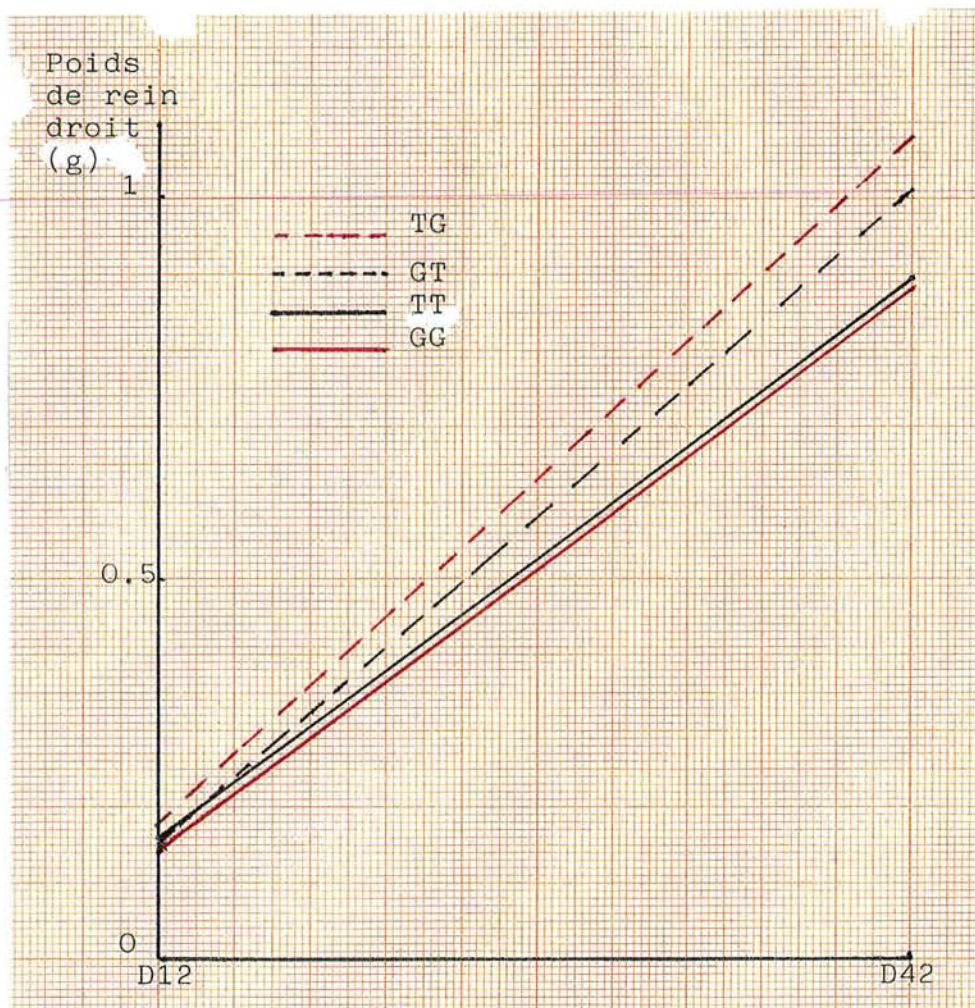


Fig. 27a - Variations de poids(g) du rein droit de de D12 à D42 chez les nouveaux-nés de rat traités ou non à la gentamicine et croisés ou non à la naissance.

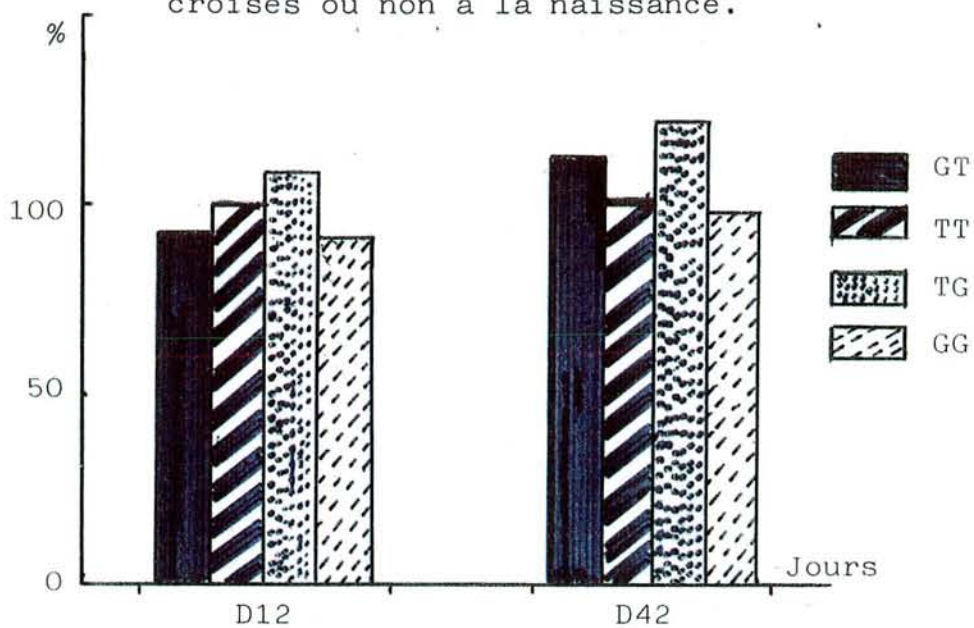


Fig. 27b - Variations de poids du rein droit exprimées en % par rapport au témoin (TT = 100%) chez les nouveaux-nés de rat de 12 et 42 jours, croisés ou non à la naissance.

Tableau XV

Evolution du poids du rein droit des animaux des groupes TG, GT et GG par rapport aux animaux du groupe témoin TT (gain pondéral en %) à D12 et D42.

		D12				D42
		TT	TG	GT	GG	TT
D12	TT		+8 %	- 7.5 %	- 9 %	
D42	TT	+558 %				
	TG		+ 633 %			+ 22 %
	GT			+ 683 %		+ 13 %
	GG				+ 606 %	- 1.35 %

La zone hachurée représente le retard de croissance par rapport au groupe témoin TT.

les nouveaux-nés GT à 6 semaines rattrapent plus vite le retard que les autres groupes. La vitesse de récupération peut s'établir comme suit (tableau XV) :

Taux de croissance :  $GT > TG > GG > TT$ .

\* Variations du poids corporel.

Poids des animaux à la naissance D1.

Portées non croisées :  $TT = 6,64 \pm 0,14$  (n=45)

$GG = 6,33 \pm 0,08$  (n=51)

Portées croisées :  $TG = 6,48 \pm 0,12$  (n=48)

$GT = 7,42 \pm 0,13$  (n=45)

A D12, les nouveaux-nés GG ont un poids corporel significativement plus petit (-9,66%) comparé à celui de leurs homologues du groupe TT ( $p < 0,01$ ). Dans les groupes croisés, le poids des animaux TG est supérieur de 11% à celui des animaux GT ( $p < 0,01$ ). Dans les groupes où les animaux ne sont pas croisés, le retard existe encore significativement ; alors que dans les groupes où les animaux sont croisés, les nouveaux-nés G75 allaités par une mère témoin (TG) récupèrent assez vite leur poids :  $TT = 28,04$  g et  $TG = 29,40$  g ; les nouveaux-nés témoins allaités par une mère G75 (GT) accusent un retard de croissance de -5,92% par rapport aux témoins (TT).

A D42, la différence de poids entre les groupes TT et GG n'est pas significative ; cependant les animaux GG sont légèrement plus gros que les animaux TT. Dans la série des animaux croisés, les nouveaux-nés GT ont une importance pondérale supérieure à celle des TG (NS) ; mais comparés aux témoins (TT), les nouveaux-nés croisés ont un surplus de poids : TG (NS) et GT ( $p < 0,001$ ).

Donc à 6 semaines les animaux malades ont refait leur retard de croissance. Tandis que les animaux (non malades) GT récupèrent plus vite leur poids (9,6%), les animaux des groupes GG et TG, ont des taux de récupération parallèles (fig. 28) de D12 à D42 : les GG passent de -9,66% à D12 à + 1,18% à D42 et les TG passent de + 4,85% à D12 à 4,25% à D42.

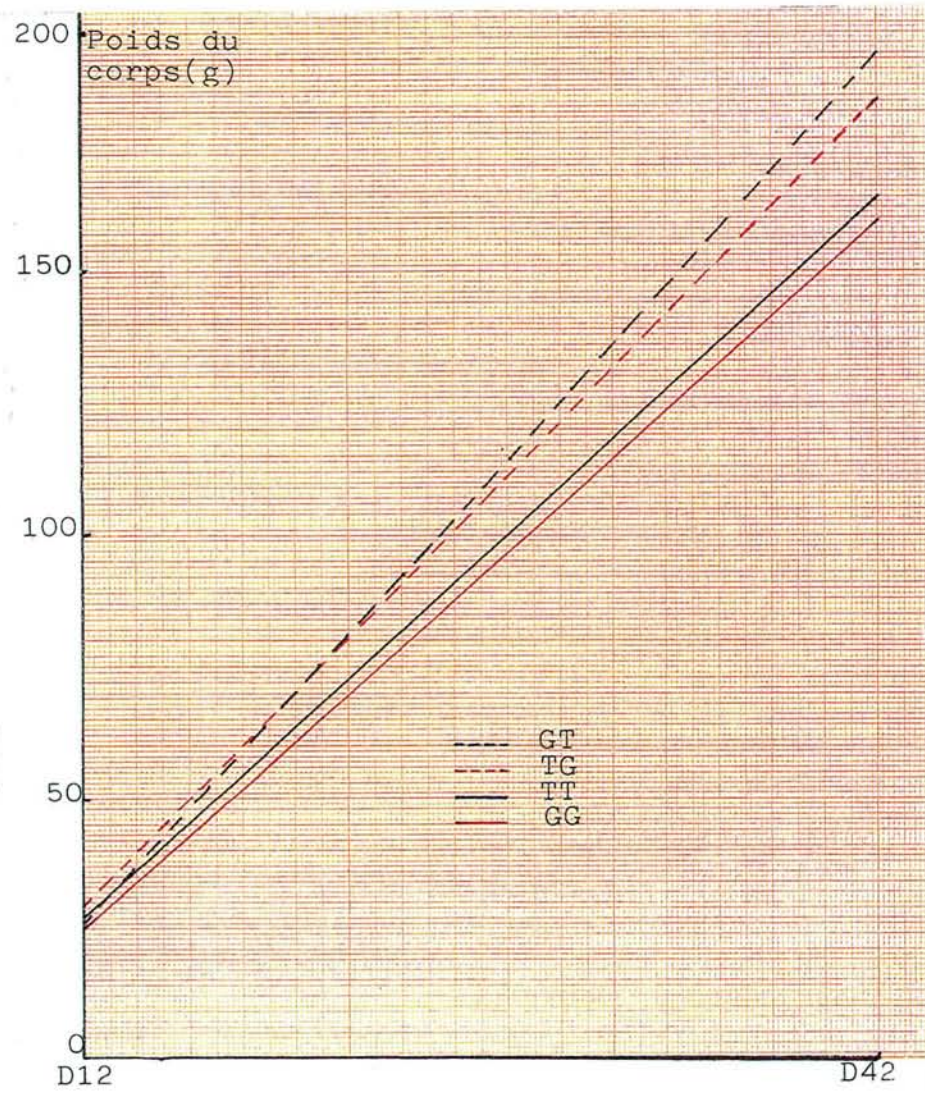


Fig.28 - Variation du poids corporel chez les rats de 12 et 42 jours traités in-utero ou non à la Gentamicine, et croisés ou non dès la naissance.

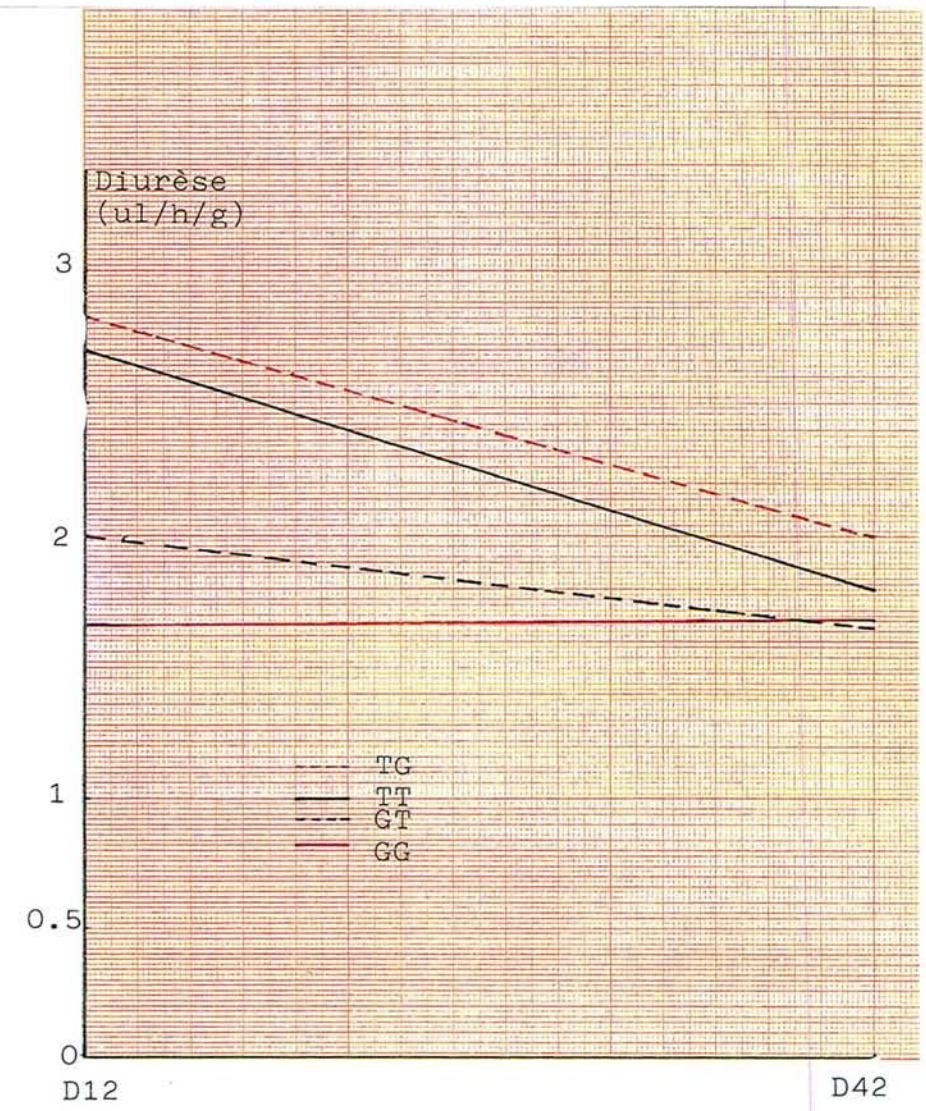


Fig.29 - Variation du débit urinaire chez les rats de 12 et 42 jours, traités in-utero ou non à la Gentamicine, et croisés ou non dès la naissance.

\* *Le rapport de poids du rein sur le poids du corps . Tableau XVI*

A D12 la baisse de la croissance générale (poids du corps) est accompagnée par celle de la croissance rénale chez les animaux traités GG et chez les animaux témoins allaités par une mère traitée à la gentamicine GT. Cependant le rapport poids du rein sur poids du corps n'est pas différent d'un groupe à un autre.

A D42, comparés au groupe témoin, les nouveaux-nés des groupes GT et GG ont tous récupéré le retard de croissance pondérale aussi bien au niveau du rein droit qu'au niveau du corps dans son ensemble.

Les nouveaux-nés traités et confiés à une mère témoin ont à D12 et D42 un poids du corps et un rein droit supérieurs à ceux des témoins. Le rapport de poids  $\frac{\text{Rein}}{\text{Corps}}$  est similaire dans tous les groupes d'animaux.

- Variations de la diurèse

Dans la série des animaux non croisés, les GG ont une diurèse significativement plus faible que les TT ( $p < 0,001$ ) à D12 (- 48,68%). A 6 semaines, cette différence persiste mais elle n'est plus significative: - 7,22%.

Dans la série croisée, le débit urinaire est plus bas chez les GT que chez les TG : à D12  $p < 0,05$  et à D42 NS. Comparé aux témoins TT, les animaux TG à D12 ont une diurèse non significativement, plus faible. A D42 ce sont les nouveaux-nés TG qui ont une diurèse un peu plus élevée (NS) (+ 12,5%). Par contre les nouveaux-nés GT présentent une baisse significative de la diurèse ( $p < 0,0$ ) à D12 (- 34,2%), à D42 cette baisse n'est plus significative (NS) (- 8,33%) (Fig. 29).

- Variations de la filtration glomérulaire (Ccr)

Dans la série des animaux non croisés, la clairance de la créatinine du groupe GG est plus faible (NS) comparée à celle du groupe Témoin TT à D12 et à D42.

Dans la série où les animaux sont croisés, les différences ne sont pas significatives (NS) bien que les GT soient inférieurs aux TG à D42 et à D12 où les valeurs sont similaires.



Tableau XVI

Poids du corps et du rein droit, rapport de poids  $\frac{\text{Rein}}{\text{Corps}}$  (en %) chez les animaux de 12 et 42 jours dans les groupes TT TG. GT et GG. (Moyenne  $\pm$  ESM)

	D12				D42			
	TT	TG	GT	GG	TT	TG	GT	GG
Poids du corps (g)	29.18 $\pm$ 0.83 n = 4	30.55 $\pm$ 0.69 n = 4	26.80 $\pm$ 0.42 n = 4	24.90 $\pm$ 0.69 n = 4	190.10 $\pm$ 0.99 n = 4	213.80 $\pm$ 7.83 n = 4	247.30 $\pm$ 31.34* n = 4	190.25 $\pm$ 12.55 n = 4
Poids du rein droit (g)	0.161 $\pm$ 0.004	0.174 $\pm$ 0.008	0.149 $\pm$ 0.004	0.146 $\pm$ 0.018	0.896 $\pm$ 0.028	1.096 $\pm$ 0.048**	1.014 $\pm$ 0.027*	0.884 $\pm$ 0.037
$\frac{\text{Poids rein}}{\text{Poids corps}}$	0.55 $\pm$ 0.02	0.57 $\pm$ 0.02	0.56 $\pm$ 0.02	0.58 $\pm$ 0.06	0.47 $\pm$ 0.01	0.52 $\pm$ 0.04	0.49 $\pm$ 0.01	0.47 $\pm$ 0.01

\* p < 0.05      \*\* p < 0.01 comparé au groupe témoin TT

Les TG comparés aux TT sont à D12 plus élevés (+ 10,40%) et à D42 plus bas (- 12,5%). Mais les différences ne sont pas significatives. Les GT comparés aux TT sont plus élevés à D12 (NS) (+ 9,74%) et plus bas à D42 ( $p < 0,01$ ) (Fig. 30), perte plus forte : - 21,6%;

- Etude des fonctions tubulaires

\* Le rapport  $\frac{U}{P}$  créatinine (Fig. 31) et l'excrétion fractionnée de l'eau.

\* Dans la série des animaux non croisés à la naissance, les nouveaux-nés GG présentent un rapport  $\frac{U}{P}$  créatinine plus élevé à

D12 de 66% ( $p < 0,001$ ) et une excrétion fractionnée de l'eau non moins significativement plus basse : - 38% ( $p < 0,01$ ) à D12, que les témoins.

A D42,  $\frac{U}{P}$  créatinine des nouveaux-nés GG est plus bas (NS) et FEH2O

un peu plus haut (NS)

\* Dans la série des animaux croisés dès la naissance le rapport  $\frac{U}{P}$  créatinine du groupe GT est supérieur à celui du groupe TG à D12

de 42% avec  $p < 0,01$  et à D42 de + 20% (NS). Inversement aux mêmes périodes, la fraction d'excrétion hydrique est plus faible pour GT à D12 (- 31%)  $p < 0,01$  et à D42 (- 20%).

Comparé aux animaux TT, les groupes croisés présentent des rapports  $\frac{U}{P}$  créatinine plus élevés à D12 : TG + 8,6% et GT + 54% ( $p$

$< 0,01$ ). Les FEH2O par contre sont plus faibles (- 14% pour le groupe TG et - 41% ( $p < 0,05$ ) pour GT). A D42  $\frac{U}{P}$  créatinine des animaux GT

a un retard de - 10%, les animaux TG ont un retard de 26% ( $p < 0,05$ )

A l'inverse les FEH2O sont supérieurs : les animaux TG présentent + 54% ( $p < 0,001$ ) et les animaux GT + 22% par rapport aux témoins.

En conclusion partielle de cette étude, les animaux malades (GG et TG) et les animaux GT présentent à 6 semaines d'âge, des troubles

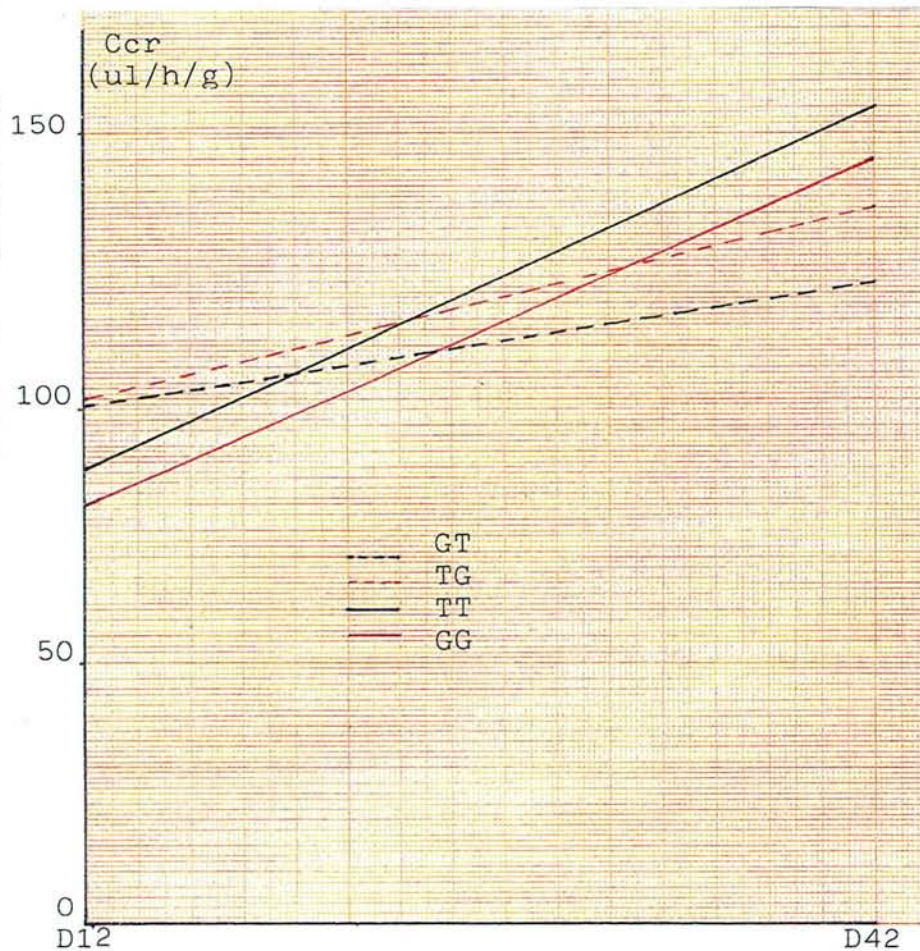


Fig.30 = Variation de la clairance de la créatinine chez les rats de 12 et 42 jours, traités in-utero ou non à la Gentamicine, et croisés ou non dès la naissance.

GT = Nouveaux-nés Témoins allaités par une Mère traitée (G75)  
 TT = Nouveaux-nés Témoins allaités par une Mère Témoin  
 TG = Nouveaux-nés Traités in-utero (G75) allaités par une Mère Témoin  
 GG = Nouveaux-nés Traités in-utero (G75) allaités par une Mère Traitée (G75)

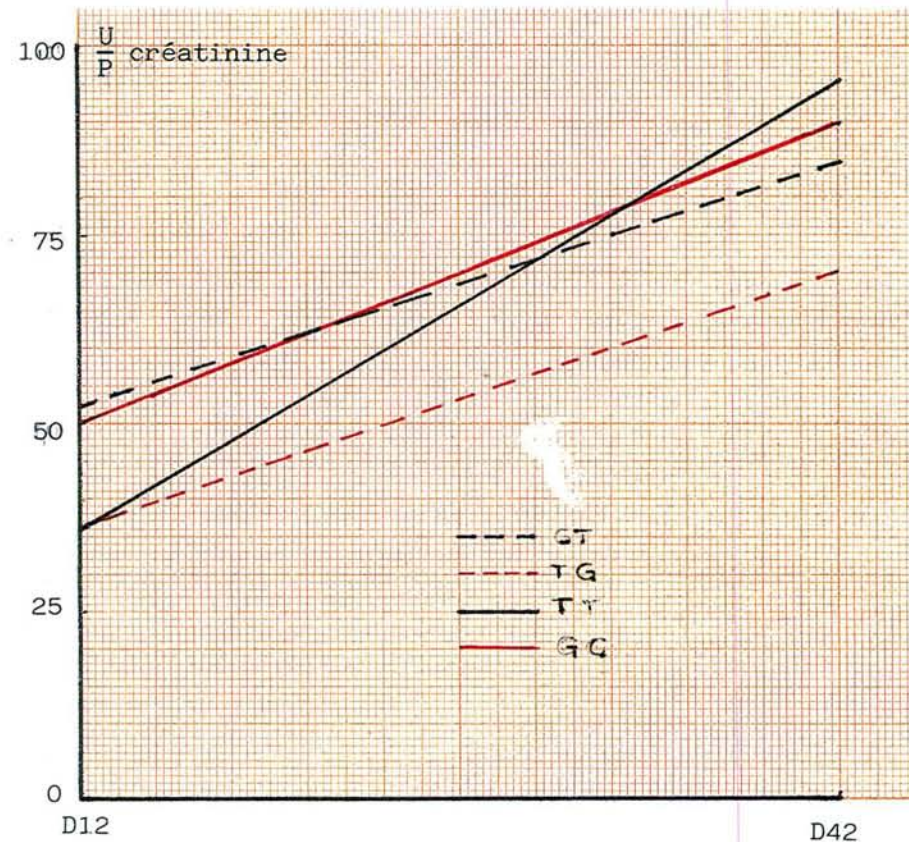


Fig.31 - Variation du rapport U/P de la créatinine chez les rats de 12 et 42 jours, traités in-utero ou non à la Gentamicine, et croisés ou non dès la naissance.

persistants, de la concentration urinaire comme en témoignent les valeurs de FEH<sub>2</sub>O plus élevées et des rapports  $\frac{U}{P}$  créatinine plus bas.

\* Etude des transports et excréctions ioniques. (Fig. 32 - 35)

Les animaux non croisés : TT et GG

- Les nouveaux - nés GG présentent un FENa plus faible que les témoins TT à D12 (NS). A D42 la situation s'inverse ( $p < 0,05$ ). L'excrétion absolue de sodium varie dans le même sens : à D12 ENa des animaux GG est inférieur à ENa des animaux TT (- 31%)  $p < 0,05$  et à D42 ENa des nouveaux-nés GG devient supérieure à celle des animaux TT de + 10% (NS) (Fig. 32).

- L'excrétion fractionnée du Potassium (FEK) est plus faible chez les animaux GG à D12 (- 40%)  $p < 0,05$ ; à D42 elle devient supérieure (NS) (+ 5,2%). L'excrétion absolue (EK) évolue dans le même sens : à D12, GG  $<$  TT (- 33%)  $p < 0,05$  et D42 GG  $>$  TT (+ 2%) (NS) ( Fig. 34 ).

- L'excrétion fractionnée du chlore (FECl) est singulièrement la même entre les 2 groupes TT et GG :  $0,34 \pm 0,04\%$  et  $0,32 \pm 0,11\%$  respectivement à D12. A D42 le FECl des animaux GG est supérieur de 44% ( $p < 0,05$ ) à celui des TT. L'excrétion absolue est plus faible à D12 ( $p < 0,01$ ) chez les animaux GG (- 49%) . A D42 elle devient supérieure ( NS ) de + 26%. (Fig. 33)

- L'excrétion fractionnée du phosphore (FE<sub>Pi</sub>) à D12 est plus basse (NS) (- 32%) chez les animaux GG ; à D42 elle devient supérieure ( + 145%)  $p < 0,05$ . L'excrétion absolue de phosphore (E<sub>Pi</sub>) connaît la même évolution : à D12, E<sub>Pi</sub> des GG  $<$  E<sub>Pi</sub> des témoins (NS) (-28%) et à D42 E<sub>Pi</sub> des animaux GG  $>$  Témoins ( $p < 0,05$ ) (+ 76%). (Fig. 35)

Les animaux croisés : GT et TG

- La fraction d'excrétion du sodium (FENa) du groupe GT est inférieure (-54%) à celle du groupe TG ( $p < 0,01$ ) à D12. A D42 FENa

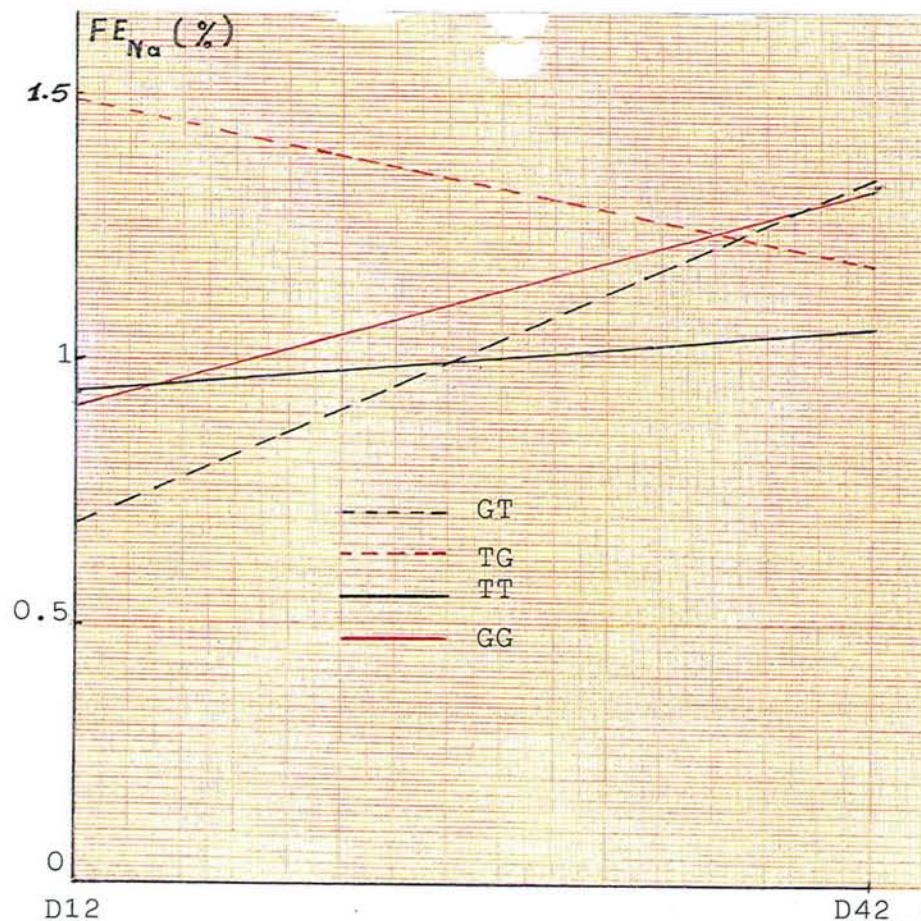


Fig.32 - Fraction d'excrétion du sodium ( $FE_{Na}$ ) chez les rats de 12 et 42 jours, traités ou non à la Gentamicine, et croisés ou non dès la naissance.

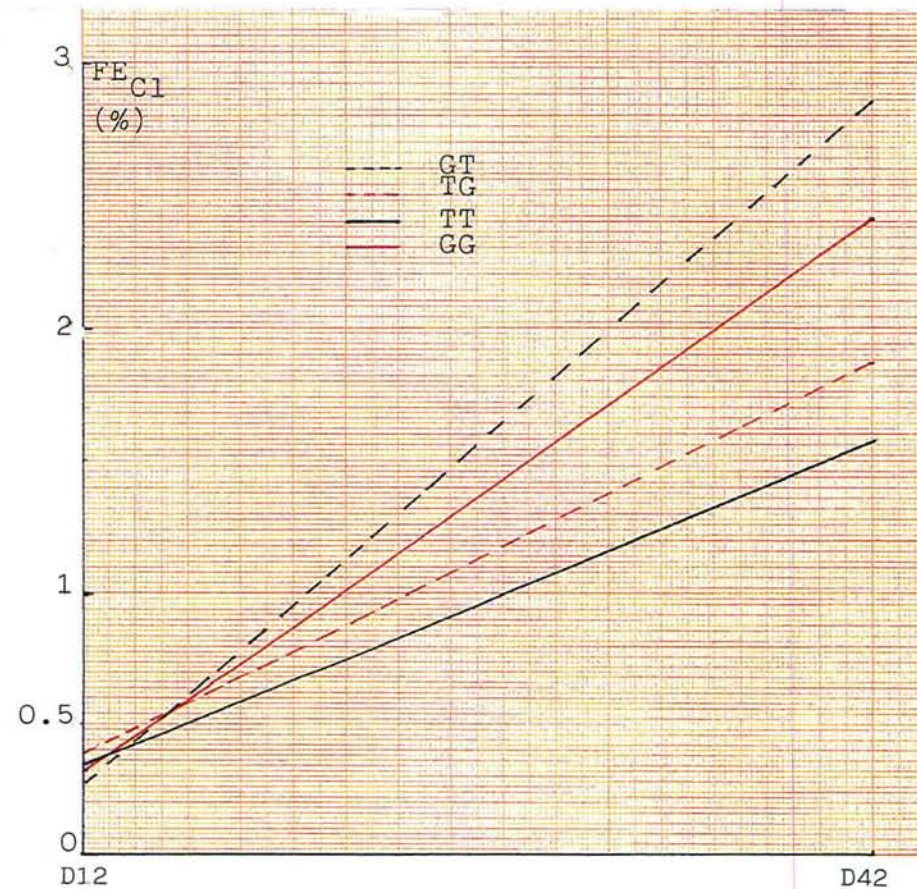


Fig.33 - Fraction d'excrétion du chlore ( $FE_{Cl}$ ) chez les rats de 12 et 42 jours, traités ou non à la Gentamicine, et croisés ou non à la naissance.

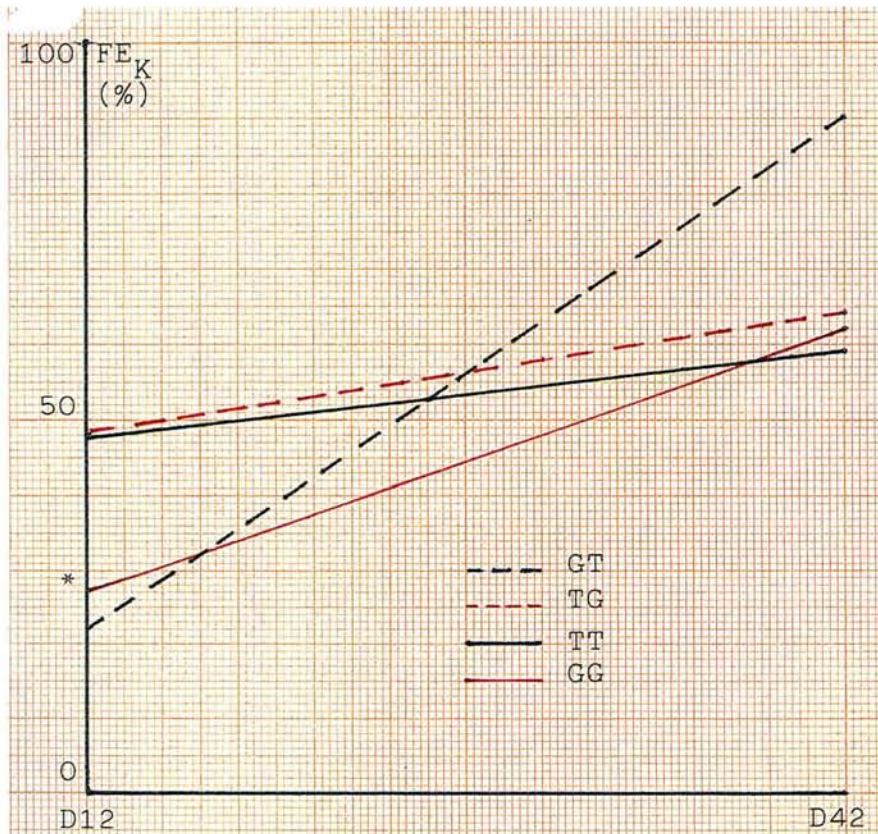


Fig.34 - Excrétion fractionnelle du potassium ( $FE_K$ ) chez les rats de 12 et 42 jours traités ou non à la Gentamicine, et croisés ou non à la naissance.

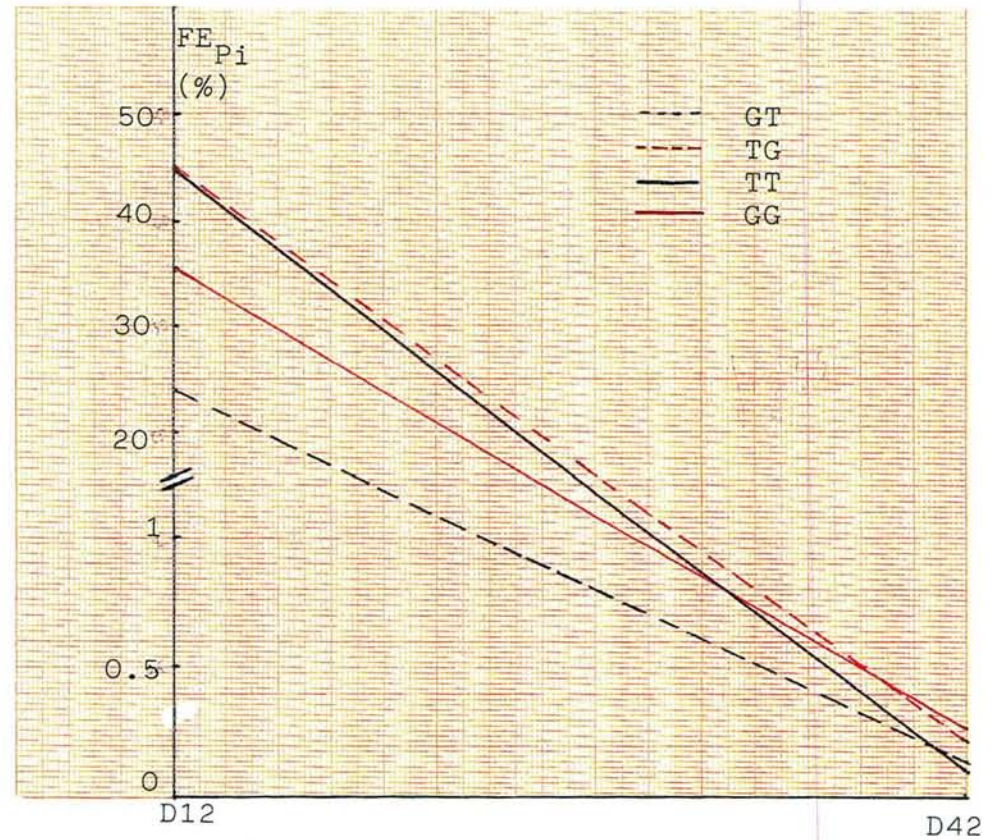


Fig.35 - Excrétion fractionnelle du phosphore ( $FE_{Pi}$ ) chez les rats de 12 et 42 jours traités ou non à la Gentamicine et croisés ou non à la naissance.

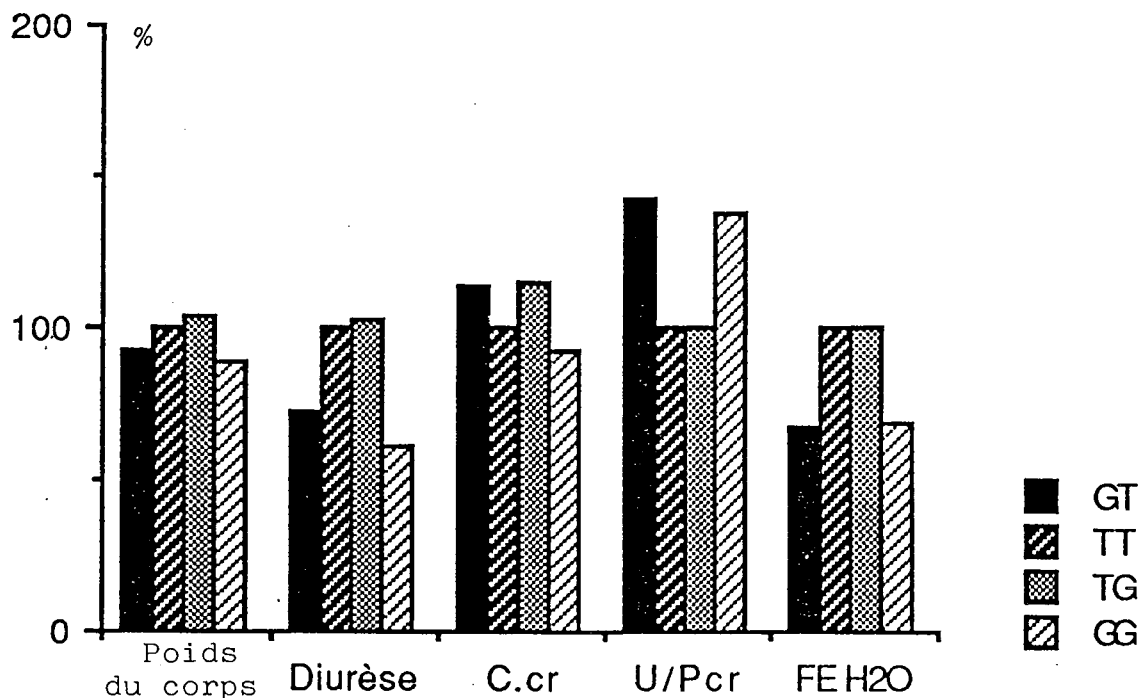


Fig.36-Variations en % par rapport au témoin(100%) du poids corporel, de la diurèse, de la clairance et du rapport U/P de la créatinine, et la fraction d'excrétion hydrique chez les animaux de 12 jours croisés ou non à la naissance.

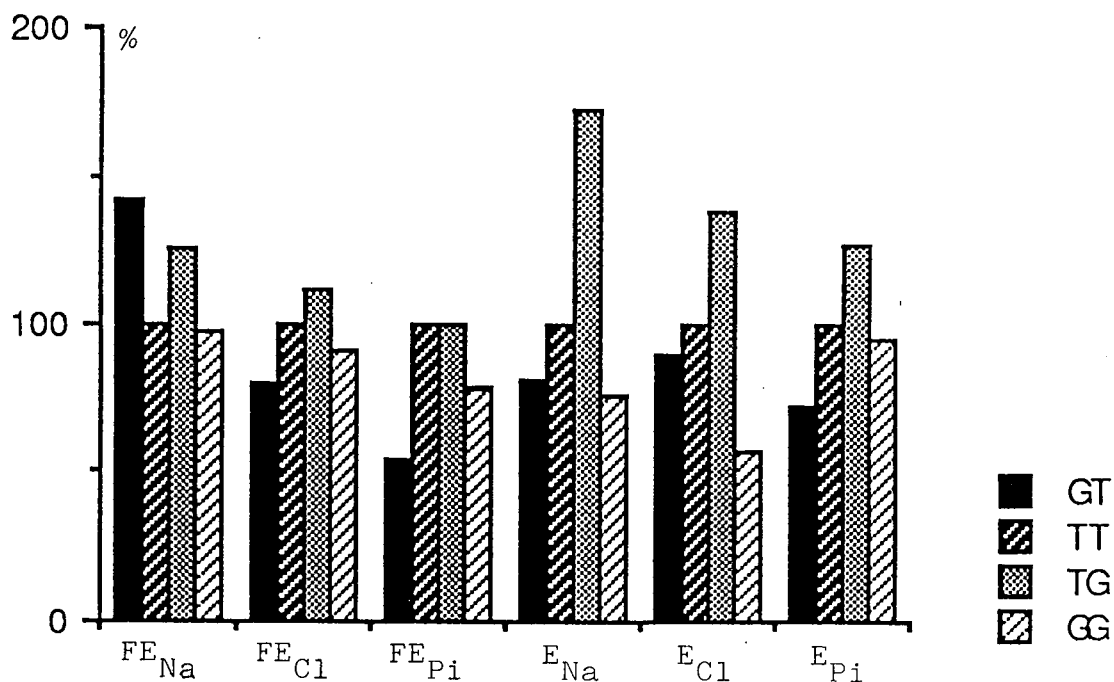


Fig.37-Variations en % par rapport au témoin(100%) des fractions d'excrétion(FE) et excrétions absolues(E) des électrolytes Na, Cl et Pi chez les animaux de 12 jours croisés ou non à la naissance.

GT = Nouveaux-nés Témoins allaités par une Mère traitée(G75)  
 TT = Nouveaux-nés Témoins allaités par une Mère Témoin(non traitée)  
 TG = Nouveaux-nés Traités in-utero (G75) allaités par une Mère Témoin  
 GG = Nouveaux-nés Traités in-utero (G75) allaités par une Mère Traitée(G75)

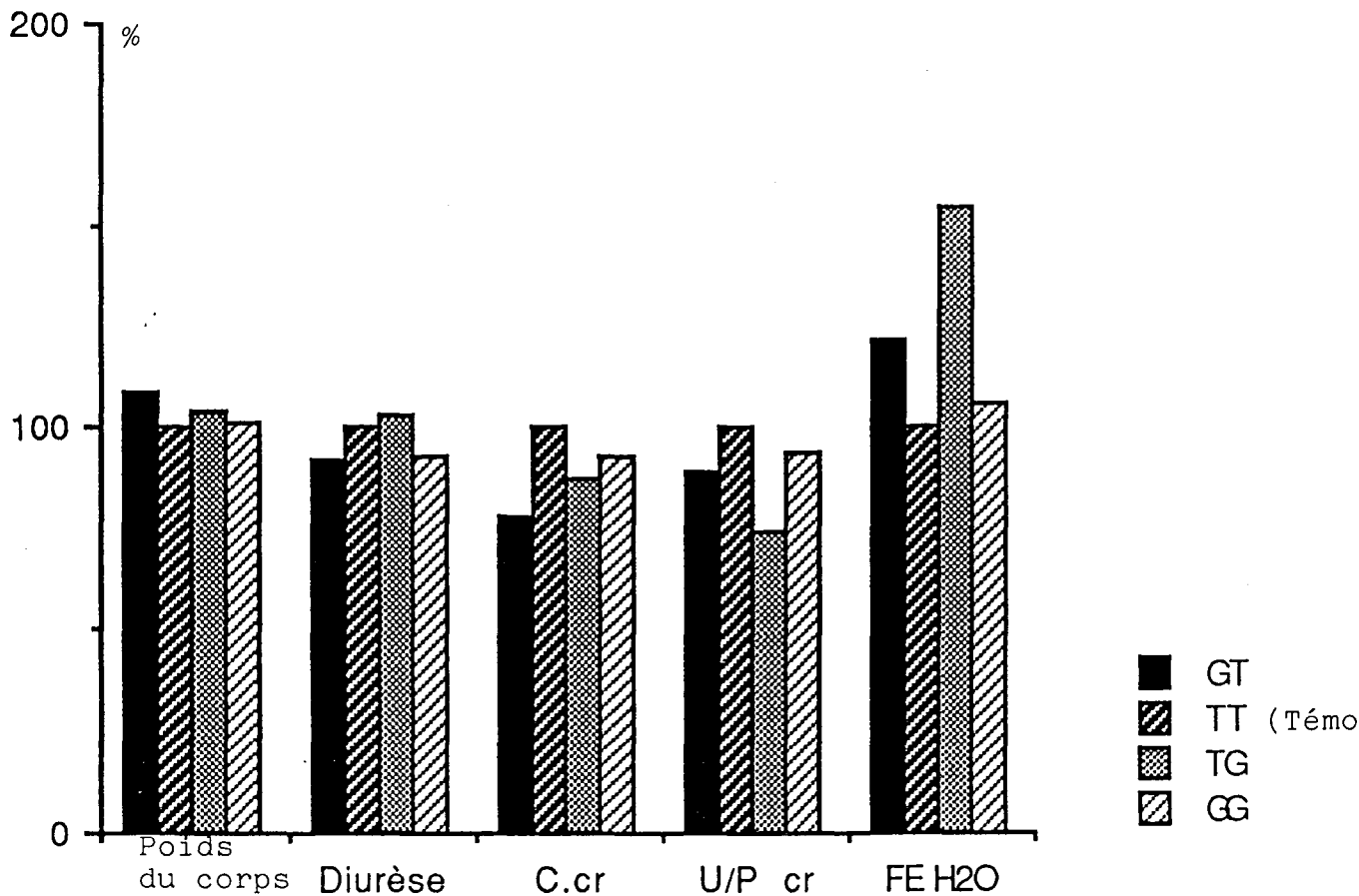


Fig.38 - Variations en % par rapport au témoin des paramètres: poids corporel, diurèse, clairance et rapport U/P de la créatinine et fraction d'excrétion hydrique chez les animaux de 6 semaines croisés dès la naissance.

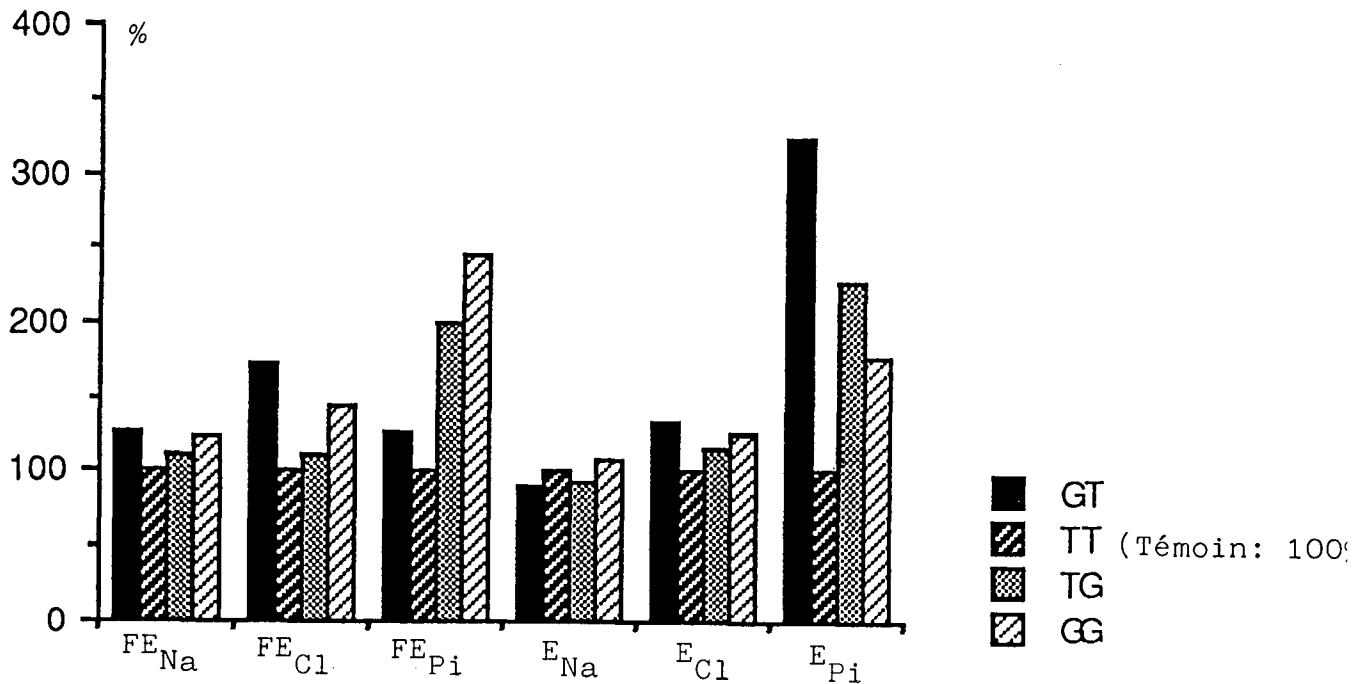


Fig.39 - Variations par rapport au témoin TT(100%) des fractions d'excrétion et des excrétions absolues (E) des électrolytes Na, Cl et Pi chez les animaux de 6 semaines croisés dès la naissance.



des GT est supérieure à celle des TG (+ 13%) mais la différence n'est pas significative . L'excrétion absolue de sodium ENa de GT reste inférieure à celle TG : D12 (-53%)  $p < 0,001$  ; D42 (-5%) (NS).

Comparé au groupe témoin TT, le FENa de GT est inférieure (- 28%)  $p < 0,05$  et celle de TG supérieur (+55%)  $p < 0,01$  à D12. A D42 les fractions d'excrétion sodique des groupes GT et TG sont supérieures à celle du groupe témoin TT : respectivement + 26% (NS) et + 11%. Pour les excrétions absolues de Na à D12, les témoins TT sont supérieurs aux animaux GT de 22% (NS) et inférieurs au groupe TG de -65% ( $p < 0,01$ ). A D42 par contre les animaux TT sont supérieurs à la fois aux groupes GT de 10% et TG de 6%.

- La fraction d'excrétion du potassium (FEK) de GT à D12 ne représente que 47% de celle de TG ( $p < 0,05$ ). A D42 elle lui est supérieure de 38% (NS). (Fig. 34). L'excrétion absolue EK des animaux GT à D12 est inférieure à celle des animaux TG dans à peu près les mêmes proportions que FEK. A D42, les excrétions des 2 groupes sont similaires.

Comparé au groupe témoin TT, FEK du groupe TG n'est pas significativement différent : respectivement  $45,26 \pm 4,51\%$  et  $48,39 \pm 6,25\%$ . Par contre le groupe GT accuse une chute de 50% par rapport au témoin ( $p < 0,01$ ) à D12. Au cours de la croissance à D42 les FEK des groupes TG et GT sont supérieures à celle du groupe TT respectivement de + 10% et de + 53%. L'excrétion absolue de potassium (EK) chez les témoins est inférieure à ce qui est observé chez les animaux TG de - 22% (NS), mais est de même valeur que GT à D12. A D42 les animaux témoins ont des valeurs de EK supérieures à celle des animaux GT et TG mais les différences ne sont pas significatives.

- L'excrétion fractionnelle du Chlore (FECl) dans la série TT à D12 n'est statistiquement pas différente de celle des TG et TG: respectivement  $0,34 \pm 0,04\%$ ,  $0,39 \pm 0,04\%$  et  $0,28 \pm 0,04\%$ . Par contre à D42 les animaux TT ont une FECl inférieure de -10% (NS) à celle des TG, et de -58% à celle des GT ( $p < 0,01$ ). L'excrétion absolue (ECl) du groupe TT est inférieure à celle des TG (NS) et supérieure à celle

des GT (NS) à D12. A D42 ECl des animaux témoins TT reste inférieure à celle des TG (NS) de -16% et à celle des GT de - 36% ( $p < 0,05$ ).

- L'excrétion fractionnelle du phosphore (FE<sub>Pi</sub>) du groupe témoin (TT) à D12 est supérieure à celle des nouveaux-nés TG (NS) et à celle des GT de + 53% ( $p < 0,05$ ). A 6 semaines, FE<sub>Pi</sub> des témoins est inférieure à FE<sub>Pi</sub> des nouveaux-nés TG de 100% ( $p < 0,02$ ). Les groupes TT et GT ont des valeurs presque similaires (respectivement  $0,11 \pm 0,02\%$  et  $0,14 \pm 0,02\%$ ) (Fig. 35). L'excrétion absolue E<sub>Pi</sub> à D12 est similaire pour les groupes TT et TG ( $78,96 \pm 9,94\%$  et  $75,81 \pm 8,04\%$ ) mais E<sub>Pi</sub> des nouveaux-nés TT est supérieur à E<sub>Pi</sub> de GT de 82,5% ( $p < 0,01$ ). A 6 semaines la E<sub>Pi</sub> des témoins est inférieure de moitié par rapport à celle des TC ( $p = 0,01$ ) et deux tiers face aux GT ( $p = 0,001$ ).

C) - Compte-rendu sur les résultats des observations en microscopie électronique

Cette étude de l'influence de la lactation sur la néphrotoxicité néonatale selon que les portées ont été croisées ou non, a été complétée par des observations en microscopie électronique des fragments du rein gauche prélevé chez l'animal.

Cette observation a été effectuée à partir d'une seule grille (1 seul fragment) au Laboratoire d'Anatomie-Pathologie de Besançon. Nous rapportons ci-dessous les résultats :

Animaux D12

- Série non croisée

N - né 2733

N - né 2745\*

N - né 2749

N - né 2765

N - né 2769

N - né 2777

} TT

N - né 2737\*

N - né 2741\*

N - né 2757\*

} GG

*Série croisée*

N - né 2725	}	TG	<u>N - né 2717*</u>	}	GT
N - né <u>2729*</u>			<u>N - né 2721*</u>		
N - né 2781			<u>N - né 2753*</u>		
	<u>N - né 2773*</u>				

De minimes lésions tubulaires discrètes, dispersées ont été observées chez les Nouveaux-nés\*. Ces lésions sont modérées et focales, sans caractères spécifiques (dilatation du reticulum endoplasmique, classification hyaloplasmiques et gonflement des mitochondries).

Animaux D42

- Série non croisée

N - né 2814	}	TT	<u>N - né 2822*</u>	}	GG
N - né 2818			<u>N - né 2826*</u>		
N - né 2829					
N - né 2856					

- Série croisée

N - né 2804	}	TG	<u>N - né 2796*</u>	}	GT
N - né 2810			<u>N - né 2800*</u>		
<u>N - né 2851*</u>					

Des lésions minimes sont encore observées chez les nouveaux-nés(\*)

En conclusion de cette expérience, on observe que les nouveaux-nés non malades au départ (GT), allaités par une mère traitée, présentent tous à D12 des lésions tubulaires discrètes comme décrit plus haut. A 6 semaines, des minimes lésions sont encore visibles. Le groupe des animaux TG présentent à D12 des lésions tubulaires modérées et localisées. Ces lésions persistent à D42. Tous les animaux ne présentent pas tous des lésions, et étaient présumés malades au moment du croisement. Dans le groupe GG les animaux sont présumés malades dès le départ et le restent à 6 semaines. Par contre les témoins TT sont sains à D12 (excepté le n° 2745) et à 6 semaines. On en déduit qu'il y a passage de la gentamicine du lait maternel au nouveau-né dont elle va moduler pharmacologiquement le fonctionnement. Ces observations confirment

*nos résultats sur le fonctionnement rénal après exposition prénatale à la Gentamicine : persistance de lésions fonctionnelles en particulier le déficit de la capacité de concentration urinaire.*

## CHAPITRE IX

### DISCUSSION

*'Notre ennemi dans l'étude, c'est la suffisance ; quiconque veut réellement apprendre doit commencer par s'en débarrasser. S'instruire sans jamais s'estimer satisfait et Enseigner sans jamais se lasser, telle doit être notre attitude'.*

*Président Mao Zedong*

## DISCUSSION

La période d'observation pour l'étude des variations du fonctionnement rénal et de sa pharmacomodulation peut-être divisée en 3 phases (166 - 167) :

- De D1 à D5 :

C'est la première phase, elle dure à peu près 1 semaine. Elle constitue la période néonatale proprement dite qui correspond à la phase de grands changements car le nouveau-né quitte la protection maternelle pour assurer lui-même la régulation de son homéostasie.

- De D5 à D12 :

C'est la période d'achèvement de la néphrogenèse, elle correspond à la phase de Lactation ; les changements au cours de cette période sont moins abruptes. Ce qui semble indiquer que l'organisme a développé des mécanismes d'adaptation, et un équilibre s'établit.

- De D12 à D42 :

Cette 3ème période correspond au sevrage et post-sevrage. Elle est caractérisée par le changement du mode d'alimentation.

De l'observation de nos animaux témoins, dans les conditions physiologiques normales et celles qui soumettent l'organisme de l'animal aux perturbations de la physiologie normale, on constate que le poids corporel évolue linéairement en fonction de l'âge (Tableau II et X). Par contre les fonctions glomérulaires (filtration glomérulaire) augmentent fortement (GF mesurée par la Ccr : + 25%) (168) (Tableaux II et X), et les fonctions tubulaires s'adaptent comme en témoigne la baisse de FEH<sub>2</sub>O (-36%), de FENa (-8,5%) et de FECl (-75%), et l'augmentation de FEK (+ 78%) au cours de la période néonatale (Fig. 18, 20, 21 et 22).

Pendant la phase de lactation, la fraction d'excrétion hydrique ne baisse plus que de 4%, le Cl<sup>-</sup> de -46% ; par contre la FENa passe à -46% et la FEK n'augmente plus que de 17%. L'accentuation de la baisse de la FENa (donc augmentation de la réabsorption) s'explique par le fait que en cette période lactationnelle, le lait maternel est plus riche en ions potassium

(K<sup>+</sup>) qu'en ions Na<sup>+</sup> et Cl<sup>-</sup> ; ce qui pousse les nouveaux-nés à réabsorber plus de Na<sup>+</sup> pour les besoins qu'exige la croissance de l'organisme et assurer ainsi l'équilibre homéostatique en Na<sup>+</sup>. La filtration glomérulaire augmente moins vite.

La période de sevrage et post-sevrage est caractérisée par une augmentation de tous les paramètres (FG, FENa, FEK et FECl) hormis le FE<sub>Pi</sub> (qui chute presque à 0) et le FE<sub>H<sub>2</sub>O</sub> : Fig. 26 a,b,c et tableau X.

Ces variations constatées chez les animaux témoins dans les conditions physiologiques normales traduisent les besoins, pour un organisme en croissance, de conserver les solutés. Nos résultats sont en accord avec ceux obtenus par Kavlock (166). Notre discussion abordera l'envergure de la modulation pharmacologique de ces variations physiologiques au cours de la croissance, modulation induite in-utero par l'administration de Furosémide ou de Gentamicine chez le rat.

### FUROSEMIDE

Les travaux antérieurs de Mallié et Col. (147) ont mis en évidence un retard de la maturation (nombre de glomérules différenciées plus faible) après un traitement in-utero par le furosémide chez les nouveaux-nés de rat. Nos travaux explorent les répercussions fonctionnelles de ce traitement sur le rein néonatal pendant que s'achève la maturation rénale chez le rat.

Les animaux traités in-utero ont un poids corporel plus petit par rapport aux nouveaux-nés témoins. Cette hypotrophie semble avoir une cause plurifactorielle :

- une action du furosémide sur la mère : une contraction du volume sanguin circulant entraînant une baisse de la perfusion transplacentaire. Mais les travaux de Mallié ont montré que le jour de la parturition, les mères des 2 groupes, traitées et non traitées, présentent une biologie sanguine non significativement différente (147). En outre le gain de poids (en %) et le rapport Gain Pondéral/Nb de Nouveaux-nés entre les 2 groupes ne sont pas significativement différents (Tableau I). Ceci

rend peu probable une action indirecte du furosémide par contraction du volume extracellulaire chez la mère.

- Le retard de la croissance peut être dû à un effet direct du furosémide sur le nouveau-né. Ceci reste à être établi.

- Le furosémide est connu pour provoquer une action vasodilatatrice au niveau du rein. Cela contribue à élever la filtration glomérulaire. Nos résultats obtenus à D1 vont dans ce sens : la filtration glomérulaire mesurée par la clairance à la créatinine est plus élevée chez les nouveaux-nés traités par rapport aux témoins ( $p < 0,001$ ). Ces animaux présentent également une hyperdiurèse et une fraction d'excrétion hydrique supérieure ( $p < 0,001$ ). Ces facteurs concourent à l'établissement d'un état de deshydratation qui expliquerait alors plus vraisemblablement l'état hypotrophique. L'hypotrophie du nouveau-né serait de ce fait une conséquence de la balance hydrique négative plutôt que celle de la perte de la masse corporelle, suite à un traitement in-utero via administration transplacentaire du furosémide.

- Enfin pour une même prise de poids, le nombre de nouveaux-nés dans les portées exposées in-utero au furosémide est plus élevé. Ceci pourrait également contribuer à expliquer un poids corporel plus faible chez ces animaux.

L'hyperdiurèse observée à D1 a été de prime abord imputable une moindre réabsorption d'eau comme l'attestent l'augmentation de la FEH<sub>2</sub>O et l'effondrement du rapport de concentration de la créatinine urinaire sur la créatinine plasmatique ( $\frac{U}{P}$  créatinine). La diurèse induite

par le furosémide est une diurèse aqueuse. De ce fait suite aux variations observées dans l'expression de FEH<sub>2</sub>O et du rapport  $\frac{U}{P}$  créatinine, les méca-

nismes de concentration urinaires semblent donc perturbés. Ce défaut de concentration urinaire ne saurait être attribué à la concentration urinaire de créatinine qui est plus faible chez les nouveaux-nés traités au furosémide ( $p < 0,05$ ). En fait la perturbation de la filtration glomérulaire (Tableau II) et de la concentration urinaire pourrait être due à un ralentissement du développement du gradient de concentration cortico-médullaire avant la naissance, suit à une action transplacentaire du



furosémide. En effet l'administration in-utero du furosémide pourrait être considérée comme un traitement continu, à long-terme puisqu'il peut y avoir un recyclage via le liquide amniotique (147). Ainsi l'hyperdiurèse et l'excrétion accrue de la fraction d'eau pourraient avoir comme origine un retard dans la maturation fonctionnelle de l'anse de Henle et donc du développement du gradient de concentration cortico-médullaire.

Au cours de la période post-natale, la capacité de transport augmente parallèlement au débit de filtration glomérulaire. Nous avons d'abord pensé que l'hypernatrémie, les faibles valeurs des excrétions fractionnées et absolues du Na observées à D1 s'expliqueraient par l'action du furosémide inhibant la réabsorption du NaCl au niveau de l'anse de Henlé par blocage du Cotransport Na-K-Cl (169, 187) ; ainsi le flux sodique arrivant au tube distal serait massif et activerait l'enzyme Na/K ATPase (170) favorisant l'entrée distale du Na<sup>+</sup> et l'extrusion du K<sup>+</sup> (182 - 184). Mais les travaux de KAISLING ont démontré qu'une exposition prolongée au furosémide inhibe la réabsorption du Na au niveau du TAL et stimule la capacité de transport des tubes distaux et collecteurs par accroissement de la surface basolatérale et du nombre de sites ATP asiques (171 - 176).

L'exposition prolongée au furosémide provoque une déplétion volumique (177, 178 et une augmentation du niveau plasmatique des hormones Aldostérone et ADH qui élèvent aussi la capacité de transport du TD et du TC (179, 185, 186). Cependant des études de ELMERISSI et celles récentes de STATON, montrent que l'augmentation chronique de la réabsorption distale du Na<sup>+</sup>, indépendamment des alterations du volume du fluide extracellulaire et du niveau des hormones, stimule la capacité de transport (174, 172). Ceci pourrait expliquer l'hypernatrémie. Mais en accord avec CHRISTIENSEN (177) le furosémide pourrait avoir induit une déplétion volumique de l'unité foeto-placentaire et ceci expliquerait en définitive l'hyperkaliémie et l'hypernatrémie observées).

D'autre part à côté de ces effets natriurétiques et diurétiques, le furosémide a un effet kaliurétique indépendant de la natriurèse, dont les mécanismes ne sont élucidés (180, 181) ; et par ailleurs la déplétion potassique entraîne une baisse de la capacité de concentration urinaire (24, 25).

Donc les effets observés à D1 sur ces paramètres d'étude évoquent une réponse rénale à l'action du furosémide et sont la preuve d'un dysfonctionnement induit in-utero. On peut donc en accord avec GRAY et KAVLOCK R. (190) conclure que la capacité du rein de rat (foetus et nouveaux-nés) de répondre à une sonde pharmacologique démontre que l'intégrité rénale fonctionnelle est établie très tôt dans la vie postnatale chez le rat.

Les animaux à D5 ne présentent aucune différence significative dans les 2 groupes exceptées une phosphaturèse et chlorurèse accrues (En effet le furosémide provoque un diabète phosphaté), et une hypernatrémie et une hyperkaliémie toujours persistantes.

NB : Les valeurs concernant le phosphate à D1 (EPi et FEPI) sont manquantes.

A D12, période d'achèvement de la néphrogenèse la filtration glomérulaire et le poids corporel ne présentent aucune différence significative entre les 2 groupes. Par contre, des lésions tubulaires sont encore notées une hyperdiurèse, une excrétion fractionnée hydrique (FEH<sub>2</sub>O) accrue et inversement un rapport  $\frac{U}{P}$  créatinine réduit. Donc une persistance

de la perturbation des mécanismes de concentration urinaire est possible. Cependant la comparaison du rapport  $\frac{FENa}{FEK}$  à D1 et D12 indique qu'une

récupération fonctionnelle progressive a lieu dans le comportement des électrolytes dans les 2 groupes (Tableau VI) chez l'homme comme chez le rat adulte, le furosémide provoque une élévation de la fraction d'excrétion du sodium. Mais nous observons cependant après une exposition prénatale au furosémide une FENa basse. Il est donc possible que la déplétion volumique avant la naissance ait provoqué une réabsorption maximale de Na, réduisant donc du même coup la fraction d'excrétion sodique (195). Le rapport  $\frac{FENa}{FEK}$  entre les groupes témoins et furosémide di-

minue pendant la croissance.

Quelque soit l'état de l'animal, témoin ou traité, la somme des cations (Na<sup>+</sup> et K<sup>+</sup>) est toujours supérieure à la somme des anions (Cl<sup>-</sup> et Pi) malgré le diabète phosphaté provoqué par le Furosémide et constaté à D5 et D12. Ceci incline à penser que d'autres anions, H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub><sup>-</sup> sans doute, accompagnent l'excrétion des cations Na<sup>+</sup> et K<sup>+</sup>. Malheureusement

des difficultés techniques ne nous ont pas permis de doser les ions bicarbonates qui nous auraient fait apprécier l'état métabolique des animaux. Ainsi après la récupération fonctionnelle pour la FG le déficit de la capacité de concentration urinaire demeure la séquelle la plus importante (faible  $\frac{U}{P}$  créatinine  $p < 0,001$ ). Etant donné l'évolution différente des

fonctions glomérulaire et tubulaire, on peut admettre qu'il y a rupture de la régulation tubulo-glomérulaire, ou peut-être changement du niveau de régulation (resetting) par un processus adaptatif. En effet Moore et coll. (191) montrent chez les animaux adultes que le feed back tubulo-glomérulaire pour la livraison de Na et H<sub>2</sub>O au tube distal reste stable quand le volume extracellulaire est altéré.

La dissociation glomérulo-tubulaire peut encore être mise en évidence par l'étude du développement chez les nouveaux-nés, témoins et traités, de la réponse hydropénique à D12 et à D42. Selon KAVLOCK (192) la réponse hydropénique peut être affectée par une exposition pré-et postnatale aux agents chimiques.

A D12, l'osmolalité de base est presque la même dans les 2 groupes (Tableau VII). Donc à priori il n'y a pas de différence dans le pouvoir de concentration urinaire. Cependant nos résultats antérieurs avec le rapport  $\frac{U}{P}$  créatinine ont démontré l'inverse. Pour déceler les lésions fonctionnelles fines des tubules rénaux, le rat est soumis à des conditions de fonctionnement extrêmes, ici l'hydropénie. Après 6 h. d'hydropénie, l'osmolalité chez les animaux traités est significativement moins élevée que chez les animaux témoins (Fig. 24 a,b,c). Ces résultats confirment ceux précédemment obtenus avec les rapports  $\frac{U}{P}$  créatinine à sa-

voir une baisse du pouvoir de concentration urinaire. A 6 semaines d'âge (D 42) à l'issue de la période de déprivation (24 heures), les animaux traités et non traités présentent une osmolalité identique.

De nos résultats on peut aussi dire que :

- la capacité de concentration évolue avec l'âge ;
- les fonctions glomérulaires (FG) et tubulaires (capacité de concentration urinaire et transport ionique) n'ont pas la même potentialité de récupération après perturbation in-utero par le Furosémide. Les fonctions tubulaires (concentration urinaire) accusant un retard par rapport à la FG.

Les travaux de Dupont (193) montrent une altération de la capacité à excréter une surcharge chez les nouveaux-nés traités in-utero au Furosémide, et également un retard de la maturation de cette capacité aux 1er et 5ème jour de la vie extra-utérine. Ce retard d'acquisition de la capacité d'excrétion d'une surcharge est compensé au 12ème jour. Ces travaux et les nôtres sont complémentaires et aboutissent à des conclusions similaires : le furosémide a induit un retard d'acquisition des fonctions tubulaires de dilution et de concentration de l'urine.

KAVLOCK (194) détecte aussi un dysfonctionnement rénal chez des animaux en apparence morphologiquement en bon état exposés avant la naissance au nitrofène. Il observe ces déficits même à D50. Le déficit de la capacité de concentration urinaire peut être dû à un effet central (secrétion d'ADH altérée) ou périphérique, rénal (incapacité de générer ou d'utiliser le gradient médullaire). Le fait de la persistance de ce déficit longtemps après l'administration du produit nous incline à croire que la lésion induite prénatalement par le Furosémide réside dans le rein lui-même plutôt que dans un quelconque site extra-rénal.

De l'ensemble de nos résultats, nous tirons la proposition d'un modèle animal présentant à la naissance :

- une fonction tubulaire proximale stimulée ;
- un retard dans l'apparition et la maturation de l'anse de Henle ;
- une fonction tubulaire distale stimulée.

Ceci expliquerait nos résultats : une forte réabsorption de Na faible concentration urinaire et une importante excrétion de K.

Des études morphométriques réalisées préalablement dans ce laboratoire ont montré une réduction apparente de la densité glomérulaire (nombre de glomérules par unité de cortex rénal) après un traitement in-utero au Furosémide (45). La première explication fut une baisse du nombre absolu des glomérules. Mais nous sommes enclin à considérer cet aspect comme le résultat d'une adaptation tubulaire à une longue exposition au Furosémide qui pourrait induire une augmentation de la longueur et diamètre des tubules distaux ainsi que l'a rapporté KAISLING (171, 172, 175, 176) après exposition chronique au Furosémide. On pourrait donc admettre qu'une telle adaptation structurale et fonctionnelle ait entraîné des évolutions différentes pour le GFR et les fonctions tubulaires

durant la croissance, et donc un déséquilibre glomérulo-tubulaire et une homéostasie électrolytique anormale.

En définitive, nous concluons que le Furosémide in-utero cause des dommages fonctionnels de la FG, et des mécanismes de concentration et de transport ionique. La filtration glomérulaire est compensée à D12 alors que le dysfonctionnement tubulaire persiste encore.

### GENTAMICINE

Les antibiotiques aminoglycosides sont le principal recours dans le maniement clinique des infections gram-négative. Malheureusement la néphrotoxicité qu'ils induisent fréquemment limite leur usage en thérapeutique humaine (196 - 200). Une récente étude a révélé qu'ils sont responsables de 11% de cas d'insuffisance rénale (IR) acquise en milieu hospitalier (200). Les mécanismes pathogéniques de cette néphrotoxicité et l'aspect clinique de cette IR induite par les aminoglycosides sont bien documentés. Cette néphrotoxicité est caractérisée par une variété d'altérations morphologiques et fonctionnelles rénales. La manifestation initiale de cette toxicité est l'enzymurie. Les atteintes tubulaires proximales des processus de transport conduisent à une glycosurie, protéinurie et aminoacidurie, réalisant un syndrome de Fanconi.

Le traitement par des aminoglycosides dont la gentamicine est le chef de file, a été démontré être responsable d'atteintes morphologiques rénales également chez les nouveaux-nés : altérations tubulaires proximales (104), modifications glomérulaires (201 - 204) et ralentissement de la maturation du rein en plein développement (205 - 207).

Nous avons recherché si ces faits morphologiques sont accompagnés d'altérations fonctionnelles chez les nouveaux-nés et jeunes rats âgés de 1, 5, 12 et 42 jours traités in-utero par 75 mg/kg/j de Gentamicine. Cette dose comparée à la dose thérapeutique conseillée chez l'homme (4,5 mg/kg/jour) peut paraître héroïque ; mais elle reste largement dans la gamme des doses néphrotoxiques chez les rats de la souche Wistar (MALLIE 205). Cette dose exprimée par Kg de poids corporel avec correc-

tion par la surface du corps, elle devient comparable à la dose thérapeutique chez l'homme.

A D1, les nouveaux-nés prénatalement exposés à la gentamicine (G75) présentent un poids corporel, une diurèse et une clairance de la créatinine plus faibles que les nouveaux-nés de la portée témoin (tableau X). Ces modifications ont déjà été rapportées auparavant (58, 208) et sont du même type que celle observées dans la néphrotoxicité classique chez l'adulte. Cet aspect pourrait s'expliquer par un ralentissement possible de la différenciation glomérulaire provoquant chez les nouveaux-nés traités une quantité réduite de glomérules fonctionnels à la naissance (209) et aussi par une altération de la membrane basale glomérulaire, quelque soit son stade de différenciation (201, 204). La gentamicine affecte le coefficient de filtration, provoquant une réduction du débit de filtration. L'une des conséquences de cette action est l'élévation de la concentration plasmatique de la créatinine à D1 ( $p < 0,05$ ) Tableau X. La baisse du taux de filtration sous l'action de la gentamicine nous amène à nous demander si la clairance de la créatinine peut continuer à être un marqueur fidèle de la néphrotoxicité en cas d'insuffisance rénale avancée.

La faiblesse pondérale constatée chez les nouveaux-nés traités in-utero pourrait être due au fait que le nombre moyen de nouveaux-nés par portée est plus élevé chez les G75 que dans le groupe témoin (Tableau IX). Par ailleurs il est bien reconnu que chez l'enfant le retard de croissance et le délai dans la maturation du squelette sont associés à l'insuffisance rénale chronique (210).

L'excrétion hydrique fractionnelle (FEH<sub>2</sub>O) accrue et l'effondrement du rapport  $\frac{U}{P}$  créatinine montrent qu'un aspect de l'insuffisance

rénale observée chez les nouveaux-nés de rat est un défaut de concentration. Toutefois la valeur de la concentration urinaire de la créatinine n'est pas significativement différente entre le groupe témoin et celui traité à la Gentamicine.

Dans l'excrétion des électrolytes, des altérations sont observées après Gentamicine : faible excrétion de Na, Cl et Pi ; et forte excrétion de K qui reste le soluté urinaire majeur. En effet après filtration, la gentamicine est réabsorbée au niveau des cellules proximales rénales où elle induit la formation de corps myéloïdes et provoque une anoxie mitochondriale et une nécrose cellulaire (211, 212) une fraction interagit avec la membrane cellulaire pour inhiber l'activité d'enzymes membranaires telles que la Na-K ATPase. (213, 214). Cette interaction perturbe le processus de transport ionique. Cependant en l'état actuel, il semble difficile de donner une explication substantielle de ce phénomène : l'hypotrophie des nouveaux-nés, les altérations glomérulaires et tubulaires et / ou la faible quantité de glomérules fonctionnels pouvant être responsables séparément ou ensemble de cette dysmaturation du comportement des électrolytes dans le rein de l'animal en croissance.

Les résultats observés à D1 semblent indiquer que l'insuffisance rénale résulte en partie d'un déficit dans la capacité de concentrer l'urine, lui-même dû à 1°) l'incapacité d'établir un gradient cortico-papillaire (215) 2°) une hyperkaliurèse empêchant les mécanismes de concentration de fonctionner. Enfin ce déficit se produit alors que l'immaturation physiologique du rein de rat à la naissance est encore importante.

A D5, les paramètres fonctionnels observés ne présentent pas pour la plupart de différence significative entre les groupes témoin et G75. Cela suggère un possible recouvrement des fonctions rénales, dû soit à un hyperfonctionnement des néphrons présents soit à une importante différenciation postérieure à la naissance aboutissant enfin à une quantité normale glomérules. Mais la quantité de néphrons présents dans le rein de chaque espèce animale étant génétiquement programmée, il serait douteux que l'action du médicament ne portant pas sur le genome puisse provoquer un désordre génétique entraînant un changement dans la quantité définitive de néphrons (surtout pour les animaux à néphrogenèse complète à la naissance). Le rat a une néphrogenèse incomplète à la naissance ; cela nous incline à envisager une normalisation accélérée impliquant une augmentation de la filtration glomérulaire par restauration du nombre de néphrons fonctionnels.

Malheureusement, dans nos expériences nous n'avons pas de quantification des néphrons différenciés aux différents âges post-nataux étudiés. C'est pour cela que la restauration observée dans la filtration glomérulaire est intrigante pour les résultats à D5.

.. A D12, la néphrogenèse est presque complète. Le poids corporel et la diurèse sont plus faibles dans le groupe G75 que dans le groupe témoin (Tableau X). La filtration glomérulaire est semblable, la créatinine plasmatique n'est pas non plus différente dans les 2 groupes. La réabsorption de l'eau et les électrolytes est perturbée comme l'indiquent d'une part la faible FEH<sub>2</sub>O et le rapport  $\frac{U}{P}$  créatinine et d'autre part la

baisse de FENa et FEK chez les nouveaux-nés in-utero traités. Cependant la FECl n'est pas différente dans les 2 groupes (Fig. 26 d).

La somme des cations urinaires (Na<sup>+</sup> et K<sup>+</sup>) n'est pas égale à celle des anions : elle est toujours supérieure : il y a donc un trou anionique urinaire correspondant à des anions indosés par nos techniques. Une variation de l'excrétion cationique doit être accompagné par une variation identique dans l'excrétion anionique. Comme FECl n'est pas modifiée, la baisse observée dans l'excrétion phosphatée pourrait correspondre à la diminution de l'excrétion de sodium et de potassium. Cependant Pegorier observe une augmentation de la FE<sub>Pi</sub> après une exposition prénatale à la Gentamicine, 3 jours après la naissance (216 - 217, 220).

A D42 (6 semaines), les groupes témoins et G75 présentent des poids corporels et des filtrations glomérulaires identiques. Par contre, le groupe G75 présente une hyperdiurèse, une FEH<sub>2</sub>O élevée et une réduction du rapport  $\frac{U}{P}$  créatinine, indiquant que les mécanismes de concentration urinaire<sup>P</sup> présentent encore une dysmaturation. Cette altération est observée trop longtemps après la naissance pour être attribuée à une action directe de la Gentamicine. Il est possible que l'hyperdiurèse joue un rôle important dans ce déficit. Nos résultats sont en accord avec les études morphométriques préalablement réalisées dans ce laboratoire (207), mettant en évidence la persistance de lésions morphologiques longtemps après l'exposition in-utero.



On peut envisager que durant le recouvrement les glomérules et les tubules n'ont pas le même processus de maturation. En effet suite à l'action de la Gentamicine sur le tubule soit chez l'adulte soit chez le nouveau-né (214 , 218 - 219), et aux fuites possibles observées au niveau des "tigh junctions" chez les jeunes rats (220), il est possible qu'un développement ralenti du tubule soit responsable d'un fonctionnement insuffisamment adapté à l'évolution du processus de croissance chez l'animal.

En effet des perturbations de l'équilibre tubulo-glomérulaire et glomérulo-tubulaire sont souvent observées à la suite des lésions rénales médicamenteuses (31, 221-226). Dans notre travail, un déséquilibre entre les évolutions post-gentamicine des glomérules et des tubules est observé. Les 1ers étant fonctionnels normalement plus tôt que les derniers. Cela suggère que l'action de la Gentamicine sur la filtration glomérulaire est peut être en partie indépendante de l'atteinte du tube rénal, donc directe et non due en totalité à la diminution du débit de filtration glomérulaire par feed-back tubulo-glomérulaire.

Les modifications dans le comportement des électrolytes observées à D1 et D12 ne sont plus observées à D42.

La pharmaco modulation de la capacité de concentrer l'urine chez l'animal en croissance est retrouvée par l'étude de la corrélation entre poids corporel d'une part et d'autre part la FENa, la FEK et le rapport  $\frac{U}{P}$  créatinine. En effet pendant la maturation, dans les 2 groupes,

l'augmentation du poids corporel est fortement corrélée à l'augmentation de la FEK et  $\frac{U}{P}$  créatinine. Cependant pour le FENa

la corrélation n'existe que pour le groupe témoin (Tableau XIV). Ce qui pourrait impliquer que 1°) la gentamicine agit sur le système d'échange de Na ; en accord avec l'inhibition de la Na- K ATPase rénale par la gentamicine (213 - 214, 227 - 229).

2°) l'absence d'une réabsorption sodée normale pourrait expliquer le retard dans le processus de croissance chez les nouveaux-nés G75.

### ***Influence de la lactation sur la néphrotoxicité***

*Cette étude a été menée pour savoir si l'insuffisance rénale observée a uniquement une origine rénale prénatale ou si elle est aussi influencée par la nutrition (lactation). Tous les paramètres étudiés antérieurement ont été mis à contribution.*

*L'analyse des résultats (Fig. 28 - 39) suggère un passage de la gentamicine du lait maternel aux nouveaux-nés. Les animaux GT TG et GG présentent un gain de poids plus important que les témoins TT. Par contre ils accusent un retard de récupération pour la filtration glomérulaire (Ccr) fig. 30 et la capacité de concentration urinaire ( $\frac{U}{P}$  créa-*

*tinine) (Fig. 31) à D42. Les nouveaux-nés témoins confiés à des mères traitées deviennent malades et se comportent comme les nouveaux-nés G75 allaités par des mères G75.*

*La FEH<sub>2</sub>O des animaux GT, TG et GG est supérieure à celle des témoins. Les transports ioniques sont également perturbés. Ces lésions fonctionnelles ont reçu une confirmation par des observations en microscopie électronique. Ces lésions sont minimes, modérées et focales. Elles sont sans caractères spécifiques : dilatation du réticulum endoplasmique, gonflement des mitochondries.*

*L'observation de la variation du poids du rein droit a révélé un poids rénal plus petit chez les animaux G75 allaités par une mère G75 (GG) et chez les animaux témoins allaités par une mère G75 (GT) à 12 jours. Cependant le rapport Poids du rein sur poids du corps ne semble pas affecté. Cela donne à penser que la croissance rénale est affectée au même titre que la croissance générale. Ces résultats sont en accord avec ceux précédemment trouvés par Mallié chez les nouveaux-nés de rat traités in-utero et étudiés à la naissance (205). Si l'on tient compte du fait que dans le groupe traité le nombre moyen de nouveaux-nés est supérieur à celui du groupe témoin, et vu que le gain de poids chez les mères est invariable dans les 2 groupes, la faiblesse du poids corporel serait-elle un indice déterminant pour conclure qu'il y a retard de la maturation ?*

*Il semble assez difficile de répondre à cette question de façon péremptoire d'autant plus qu'on ne connaît pas les facteurs inductifs de l'hypotrophie. Dans ces travaux très récents Appiani (210) montre que chez un enfant avec insuffisance rénale chronique le retard de croissance est associé entre autre à un déficit calorique, à l'hyper parathyroïdisme et à une concentration sanguine élevée en urée. Mais cela ne nous avance pas quant à la relation entre le degré de l'insuffisance rénale et le retard de maturation. Toutefois, le fait d'une quantité plus faible de glomérules différenciés par mg de poids corporel ou de rein (Mallié (209) ) laisse suggérer une lésion plus spécifique de la maturation rénale.*

*Pour revenir aux groupes d'animaux croisés et non croisés à la naissance, on peut conclure que cette néphrotoxicité induite in-utero chez les nouveaux-nés peut être encore entretenue postpartum par l'allaitement.*

# CHAPITRE X

## CONCLUSION GÉNÉRALE

*'Toutes les fleurs de l'avenir sont dans les  
semences d'aujourd'hui'.*

*Proverbe Chinois*

## CONCLUSION GENERALE

Notre travail a permis d'aborder les conséquences fonctionnelles de l'exposition prénatale à une substance pharmacologique, sur le rein de rat en développement. Le rat étant un animal à néphrogenèse incomplète au moment de la parturition, ce modèle expérimental est voisin du développement rénal de l'enfant prématuré et permet d'imaginer les effets du traitement sur le rein humain avant la naissance.

Le Furosémide administré in-utero cause des altérations fonctionnelles de la filtration glomérulaire, des mécanismes de concentration urinaire et des transports ioniques. La compensation de ces lésions est inégalement répartie dans le temps, la fonction glomérulaire de filtration étant corrigée plus tôt que les fonctions tubulaires. Le Furosémide a également semblé avoir provoqué un trouble dans le développement postnatal des différents segments du néphron. Ce trouble développemental serait à l'origine d'une adaptation structurale et fonctionnelle ayant entraîné des évolutions différentes pour la filtration glomérulaire et les fonctions tubulaires pendant la croissance.

La Gentamicine administrée in-utero a provoqué une dysmaturation rénale (faible poids de rein) et un retard de croissance générale (animaux hypotrophiques). Cet effet transplacentaire est accompagné par une insuffisance rénale fonctionnelle. La néphrotoxicité consiste surtout en un effondrement de la capacité à concentrer l'urine. Cette néphrotoxicité fonctionnelle est réversible ; mais la vitesse de compensation n'est pas la même pour les fonctions glomérulaires et tubulaires; les premières étant corrigées plus tôt que les dernières. D'où peut-être une rupture dans l'équilibre glomérulo-tubulaire qui entrainerait une adaptation fonctionnelle pendant la croissance. En outre nous avons observé que cette néphrotoxicité peut-être entretenue longtemps après la naissance par l'allaitement.

Donc de l'ensemble de nos travaux nous tirons la conclusion suivante: le rein du foetus et du nouveau-né bien qu'immature est sensible à l'action de certaines substances pharmacologiques. Cela devrait inciter à plus de prudence dans la prescription médicamenteuse chez la femme enceinte. Nous n'avons abordé ici que le cas de la gentamicine et du furosémide, mais ce modèle d'étude expérimentale pourrait s'étendre à d'autres médicaments.



**REFERENCES  
BIBLIOGRAPHIQUES**

*'Pour avoir voulu cheminer toute  
seule, la rivière s'est perdue en  
sinuosités'.*

*Proverbe congolais*

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1 - **CHATELANAT F.**  
*Anatomie et histologie du rein*  
*In Néphrologie, Chap. 1, pp. 1-39*  
*Ed. Flammarion Medecine, 1979, Paris.*
- 2 - **PITTS R.F.**  
*Anatomie du rein*  
*In : Physiologie du rein et du milieu intérieur, Chap. 1, pp. 1-8*  
*Ed. Masson et Cie Paris, 1970.*
- 3 - **BANKIR L. et TRINH TRANG TAN M.M.**  
*Anatomie du rein, Chap. 1, pp. 11-26*  
*La fonction rénale : acquisitions et perspectives*  
*Ed. J.P. Bonvalet et INSERM/Flammarion Medecine, 1980.*
- 4 - **DE ROUFFIGNAC C., CORMAN B. et POUJEOL P.**  
*Réabsorption isoosmotique proximale de l'eau, Chap. 6, pp. 103-124*  
*La fonction rénale : acquisitions et perspectives*  
*Ed. J.P. Bonvalet et INSERM/Flammarion Medecine, 1980.*
- 5 - **CROISILLE Y.**  
*Le développement du rein*  
*In Néphrologie , Chap. 2, pp. 40-56*  
*Ed. Flammarion Medecine, Paris, 1979.*
- 6 - **SPITZER A.**  
*Factors underlying the increase in GFR during postnatal development*  
*In The Kidney during the development. Morphology and Function*  
*Chap. 16, pp. 127 - 132, Ed. by Adrian Spitzer, Masson Publishing,*  
*USA Inc, 1982.*
- 7 - **IEKUNI ICHIKAWA**  
*Maturational changes in the dynamics of glomerular ultrafiltration*  
*in the rat*  
*In the Kidney during the development. Morphology and Function*  
*Chap. 15, pp. 119-125, Ed. by A. Spitzer, Masson Publishing USA*  
*Inc. 1982.*
- 8 - **WESTLEY, H. REEVES and M.G. FARQUHAR**  
*Maturation and Assembly of the glomerular filtration surface in*  
*the newborn rat Kidney Studies using electron - dense tracers, cationic*  
*probes and cytochemistry.*  
*In the Kidney during the development : Morphology and Function*  
*Chap. 13, pp. 97 - 113, Ed. A. Spitzer Masson Publishing Inc, 1982.*
- 9 - **MIKLOS MILTENYI**  
*Developmental Aspects of the glomerular Filtration of plasma proteins.*  
*In the Kidney during the development : Morphology and Function*  
*Chap. 19, pp. 147-148, Ed. A. Spitzer, Masson Publishing, 1982.*

- 10 - GREVEN J.**  
Renal transport of drugs  
In *Renal transport of organic substances*  
Ed. by R. Greyer, F. Lang and S. Silbermagl Springer - Verlag  
Berlin, New-York, pp. 262-277, 1981.
- 11 - APERIA A. and ELINDER G.**  
Distal tubular Na reabsorption in the developing rat kidney.  
*Am. J. Physiol.*, 240, F487-F491, 1981.
- 12 - APERIA A. and HERIN P.**  
Development of glomerular perfusion rate and nephron filtration  
rate in rats 17-60 days old.  
*Am. J. Physiol.*, 228, F1319-F1325, 1975.
- 13 - HOSTER M.**  
Principles of nephron differentiation.  
*Am. J. Physiol.*, 235, F387-F393, 1978.
- 14 - DHOULA H., BIRR B., JEZEK J. and ZICHA J.**  
SNGFR ratios of superficial intercortical and juxtamedullary nephrons  
in rats during development.  
*Pflugers Arch.*, 366, 277 - 279, 1986.
- 15 - MERLET-BENICHOU C., PEGORIER M., MUFFAT-JOLY M. and  
AUGERON C.**  
Functional and morphologic patterns of renal maturation in the  
developing guinea pig.  
*Am. J. Physiol.*, 241, F618-F624, 1981.
- 16 - ROUFFIGNAC C. <sup>(de)</sup> and MONNENS L.**  
Functional and morphologic maturation of superficial and juxtamedul-  
lary nephrons in the rat.  
*J. Physiol. (London)*, 262 : 119-129 (1976).
- 17 - SOLOMON S.**  
Developmental changes in nephron number proximal tubular length  
and superficial nephron glomerular filtration rate of rat.  
*J. Physiol (London)*, 272 : 573-589 (1977).
- 18 - ZINK H. and HOSTER M.**  
Maturation of diluting capacity in loop of Henle of rat superficial  
nephrons.  
*Am. J. Physiol.*, 233 : F519-F524 (1977).
- 19 - LELIEVRE-PEGORIER M., MERLET-BENICHOU C. , ROINEL N. and de  
ROUFFIGNAC C.**  
Developmental pattern of water and electrolyte transport in rat  
superficial nephrons.  
*Am. J. Physiol.*, 245 : F15-F23 (1983).
- 20 - DHOULA H.**  
A micropuncture study of the development of renal function in  
the young rat.  
*Biol. Neonate*, 29 : 117-128 (1976).



- 21 - HARAMATI A. and KLEIMAN L.I.**  
Chloride concentration gradient in newborn dogs in the presence of distal nephron blockade.  
*Am. J. Physiol.*, 239 : F328-F335 (1980).
- 22 - QUAMME G.A. and DIRKS J.H.**  
Magnesium transport in the nephron.  
*Am. J. Physiol.*, 239 : F393-401 (1980).
- 23 - BRUNETTE N., VIGNEAULT N. and CARRIERE S.**  
Study of Magnesium transport along the nephron in the young rat.  
*Am. J. Physiol.*, 227 : F891-896 (1974).
- 24 - SCHAEFFER J.A.**  
Mechanism coupling the absorption of solute and water in the proximal nephron.  
*Kidney Int.* , 25 : 708-716 (1984).
- 25 - CELSI G., LARSSON L. and APERIA A.**  
Proximal tubular reabsorption and Na/K ATPase activity in remnant Kidney of young rats.  
*Am. J. Physiol.*, 20 : F388-F593 (1986).
- 26 - BARAC-NIETO M. and SPITZER A.**  
The relationship between renal metabolism and proximal tubule transport during ontogeny.  
*Pediatr. Nephrol.*, 2 : 356-367 (1988).
- 27 - HORSTER M. and LARSSON L.**  
Mechanism of fluid absorption during proximal tubule development.  
*Kidney Int. Vol. 10* : 348-363 (1976).
- 28 - KASKEL F.J., KUMAR A.M., LOCKHART E.A., EVAN A. and SPITZER A.**  
Factors affecting proximal tubular reabsorption during development.  
*Am. J. Physiol.* , 252 : F188-F197 (1987).
- 29 - APERIA A. and LARSSON L.**  
Correlation between fluid and proximal tubule ultrastructure during development of rat kidney .  
*Acta Physiol. Scand.*, 105 : 11-22 (1979).
- 30 - EVAN A.P., GATTONE H.V.H. and SCHWARTZ G.J.**  
Development of solutes transport in rabbit proximal tubule II Morphologie segmentation.  
*Am. J. Physiol.*, 245 : F391-F407 (1983).
- 31 - KOKKO J.P.**  
Overview of renal physiology (Appendix)  
In : Kokko J.P., Tannen R.L. (eds) W.B. Saunders Company Philadelphia, pp. 833-854 (1986).
- 32 - MOREL F. et IMBERT-TEBOUL M.**  
Mécanismes de concentration de l'urine par le rein .  
In : La fonction rénale : acquisitions et perspectives.  
Ed. J.P. Bonvalet, Chap. 7, pp. 125-139.  
*INSERM/Flammarion Med.* (1980).

- 33 - **ROUFFIGNAC C.** <sup>(de)</sup> **et IMBERT M.**  
Données récentes sur les mécanismes de concentration et de dilution de l'urine.  
*J. Physiol. (Paris)*, 71 : 183A-255A (1975).
- 34 - **MURAYAMA Y., ROUFFIGNAC C.** <sup>(de)</sup> **et MOREL F.**  
Etude par microperfusion du fonctionnement de l'anse de Henle chez un rongeur désertique.  
In *Actualités Néphrologiques de l'Hôpital Necker*.  
Flammarion Paris, pp. 91-103 (1971).
- 35 - **PENNEL J.P., LACY F.B. and JAMISON R.L.**  
An in vivo study of concentration process in the descending limb of Henle's loop.  
*Kidney Int.*, 5 : 337-347 (1974).
- 36 - **ROCH-RAMEL F. and PETERS G.**  
Renal transport of Urea  
In *Renal Transport of organic substances*.  
Ed. by R. Greger, F. Lang and S. Silbernagl.  
Springer-Verlag, Berlin-New-York, pp. 134-152 (1981).
- 37 - **ROUFFIGNAC C.** (de)  
Physiological role of the loop of Henle in urinary concentration  
*Kidney Int.*, Vol. 2 : 297-303 (1972).
- 38 - **KOKKO J.P. and RECTOR F.C.**  
Countercurrent multiplication without active transport in the inner medulla.  
*Kidney Int.*, 2 : 214-223 (1972).
- 39 - **KOKKO J.P.**  
Transport characteristics of the thin limbs of Henle.  
*Kidney Int.*, Vol. 22 : 449-453 (1982).
- 40 - **MADSEN K.M., CLAPP W.L. and VERLANDER J.W.**  
Structure and function of the inner medullary collecting duct.  
*Kidney Int.*, Vol. 4 , p. 441 (1988).
- 41 - **SANDS J.M. and KNEPPER M.A.**  
Urea permeability of mammalian inner medullary collecting duct system and papillary surface epithelium.  
*J. Clin. Invest.*, 79 : 138-147 (1987).
- 42 - **KONDO Y. and IMAI M.**  
Effects of glutaraldehyde fixation on renal tubular function I Preservation of vasopressin - stimulated water and Urea pathways in rat papillary collecting duct.  
*Pflugers Arch.*, 408 : 479-483 (1987).
- 43 - **CHANDHOKE P.S., SAIDEL G.M. and KNEPPER M.A.**  
Rôle of inner medullary collecting duct NaCl transport in urinary concentration  
*Am. J. Physiol.*, 249 : F688-F697 (1985).

- 44 - **SCHMIDT-NIELSON B., GRAVIS B. and ROTH J.**  
Water removal and solutes addition determining increases in renal medullary osmolality.  
*Am. J. Physiol.*, 244 : F472-F482 (1985).
- 45 - **BENGELE H.H., Mc NAMARA E.R. and ALEXANDER E.A.**  
Potassium secretion along the inner medullary collecting duct.  
*Am. J. Physiol.*, 236 : F278-F282 (1979).
- 46 - **SCHON D.A., BACKMAN K.A., and HAYSLETT J.P.**  
Role of the medullary collecting duct in potassium excretion in potassium-adapted animals.  
*Kidney Int.*, 20 : 655-662 (1981).
- 47 - **ROCHA A.S., KUDDO L.H.**  
Water, urea sodium chloride and potassium transport in the vitro isolated perfused papillary collecting duct.  
*Kidney Int.*, 22 : 485-491 (1982).
- 48 - **BERL T.**  
Water metabolism in potassium depletion  
*Miner Electrol. Metabol*, 4 : 209-215 (1980).
- 49 - **KOSEKI C., HAYASHI Y., TORIKAI S., FURUYA M., OHNUMA N. and IMAI M.**  
Localization of binding sites for rat atrial natriuretic polypeptide in rat kidney.  
*Am. J. Physiol.*, 250, F210-F216 (1986).
- 50 - **HEALY D.P., FANESTIL D.D.**  
Localization of atrial natriuretic peptide binding sites within the rat kidney.  
*Am. J. Physiol.*, 250 : F573-F578 (1986).
- 51 - **SONNENBERG H., HONRATH U., CHONG C.K. and WILSON D.R.**  
Atrial natriuretic factor inhibits Na transport in medullary collecting duct.  
*Am. J. Physiol.*, 250 : F963-F966 (1986) .
- 52 - **ZEIDEL M.L., SEIFTER J.L., LEAR S., BRENNER M.B. and SILVA P.**  
Atrial peptide inhibit oxygen consumption in kidney medullary collecting duct cells.  
*Am J. Physiol.*, 251 : F379-F383 (1986).
- 53 - **ZEIDEL M.L., SILVA P., BRENNER B.M., SEIFTER J.L.**  
cGMP mediates effects of atrial peptides on medullary collecting duct cells.  
*Am. J. Physiol.*, 252 : F551-F559 (1987)
- 54 - **KNEPPER M.A., SANDS J.M., NONOGUCHI H., STAR R.A. and PACKER R.K.**  
Inner medullary collecting duct.  
*In Nephrology, Vol. 1, Proc 10th Int. Congr. Nephrol.*  
Ed. by Davison AM London Bailliere Tindoll, p. 317 (1988).

- 55 - MOORE E.S., KAISER B.A., SIMPSON E.H. and McMANN B.J**  
Ontogeny of intra-renal solute gradients in fetal life.  
In *The Kidney during the development. Morphology and Function.*  
Chap. 30, pp. 223-231.  
Ed. By A. Spitzer Masson Publishing USA Inc, (1982).
- 56 - STEVENSON J.L.**  
Models of the urinary concentrating mechanism.  
*Kidney Int.* Vol. 31 N°2 : 648-661 (1987).
- 57 - ROBILLARD J.E., WEITZMAN R.E., FISHER D.A. and SMITH F.G.**  
Developmental aspects of renal tubular absorption of water and fetal renal response to Arginine Vasopressin.  
In *the Kidney during the development : Morphology and function*  
Chap. 28, pp. 205.  
Ed. by A. Spitzer Masson Publishing USA Inc 1982.
- 58 - MALLIE J.P., BILLEREY C.**  
*Etude expérimentale de la néphrotoxicité : Effets des aminoglycosides administrés durant la gestation sur le rein du rat nouveau-né.*  
*Néphrologie* 10 ; 27-31 (1989).
- 59 - RAJERISON R.M., BUTLEN D. and JARD S.**  
Ontogenic development of kidney and liver vasopressin receptors in the Kidney during the development.  
Chap. 33, pp. 249.  
Ed. A. Spitzer Masson USA (1982).
- 60 - HORSTER M.F.**  
Cellular determinants of extracellular osmotic Homeostasis in Nephron ontogeny.  
In *The Kidney during the chap.* 32, pp. 241.  
Ed. A. Spitzer Masson USA Inc. (1982).
- 61 - FUKUDA Y. , LARSSON S., CELSI G., LECHENE C. and APERIA A.**  
Use of experimental models to study the development of renal function.  
*Biol. Neonate*, 53 : 197-200 (1988).
- 62 - RANE S., APERIA A., ENEROTH P., LUNDIN S.**  
Development of urinary concentrating capacity in weaning rats.  
*Pediatr. Res.*, 19, 472-475 (1985).
- 63 - RANE S. and APERIA A.**  
Ontogeny of Na, K ATPase activity in the TALH of urinary concentrating capacity in rats.  
*Am. J. Physiol.*, 249 : F273-F278 (1985).
- 64 - SCHMIDT U. and HOSTER M.**  
Na-K activated Na/K ATPase : activity maturation in rabbit nephron segments dissected in vitro.  
*Am. J. Physiol.*, 233 : F55-F60 (1977).
- 65 - IGARASHI Y., APERIA A., LARSSON L. and ZETTERSTROM R.**  
Effect of betamethazone on NaK ATPase activity and basal and lateral cell membranes in proximal tubular cells during early development.  
*Am. J. Physiol.*, 245 : F232-F237 (1983).

- 66 - **EDWARDS B.R., MENDEL D.B., LAROCHELLE F.T., STERN PAND VALTIN H.**  
Postnatal development of urinary concentrating ability in rat : changes in renal anatomy and neurohypophysial hormones.  
In the Kidney during the development : Morphology and function, Chap. 31, pp. 233.  
Ed. A. Spitzer Masson USA (1982).
- 67 - **LEAKE R.D., WEITZMAN R.E., WEINBERG J.A. and FISCHER D.A.**  
Control of vasopressin secretion in the newborn lamb.  
Biol. Neonate, 13 : 257-260 (1979).
- 68 - **SULYOK E.**  
Renal response to vasopressin in premature infants : what is new?  
Biol Neonate, 53 : 212-219 (1988).
- 69 - **ROBILLARD J.E. and WEITZMAN R.E.**  
Developmental aspects of the fetal renal response to exogenous Arginine Vasopressin  
Am. J. Physiol., 238 : F407-F414 (1980).
- 70 - **GOLDSMITH D.I., DRUKKER A., BLAUFOX M.D., EDELMANN J.R. and SPITZER A.**  
Hemodynamic and excretory responses of neonatal canine kidney to acute volume expansion.  
Am. J. Physiol., 237 : F392 (1979).
- 71 - **KNOX F., WILLIS L., STANDHEY J. and SCHNEIDER E.**  
Hydrostatic pressures in the proximal tubules and peritubules capillaries in the dog.  
Kidney Int. 2, 11-16 (1972).
- 72 - **ALLISON Mem, LIPHAM E.M. and GOTTSCHALK C.W.**  
Hydrostatic pressure in the rat kidney.  
Am. J. Physiol., 223 : 975 (1972).
- 73 - **SPITZER A.**  
The role of the kidney in Na homeostasis during maturation.  
Kidney Int, Vol. 21, p. 539-545 (1982).
- 74 - **APERIA A. and ELINDER G.**  
Distal tubular sodium reabsorption in the developing rat kidney.  
Am. J. Physiol., 240 (9) : F487 (1981).
- 75 - **RODRIGUEZ-SORIANO J., VALLO A., CASTILLO G. and OLIVEROS R.**  
Renal handling of water and sodium in infancy and childhood : a study using clearance methods during hypotonic saline diuresis.  
In The Kidney during the development.  
Chap. 36, pp. 269-272.  
Ed. A. Spitzer Masson USA (1982).
- 76 - **SULYOK E., NEMETH M., TENYI I., CSABA I.F., VARGA L. and VARGA F.**  
Relationship between the postnatal development of the renin-angiotensin-Aldosterone system and electrolyte and acid-base status of the Na Cl supplemented premature infants.  
In the Kidney during the development , Chap. 37, pp. 273-281.  
Ed. by A. Spitzer Masson USA (1982).

- 77 - DLOUHA H., HRECEK J. and ZICHA J.**  
Sodium metabolism and developing kidney in the rat.  
In the Kidney during the development : Morphology and function.  
Chap. 41, pp. 303-306.  
Ed. by A. Spitzer Masson Publishing USA Inc. 1982.
- 78 - SOLOMON S.**  
Critical periods in the development of renal regulatory mechanisms.  
In The Kidney during the development.  
Chap. 38, pp. 283-289.  
Ed. by A Spitzer Masson Publishing USA 1982.
- 79 - SPITZER A., KASKEL F.J., FELD L.G. and TRACHTMAN H. JOHNSON V., CHOI Y. and KUMAR M.**  
Renal regulation of phosphates homeostasis during growth.  
Sem. Nephrol., Vol. 3, n°2, 87-93 (1983).
- 80 - BRODEHL J., GELLISSEN K. and WEBER H.P.**  
Postnal development of tubular phosphate reabsorption  
Clinical Nephrology, Vol. 17, n°4, p. 163-171 (1983).
- 81 - JOHNSON V. and SPITZER A.**  
Renal reabsorption of phosphate during development : whole-kidney events.  
Am. J. Physiol., 251 : F251-F256 (1986).
- 82 - KASKEL F.J., KUMAR A.M., FELD L.G. and SPITZER A.**  
Renal reabsorption of phosphate during development : tubular events.  
Pediatr Nephrol, 2 : 129-134 (1988).
- 83 - PUSCHETT J.B. and FRAGOLA J.**  
Parathyroid hormone (PTH) and prostaglandine E2 (PGE2) interactions on phosphate excretion.  
Kidney Int. 19 : 115 (1981) Abstract.
- 84 - ALEXANDER E.A., CHURCHILL S. and BENGELE H.H.**  
Renal hemodynamics and volume homeostasis during pregnancy in the rat.  
Kidney Int. 18 : 173-178 (1980).
- 85 - CONRAD K.P.**  
Renal hemodynamics during pregnancy in chronically catheterized, conscious rats.  
Kidney Int. 26 : 24-29 (1984).
- 86 - BAYLISS C.**  
Renal hemodynamics and volume control during pregnancy in the rat.  
Seminars Nephrology, Vol. 4 n° 3 : 208-220 (1984)
- 87 - DAVISON J.M. and DUNLOP W.**  
Renal hemodynamics and tubular function in normal human pregnancy.  
Kidney Int. 18 : 152-161 (1980).
- 88 - CANTON A.D., CONTE G., ESPOSITO C., UCELLO F. and ANDREUCI V.E.**  
Effects of pregnancy on glomerular dynamics : micropuncture study in rat.  
Kidney Int. 22 : 608-612 (1982).

- 89 - BAYLISS C. and RENNKE H.G.**  
Renal hemodynamics and glomerular morphology in repetitively pregnant aging rat.  
*Kidney Int.* 28 : 140-145 (1985).
- 90 - WEINER I.M.**  
Mechanism of drug absorption and excretion. The renal excretion of drugs and related compounds.  
*Ann. Rev. Pharmacol.* 7 : 39 (1967).
- 91 - GORDON R.C., REGAMEY C. and KIRBY H.M.M.**  
Serum protein binding of aminoglycoside antibiotics.  
*Antimicrob. Ag. Chemother.* 2 : 214-216 (1972).
- 92 - FABRE J., RUDHART M., BLANCHARD H. and REGAMEY C.**  
Persistence of sisomicin and gentamicin in renal cortex and medulla compared with other organs and serum of rats.  
*Kidney Int.* 10 : 444-449 (1976).
- 93 - FABRE J.**  
Néphrotoxicité des Aminoglycosides. I Aspects cliniques et morphologiques.  
*Néphrologie* Vol. 1 n°1 37-43 (1980).
- 94 - KLEINKNECHT D. and FILLASTRE J.P.**  
La tolérance rénale des antibiotiques  
Paris Masson (1973).
- 95 - CINBURG D.S., QUINTANILLA A.P., LEVIN M.**  
Renal glycosuria due to gentamicin in rabbits.  
*J. Infect. Dis.* 134 : 119-122 (1976).
- 96 - HOUGHTON D.C., HARTNETT M., CAMPBELL ROSWELL M.**  
A light and electron microscopic analysis of gentamicin nephrotoxicity in rats.  
*Amer. J. Path.* , 82 : 589-602 (1976).
- 97 - CURRIES G.A., LITTLE P.J., Mc DONALD S.J.**  
The localisation of cephalosporidine and nitrofurantoin in the kidney.  
*Nephron*, 3 : 282 (1976).
- 98 - JUST M., ERDMANN G., HABERMANN E.**  
The renal handling of polybasic drugs  
1 Gentamicin and protinin intact animals.  
*Arch. Pharmacol*, 300 : 57-66 (1977).
- 99 - FRAME P., BANNISTER T., TAN J.**  
Gentamicin Kinetics and nephrotoxicity in rabbits.  
*Clin. Res.*, 21 : 842 (1973).
- 100 - KORNGUTH M.L., KUNIN**  
Distribution of gentamicin and amikacin in rabbit tissues.  
*Antimicrob. Agents Chemother*, 11 : 974-977 (1977).

- 101 - LUFT F.C., PATEL V. and YUM M.N.**  
Experimental aminoglycoside nephrotoxicity.  
*J. Lab. Clin. Med.*, 86 : 213-220 (1975).
- 102 - WHELTON A.**  
Intrarenal antimicrobial distribution, modulating factors therapeutic and toxicologic implications.  
In *Nephrotoxicity. Interaction of drugs with membrane systems mitochondria-lysosomes.*  
Fillastre J.P. Ed. , pp. 95-126, New-York Paris Barcelone Milan Masson (1978).
- 103 - WHELTON A. and WALKER W.G.**  
Intrarenal antibiotic distribution in health and disease.  
*Kidney Int.* 6 : 131-137 (1974) (Editorial).
- 104 - FABRE J. et DE SOUSA R.**  
Néphrotoxicité des Aminoglycosides. II Transports transtubulaires et facteurs modifiants la néphrotoxicité des A.G.  
*Néphrologie* Vol. 1 n°2, 89-94 (1980).
- 105 - SILVERBLATT F.J. and KUEHN C.**  
Autoradiography of gentamicin uptake by the rat proximal tubule cell.  
*Kidney Int.* 15 : 335-345 (1979).
- 106 - JUST M. and HABERMANN E.**  
The renal handling of polybasic drugs. 2 In vitro studies with brush border and lysosomal preparations.  
*Arch. Pharmacol.* 300 : 67-76 (1977).
- 107 - MORIN J.P., FRESEL J., FILLASTRE J.P.**  
Aminoglycoside actions on the rat kidney lysosomes in vivo and in vitro.  
In *Nephrotoxicity. Interaction of drug with membrane system.*  
Fillastre J.P. Ed. N.Y. , Paris, Barcelone, Milan, Masson Publish pp. 253-263 (1978).
- 108 - MORIN J.P., FILLASTRE J.P.**  
Aminoglycoside induced lysosomal dysfunctions in kidney.  
In *The aminoglycosides*  
Whelton New eds. Chap. 13, pp. 303-324 (1981).
- 109 - WATANABE M.**  
Drug induced lysosomal changes and nephrotoxicity in rats.  
*Acta Path. J.* 28 : 867 (1978).
- 110 - LULLMANN H. and VOLLMER B.**  
Interaction aminoglycosides-phospholipides.  
In *Nephrotoxicity Ototoxicity of drugs. Coll. INSERM.*  
Ed. INSERM J.P. Fillastre, Vol. 102 , pp. 141-165 (1982)
- 111 - AUBERT-TULKENS G., VAN HOOFF F. and TULKENS P.**  
Gentamicin induces a lysosomal phospholipidosis in cultured rat fibroblasts  
*Lab. Invest.*, 40 p. 481-491 (1979).



- 112 - TULKENS P., AUBERT-TULKENS G., VAN HOOF and TROUVET A.**  
The lysosomal toxicity of aminoglycoside.  
In *Nephrotoxicity . Interaction of drugs with membranes systems mitochondria-lysosomes.*  
J.P. Fillastre, Ed. Masson New-York, pp. 231-251 (1978).
- 113 - MORIN J.P., OLIER B., VIOTTE G. et FILLASTRE J.P.**  
Néphrotoxicité des aminoglycosides et toxicité des lysosomiales:  
Approche biochimique et morphométrique.  
In *Nephrotoxicity, Ototoxicity of Drugs*  
Ed. J.P. Fillastre, INSERM, Vol. 102, pp. 113-129 (1982).
- 114 - AU S.,SCHACHT J. and WEINER N.**  
Membrane effects of aminoglycoside antibiotics mesured in liposomes containing the fluorescent probe, 1-anilino - 8 - nophthalene sulfonate.  
*Biochim. Biophys. Acta*, 862, 205-210 (1986).
- 115 - LAURENT G., CARLIER M.B., ROLLMAN B., VANHOFF and TULKENS P.M.**  
Mechanism of aminoglycoside - induced lysosomal phospholipidosis:  
in vitro and in vivo studies with gentamicin and amikacin.  
*Biochem. Pharmacol.* 31 : 3861-3870 (1982).
- 116 - CHAUVIN J.M., RUDHARDT M. et BLANCHARD P.**  
Le comportement de la Gentamicine dans le parenchyme rénal.  
Observations faites chez le rat pendant et après un traitement à dose thérapeutique.  
*Schweiz. Med. Wschr.* , 108 : 1020-1025 (1978).
- 117 - RUDHARDT M. and FABRE J.**  
Behaviour of amikacin in rénal parenchyma of normal rats and of rats with acute obstructive renal insufficiency.  
*Nephron* 24 : 287-292 (1979).
- 118 - BENNETT W.M., PLAMP C.E. and GILBERT D.N.**  
Kinetics of gentamicin uptake in rats cortical slices and the effects of aminoglycoside pretreatment on the transport of para amino hippurate (PAH) and M-Methyl Nicotin amide (NMN).  
In *Nephrotoxicity. Interaction of drugs with membranes systems mitochondria-lysosomes.*  
Fillastre J.P. Ed. p. 143-156, New-York, Paris, Barcelone, Milan Masson (1978).
- 119 - PASTORIZA MUNOZ E., BOWMAN R.L. and KALOYANIDES G.J.**  
Renal tubular transport of gentamicin in the rats.  
*Kidney Int.*, 14 : 772 (1978).
- 120 - VERA-ROMAY J., KRISHAKANTHA J.P. and CUPPAGE F.E**  
Gentamicin Nephrotoxicity in rats. I Acute Biochemical and ultrastructural effects.  
*Lab. Invest.* 33 : 412-417 (1975).

- 121 - SLATER E.C., BERDEN J., BERTINA R.M. and ALBRACHT P.J.S.**  
Actimicin and oligomycin as probe of energy state of mitochondrial membranes.  
In *Energy transduction in respiration and photosynthesis*.  
Bari Adriatica, Ed. Rome, pp. 35-51 (1971).
- 122 - SUBIK J., BEHUM M. and MUSILEK V.**  
Antibiotic mucidin, a new antimycin. Alike inhibitor of electrons transport in rat liver mitochondria.  
*Biochem. Biophys. (Research communication)* 57 : 17-22 (1974).
- 123 - BRASSEUR R., LAURENT G., RUYSSHAERT J.M. and TULKENS P.M.**  
Interactions of aminoglycoside antibiotics with negatively charged lipid layers.  
*Biochem. Pharmacol.* 33 : 629-637 (1984).
- 124 - BENDIRG JAN J.P., FOUCHER B. et FILLASTRE J.P.**  
Influence des aminoglycosides sur le métabolisme respiratoire des mitochondries isolées de foie et de rein de rat.  
In : *Nephrotoxicity. Interaction of drugs with membranes systems mitochondria - lysosomes*.  
J.P. Fillastre, Ed. Masson Masson Publ. USA inc. pp. 315-332 (1978).
- 125 - FABRE J., RUDHARDT M., BLANCHARD P. and CHAUVIN P.**  
Kinetics of gentamicin and sisomicin in renal cortex and medulla of rats compared with organs. Influence of quinine.  
In : *Nephrotoxicity, Interaction of drugs with membranes systems mitochondria-lysosomes*.  
J.P. Fillastre, Ed. Masson USA Inc. pp. 83-94 (1978).
- 126 - FILLASTRE J.P., GODIN M., MORIN J.P., BENDIRDJAN J.P. et VIOTTE G.**  
Rein et médicaments  
In : *La fonction rénale. Acquisistions et perspectives*.  
Ed. J.P. Bonvalet INSERM Flammarion Medecine , pp. 223-249 (1980).
- 127 - LAGRUE G.**  
Le furosémide : action hémodynamique et propriétés diurétiques. Principales applications.  
*La Revue de Médecine*, T 18, n°31, pp. 1540-1544.
- 128 - IMBS J.L., SCHMIDT M. et GIENSEN-CROUSE E.**  
Pharmacologie des diurétiques de l'anse ; données actuelles.  
In : *Actualités néphrologiques de l'hôpital Necker*, pp. 153-173 (1986).
- 129 - LANT A.**  
Clinical pharmacology and therapeutic use.  
Part. 1 *Drugs* 29 : 57 (1985).
- 130 - LANT A.**  
Clinical pharmacology and therapeutic use.  
Part II, *Drugs*, 29 : 269 (1985).

- 131 - IMBS J.L., SCHMIDT M., GIENSEN E.M. and SCHWARTZ J.**  
Is the renin angiotensin system involved in urinary concentration mechanism ?  
*J. Physiol. (Paris)*, 79, 481 (1984).
- 132 - GERBER J.G.**  
Rôle of prostaglandins in the hemodynamic and tubular effects of furosemide.  
*Fed. Proc.* 42 : 1707-1710 (1983).
- 133 - GERBER J.G., NIES A.S. and OLSON R.D.**  
Control of canine renin release : macula densa requires prostaglandins synthesis.  
*J. Physiol. (London)* 319 : 419-429 (1981).
- 134 - HEIDEINREICH O., GREVEN J. and HEINTZE K.**  
Molecular actions of diuretics.  
*Klinische Wochen-Schrift*, 60 : 1258-1263 (1982).
- 135 - LASKI M.**  
Diuretics : Mechanism of action and therapy.  
*Seminars in Nephrology*, Vol. 6, n°3 : 210-223 (1986).
- 136 - KOKKO J.P.**  
Site and mechanism of action of diuretics.  
*American J. Medecin* Vol. Année p. 11-17.
- 137 - BURG M., STONER and GREEN N.**  
Furosemide effect on isolated perfused tubules.  
*Am. J. Physiol.* 225 : F119 (1979).
- 138 - BURG M.**  
Tubular chloride transport and the mode of action of some diuretics.  
*Kidney Int.* 9 : 189-197 (1976).
- 139 - SEELY J.F. and DIRKS J.H.**  
Site of action of diuretics drugs  
*Kidney Int.* 11 : 1-8 (1977).
- 140 - SMIG K., DAY B. and BRATER D.C.**  
The time of course of delivery of furosemide into urine : an independent of overall response.  
*Kidney Inte.* Vol. 22 : 69-74 (1982).
- 141 - BRATER D.C.**  
Determinants of response to loop diuretics.  
*Fed. Proc.* 42 n°6 1694-1698 (1983).
- 142 - BRATER D.C.**  
Determinants of the overall response to furosemide : pharmacokinetics and pharmacodynamics.  
*Fed. Proc.* 42 n°6 : 1711-1713 (1983).

- 143 - ODLIND B.**  
*Determinants of access of diuretics to their site of action.*  
*Fed. Proc.* 42 n°6 1703-1706 (1983).
- 144 - GREGER R.**  
*Chloride reabsorption in the rabbit cortical thick ascending limb of the loop of Henle.*  
*Pflügers Arch.* 390 : 38-43 (1981).
- 145 - GREVEN J., KOELLING and SACHER R.**  
*Studies on the molecular basis of the action of the loop diuretics.*  
*Arch. Pharmacol.* 319 suppl. R51 (1982).
- 146 - HAMMARLUND M.M. and PAALZOW L.K.**  
*Dose-dependent pharmacokinetics of furosemide in the rat.*  
*Biopharmaceutics and drug disposition* : Vol. 3 : 345-359 (1982).
- 147 - MALLIE J.P., M. GERARD A. and GERARD H.**  
*Does the in-utero exposure to furosemide delay the renal maturation*  
*Pediatr. Pharmacology*, 5 : 131-138 (1985).
- 148 - WHITINGTON F.F. and BLACK D.D.**  
*Choletiasis in premature infants treated with parenteral nutrition and furosemide.*  
*J. Pediatr.*, 97 : 647-649 (1980).
- 149 - VERT P., LEGAGNEUR M., BROQUAIRE M. et MORSELLI P.L.**  
*Pharmacocinétique du furosémide chez le nouveau-né.*  
*In INSERM* 1979.
- 150 - VERT P., BROQUAIRE M., LEGAGNEUR M. and MORSELLI P.L.**  
*Pharmacokinetics of furosemide in neonates.*  
*Europ. J. Clin. Pharmacol.*, 22 : 39-45 (1982).
- 151 - INGS R.M.J. and STEVENS L.A.**  
*Pharmacokinetics and metabolism of diuretics.*  
*Progress in Drug metabolism*, Vol. 7 (1983).
- 152 - STUCK S. and VERT P.**  
*J. Pediatr.*, 103 : 481 (1983).
- 153 - KAVLOCK R.J., DASTON G.P.**  
*Detection of renal dysfunction in neonatal rats : methodology and applications.*  
*In* : *Abnormal functional development of the heart, lungs and kidneys.*  
*Ed. by Kavlock R.J., GRABOWSKI C.T., New-York Alan R. Liss Inc. , pp. 337-354 (1983).*
- 154 - MALLIE J.P., GERARD A. and GERARD H.**  
*In-utero - induced gentamicin nephrotoxicity.*  
*IX International Congress of Nephrology Los-Angeles June 11-16 (1984).*

- 155 - FALK G.**  
*Maturation of Renal Function in Infant Rats*  
*Am. J. Physiol.* 181 ; 157-170 (1955).
- 156 - KAVLOCK R.J., GRAY L.E.**  
*Postnatal evaluation of morphological and functional effects of prenatal exposure to nitrofen in Long-Evans rats (1983) cité par KAVLOCK : Réf. 194.*
- 157 - DORIAN C., BORDENAVE C. and CAMBAR J.**  
*Circadian and seasonal variations in amikacin induced acute renal failure evaluated by Gamma glutamyl transferase excretion changes.*  
*An. Rev. Chrono pharmacol.* Vol. 3, pp. 111-114 (1986).
- 158 - CAL J.C., DORIAN C. and CAMBAR J.**  
*Circadian and circannual changes in nephrotoxic effects of heavy metals and antibiotics.*  
*An Rev. Chronopharmacol.,* Vol. 22 pp. 143-176 (1986).
- 159 - CAMBAR J., C. CAL J.C.**  
*Rythmes biologiques et toxicité des agents physiques chimiques et médicamenteux.*  
*Le Pharmacien Biologiste, Tome XIX N°158, p. 259-269 (1985).*
- 160 - C. DORIAN et J. CAMBON**  
*Etude des variations circadiennes de la néphrotoxicité de l'amikacine chez le rat.*  
*Path. Biol.* 34 N°5 bis 587-590 (1986).
- 161 - C. PARIAT, Ph. COURTOIS, J. CAMBAR, S. BOUQUET et A. PIRIOU**  
*Mise en évidence des variations saisonnières des rythmes circadiens de la chrononéphrotoxicité de la gentamicine chez le rat.*  
*Path. Biol.* 36 n°5, 517-510 (1988).
- 162 - CAMBAR, DORIAN C. et J.Ch. CAL**  
*Chronobiologie et physiopathologie rénale.*  
*Path. Biol.* 35 n°6, 977-984 (1987).
- 163 - J. CAMBAR , C. DORIAN, C. PARIAT et P. COURTOIS**  
*Approche chronobiologique de la néphrotoxicité de quatre antibiotiques aminosidiques chez les rongeurs.*  
*Néphrologie* 6 : 251-254 (1985).
- 164 - KAVLOCK R.J. and GRAY J.A.**  
*Evaluation of renal function in neonatal rats.*  
*Biol. Neonate* 41 : 279-288 (1982).
- 165 - KAVLOCK R.J., ROGERS E. and REHNBERG B.F.**  
*Renal Functional Teratogenesis Resulting from Adriamycin exposure.*  
*Teratology* 33 (2) 213-220 (1986).

- 166 - KAVLOCK R.J., ROGERS E.H. and REHNBERG B.F.**  
Creatinine clearance and fractional excretion of electrolytes in the preweaning rat.  
Submitted 1984.
- 167 - ZICHA J., KUNES J. and JELINEK J.**  
Experimental hypertension in young and adult animals.  
*Hypertension* 8 : 1096-1104 (1986).
- 168 - PROVOOST A., KEIJZER M., WOLFF E. and MOLENAAR**  
Development of renal function in the rat.  
The measurement of GFR and ERPF and correlation to body and kidney weight.  
*Renal Physiol.* 6 : 1-9 (1983).
- 169 - MORGAN T., TADOKORO M., MARTIN D. and BERLINER R.W.**  
Effect of furosemide on Na<sup>+</sup> and K<sup>+</sup> transport studied by micro-perfusion of the rat nephron.  
*Am. J. Physiol.* 218 (1) : 292-297 (1970).
- 170 - WALD H., SCHERZER P., POPOUTZER M.**  
Enhanced glomerular filtration and activation of distal nephron Na-K ATPase : unexpected consequences of chronic furosemide administration in rat.  
*Kidney Int.* 1987 , 31, 442 (Abstract).
- 171 - KAISLING B., BACHMANN S., KRIZ W.**  
Structural adaptation of distal convoluted tubule to prolonged furosemide treatment.  
*Am. J. Physiol.* (1985) 248 : F374-381.
- 172 - KAISLING B.**  
Structural aspects of adaptative changes in renal electrolyte excretion.  
*Am. J. Physiol.* (1982) 243 : F211-F226.
- 173 - VELAZQUEZ H., WRIGHT F.S.**  
Effects of diuretic drugs on Na, Cl and K transport by renal distal tubule.  
*Am. J. Physiol* (1986) 250 : F1013-F1023.
- 174 - EL MERNISSI G., DOUCET A.**  
Stimulation of Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPase in the rat collecting tubule by two diuretics : Furosemide and amiloride.  
*Am. J. Physiol.* (1984) 247 : F485-F490.
- 175 - KASSLING B. and STATON B.**  
Adaptation of distal tubule and cortical collecting duct to increased sodium delivery : I Ultrastructure.  
*Am. J. Physiol.* 255 : F1256-F1268 (1988).
- 176 - STATON B. and KAISLING B.**  
Adaptation of distal tubule and cortical collecting duct to increased sodium delivery : II Na<sup>+</sup> K<sup>+</sup> transport.  
*Am. J. Physiol.* 255 : F1269-F1275 (1988).

- 177 - CHRISTENSEN S., STEINESS E. and CHRISTENSEN H.**  
Tubular sites of furosemide natriuresis in volume replaced and volume-depleted conscious rats.  
*J. Pharmacol. Exp. Th.* Vol. 239 N°1 : 211-217 (1986).
- 178 - DANIELSEN H., PEDERSEN B.E., MADSEN M. and JENSEN T.**  
Abnormal renal sodium excretion in nephrotic syndrome after furosemide : relation to glomerular filtration rate .  
*Acta Med Scand.* 217 : 513-518 (1985).
- 179 - BOUBY N., BANKIR L., TRINH-TRANG-TAN M.M., MINUTH W.W. and KRIZ W.**  
Selective ADH induced hypertrophy of the medullary TAL in Brattleboro rats.  
*Kidney Int., Vol. 28, p.* 456-466 (1985).
- 180 - WILCOX C.S., MITCH W.E., KELLY R.A. and SKORECKI K.L.**  
Factors affecting potassium balance during furosemide administration.  
*Clin. Sci. Lond.* 67, 195-203 (1984).
- 181 - TANNEN R.L. and GERRET L.**  
Response of the renal K<sup>+</sup> conserving mechanism to kaliuretic stimuli : evidence for a direct kaliuretic effect by furosemide.  
*J. Lab. Clin. Med.* 107 : 176-184 (1986).
- 182 - HROPOT M., FOWLER N., KARLMARK B. and GIEBISCH G.**  
Tubular actions of diuretics : distal effects on electrolyte transport and acidification. *Kidney Int.* 28 : 477-489 (1985).
- 183 - ELLISON D.H., VALASQUEZ H.E. and WRIGHT F.S.**  
Stimulation of distal potassium secretion by low lumen chloride in the presence of barium.  
*Am. J. Physiol.* 248 : F638-F649 (1985).
- 184 - VELAZQUEZ H. and WRIGHT F.S.**  
Renal distal tubule pathways for Na<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup> and K<sup>+</sup> transport assessed by diuretics (Abs) *Kidney Int.* 23 : 269 (1983).
- 185 - DE ROUFFIGNAC C., CORMAN B. and ROINEL N.**  
Stimulation by antidiuretic hormone of electrolyte tubular reabsorption in rat kidney.  
*Am. J. Physiol.* 244 : F156-F164 (1983).
- 186 - DIEZ J., MIQUEO C., GONIM, VIRTO R., MOUZON A., ERRASTI P. and PURROY A.**  
The effect of antidiuretic hormone (ADH) on Na and K movements across human red cell (HRC) membranes. *Kidney Int. (Abs)* 28: 590 (1985).
- 187 - GREGER R. and VELAZQUEZ H.**  
The cortical TAL and early distal convoluted tubule in the urinary concentrating mechanism.  
*Kidney Int.* 31 : 590 - 596 (1987).

- 188 - HERBERT S.C., REEVES W.B., MOLONY D.A. and ANDREOLI T.E.**  
*The medullary thick limb : function and modulation of the single effect multiplier.*  
*Kidney Int.* 31 : 580-588 (1987).
- 189 - LUKE R.G., BOOKER B.B. and GALLA J.H.**  
*Effect of potassium depletion on chloride transport in the loop of Henle in the rat.*  
*Am. J. Physiol.* 248 : F682-F687 (1985).
- 190 - GRAY J.A. and KAVLOCK R.J.**  
*Pharmacologic probing of renal development in the neonatal rat.*  
*Biol. Neonate* 50 : 182-191 (1986).
- 191 - MOORE L.C. and MASON J.**  
*Tubuloglomerular feedback control of distal fluid delivery effect of extracellular volume.*  
*Am. J. Physiol.* 250 : F1024-F1032 (1986).
- 192 - KAVLOCK R.J.**  
*The ontogeny of hydropenia response in neonatal rats and its application in developmental toxicology studies.*  
*In Banbury Report N°11. Environmental Factors in Human Maturation. Cold Spring Harbor Laboratory, pp. 173-185 (1982).*
- 193 - DUPONT Th.**  
*Maturation de la fonction rénale de dilution chez le nouveau-né de rat exposé ou non au Furosemide in-utero : Etude de la réponse à une surcharge hydrique.*  
*Thèse Med. Nancy 1988. Dactyl. 15 pages*
- 194 - KAVLOCK R.J. and DASTON G.P.**  
*Detection of renal dysfunction in neonatal rats : Methodologies and applications.*  
*In Abnormal functional Development of the Heart, Lungs and Kidneys. Kavlock R.J. and Grabowski C.T. eds. Alan R. Liss. Inc. pp. 337-354 (1983).*
- 195 - LAM M. and KAUFMAN C.E.**  
*Fractional Excretion of Sodium as a guide to volume depletion during recovery from acute renal failure.*  
*Am. J. Kidney Diseases : Vol. VI , n°1 : 18-21 (1985).*
- 196 - FILLASTRE J.P.**  
*Introduction sur la néphrotoxicité des aminoglycosides.*  
*Nouv. Press. Med. suppl. 7 (42) : 3817-3823 (1978).*
- 197 - PORTER G.A.**  
*Antibiotic nephrotoxicity (an overview). In Porter G.A. (ed.) Nephrotoxic mechanism of drugs and environmental toxins. Plenum Medical New-York, pp. 101-106 (1982).*



- 143 - ODLIND B.**  
*Determinants of access of diuretics to their site of action.*  
*Fed. Proc.* 42 n°6 1703-1706 (1983).
- 144 - GREGER R.**  
*Chloride reabsorption in the rabbit cortical thick ascending limb of the loop of Henle.*  
*Pflügers Arch.* 390 : 38-43 (1981).
- 145 - GREVEN J., KOELLING and SACHER R.**  
*Studies on the molecular basis of the action of the loop diuretics.*  
*Arch. Pharmacol.* 319 suppl. R51 (1982).
- 146 - HAMMARLUND M.M. and PAALZOW L.K.**  
*Dose-dependent pharmacokinetics of furosemide in the rat.*  
*Biopharmaceutics and drug disposition : Vol. 3* : 345-359 (1982).
- 147 - MALLIE J.P., M. GERARD A. and GERARD H.**  
*Does the in-utero exposure to furosemide delay the renal maturation*  
*Pediatr. Pharmacology*, 5 : 131-138 (1985).
- 148 - WHITINGTON F.F. and BLACK D.D.**  
*Choletiasis in premature infants treated with parenteral nutrition and furosemide.*  
*J. Pediatr.*, 97 : 647-649 (1980).
- 149 - VERT P., LEGAGNEUR M., BROQUAIRE M. et MORSELLI P.L.**  
*Pharmacocinétique du furosémide chez le nouveau-né.*  
*In INSERM. Pharmacologie du développement. Vol. 89* pp 491-498 (1979).
- 150 - VERT P., BROQUAIRE M., LEGAGNEUR M. and MORSELLI P.L.**  
*Pharmacokinetics of furosemide in neonates.*  
*Europ. J. Clin. Pharmacol.*, 22 : 39-45 (1982).
- 151 - INGS R.M.J. and STEVENS L.A.**  
*Pharmacokinetics and metabolism of diuretics.*  
*Progress in Drug metabolism, Vol. 7* (1983).
- 152 - STUCK S., BROQUAIRE M., MORSELLI P.L. and VERT P.**  
*Plasma and urinary kinetics of furosemide in newborn infants.*  
*J. Pediatr.* 103 : 481-485 (1983).
- 153 - KAVLOCK R.J. and DASTON G.P.**  
*Detection of renal dysfunction in neonatal rats : methodology and applications.*  
*In : Abnormal functional development of the heart, lungs and kidneys.*  
*Ed. by Kavlock R.J., Grabowski C.T., New-York Alan R. Liss Inc. , pp. 337-354 (1983).*
- 154 - MALLIE J.P., GERARD A. and GERARD H.**  
*In-utero - induced gentamicin nephrotoxicity.*  
*IX International Congress of Nephrology Los-Angeles June 11-16 (1984).*

- 209 - **MALLIE J.P., GERARD A. and GERARD H.**  
*In-utero gentamicin-induced nephrotoxicity in rats.*  
*Pediatric Pharmacol.* 5 : 229-239 (1986).
- 210 - **CLARIS-APPIANI A., BIANCHI M.L., BINI P., ROMEO L. and RUSCONI R.**  
*Growth in young children with chronic renal failure.*  
*Pediatr. Nephrol.* 3 : 301-304. Réf. 1-3 (1989).
- 211 - **FILLASTRE J.P., HEMET J., MORIN J.P., TULKENS P., VIOTTE G. et Coll.**  
*Etude comparative de la néphrotoxicité de quatre aminoglycosides. Modifications biochimiques et ultra-structurales lysosomiales. In Grunfeld J.P. ed. Actualités Néphrologiques de l'hôpital Necker. Paris Flammarion pp. 91-109 (1982).*
- 212 - **FILLASTRE J.P., MORIN J.P., BENDIRDJAN J.P., VIOTTE G., GODIN M.**  
*La néphrotoxicité des aminoglycosides. III : modification des éléments subcellulaires.*  
*Néphrologie* : 1 : 145-152 (1980).
- 213 - **WILLIAMS P.D., HOLOHAN P.D. and ROSS C.R.**  
*Gentamicin Nephrotoxicity I. Acute biochemical correlates in rats.*  
*Toxicol. Appl. Pharmacol.* 61 : 234-242 (1981).
- 214 - **WILLIAMS P.D., TRIMBLE M.E., CRESPO L. and HOLOHAN.**  
*Inhibition of renal Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPase by Gentamicin.*  
*J. Pharmacol. Exp. Ther.* 231 : 248-253 (1984).
- 215 - **GORDON J.A., DILLINGHAM M.A., GUGGENHEIM S.J., GROSSFELD P.D. and ANDERSON R.J.**  
*The renal concentrating defect after gentamicin administration in the rat.*  
*J. Lab. Clin. Med.* 101 : 903-910 (1983).
- 216 - **JOHNSON V. and SPITZER A.**  
*Renal absorption of phosphate during development : whole-kidney events.*  
*Am. J. Physiol.* 251 : F251-F256 (1986).
- 217 - **KASKEL F.J., KUMAR A.M., FELD L.G. and SPITZER**  
*Renal reabsorption of phosphate during development : tubular events.*  
*Pediatr. Nephrol.* 2 : 129-134 (1988).
- 218 - **COWAN R.H., JUKKOLA A.F. and ARRANT B.S.**  
*Physiopathologic evidence of gentamicin nephrotoxicity in neonatal puppies.*  
*Pediatr. Res.* 14 : 1204-1211 (1980).
- 219 - **PROVOOST A.P., ADEJUYIGBE O. and WOLFF E.D.**  
*Nephrotoxicity of Aminoglycosides in young and adult rats.*  
*Pediatr. Res.* 19 : 1191-1196 (1985).

- 220 - **LELIEVRE-PEGORIER M., MERLET-BENICHOU, ROINEL N. and DE ROUFFIGNAC C.**  
Development patterns of water and electrolytes transport in rat superficial nephron.  
*Am. J. Physiol.* 245 : F15-F21 (1983).
- 221 - **BLANTZ R.C., PALAYO J.C., MYERS R.R. and EVAN A.**  
Functional basis for the glomerular alteration in uranyl nitrate acute renal failure.  
*Kidney Int.* 28 : 733-743 (1985).
- 222 - **PETERSON O.W.**  
An analysis of glomerular-tubular balance in rat proximal tubule.  
*Pflugers Arch.* 407 : 221-227 (1986).
- 223 - **BAYLISS C. and BLANTZ R.** <sup>activity</sup>  
Tubulo-glomerular feed back in 12 day pregnant rats (Abstracts)  
*Kidney Int.* 27 : 292 (1985).
- 224 - **KILL F.**  
Mechanism of glomerular balance : the whole kidney approach.  
*Renal Physiol.* 5 : 209-221 (1982).
- 225 - **BOUDZOUMOU P. and MALLIE J.P.**  
In utero aminoglycoside-induced nephrotoxicity : evolution in early postnatal periods.  
*Pediatr. Nephrol* (submitted 1988).
- 226 - **BOUDZOUMOU P. and MALLIE J.P.**  
Functional renal maturation in rat neonates after prenatal exposure to Furosemide. (Submitted 1989).
- 227 - **BAUT F., PLENAT F. and MALLIE J.P.**  
Prenatal exposure to aminoglycosides and kidney's Na-K ATPase of Newborn rats.  
Drug induced Nephrotoxicity.  
Fundamental and Clinical Correlates  
International Symposium.  
Antwerp. Belgium September 1985.
- 228 - **WILLIAMS P.D., HOLOHAN P.D. and ROSS C.R.**  
Gentamicin nephrotoxicity II Plasma membrane changes.  
*Toxicol. Appl. Pharmacol.* 61 : 243-251 (1981).
- 229 - **ARAMAKI Y., TAKAHASHI M., INABA A., ISHII Y. and TSUCHIYA S.**  
Uptake of aminoglycoside antibiotics into brush-border membrane vesicles and inhibition of (Na<sup>+</sup> + K<sup>+</sup>) ATPase activity of basolateral membrane.  
*Biochim. Biophys. Acta* 862 : 111-118 (1986).
- 230 - **HOLLIDAY M.A.**  
Metabolism and Growth in children with kidney insufficiency.  
*Kidney Int.* Vol. 14 n°4 : 299 - 392 (1978).



DEMANDE D'IMPRIMATUR

DOCTORAT DE L'UNIVERSITE DE  
NANCY I, mention Pharmacologie

présenté par : BOUDZOUYOU-NGANGA Pierre

SUJET

MEDICAMENTS A EFFET RENAL ADMINISTRES CHEZ  
LA MERE DURANT LA GESTATION : NEPHROTOXICITE  
EVENTUELLE CHEZ LE NOUVEAU-NE.

(Modulations pharmacologiques du développe-  
ment fonctionnel rénal foetal et néonatal  
chez le rat après exposition in-utero à la  
Gentamicine ou au Furosémide ).

Vu,

Nancy, le 31 octobre 1989

Le Président de thèse



UNIVERSITÉ DE NANCY I  
FACULTÉ DE MÉDECINE  
LABORATOIRE DE NÉPHROLOGIE  
Professeur J.-P. MALLIÉ

VU ET APPROUVE

Nancy, le 8 novembre 1989

Le Doyen de la Faculté des  
Sciences Pharmaceutiques et  
Biologiques de l'Université  
de Nancy I,

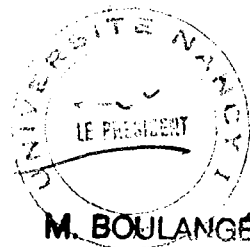
C. VIGNERON



VU,

Nancy, le 15 NOV. 1989 n° 2136

Le Président de  
l'Université de Nancy I



THESE REALISEE

par

HELIO-SERVICE

8 rue Guerrier de Dumast

54000 NANCY

sujet : MEDICAMENTS A EFFET RENAL, ADMINISTRES CHEZ LA MERE PENDANT LA GESTATION :  
NEPHROTOXICITE EVENTUELLE CHEZ LE NOUVEAU-NE.  
Modulations pharmacologiques du développement fonctionnel rénal foetal et  
néonatal chez le rat après exposition in-utero à la Gentamicine ou au Furo-  
sémide.

**Résumé:** Les aminoglycosides (Gentamicine) ont des effets néphrotoxiques bien connus; et le Furosémide (un diurétique) a été démontré induire un retard de la différenciation glomérulaire chez le nouveau-né, après administration chez la mère gestante. Nous avons recherché les conséquences fonctionnelles sur le rein en développement chez le nouveau-né ayant reçu de la gentamicine ou du furosémide in-utero; puis nous avons étudié les possibilités d'une récupération de la fonction rénale à plus ou moins long terme. Des rates gestantes de race Wistar ont reçu le médicament à la dose de 75mg/Kg/j. L'étude réalisée chez le nouveau-né exposé in-utero à la gentamicine a montré une altération des paramètres fonctionnels: diurèse, clairance et rapport U/P de la créatinine, et des fractions d'excrétion de l'eau et des électrolytes. La néphrotoxicité fonctionnelle ainsi induite par la gentamicine est réversible: la fonction de filtration glomérulaire est compensée plus tôt que la déficience tubulaire de concentration urinaire. Les modifications observées après administration in-utero de furosémide paraissent pouvoir être expliquées par un retard dans la maturation de l'anse de Henlé, entraînant une adaptation morphologique et fonctionnelle des autres segments tubulaires déjà développés. Ainsi se serait peut-être constitué un modèle animal très particulier de l'étude du développement rénal. En conclusion, nos résultats apportent l'évidence d'une perturbation fonctionnelle pendant le développement chez le rat ayant reçu in-utero un médicament à effet rénal. Cette perturbation observée encore longtemps après l'exposition prénatale à la gentamicine ou au furosémide a consisté en un retard général de la croissance et un défaut de concentration urinaire.

**Mots clés :** gentamicine, rates gestantes, néphrotoxicité induite in-utero, furosémide, maturation rénale fonctionnelle, pharmacologie du développement rein du nouveau-né.

**Title:** ADMINISTRATION OF DRUGS WITH RENAL EFFECT TO PREGNANT MOTHER: POSSIBLE NEPHROTOXICITY IN THE NEWBORN.  
Pharmacologic modulations of fetal and neonatal functional development following in-utero exposure to Gentamicin or Furosemide.

**Summary:** Aminoglycosides (gentamicin) antibiotics well-known for their nephrotoxicity; and furosemide, a widely used diuretic, has been reported to induce a delay in the differentiation of renal glomeruli. We were interested to investigate if the developing kidney could be functionally altered in-utero after administration of either these drugs to the pregnant mother. Drugs were given during two key-periods of pregnancy: days 7-11 (period of organogenesis) and days 14-18 (beginning of glomeruli differentiation) at the dose of 75mg/Kg/day by i.p. route. The rat strain was Wistar. Shortly after birth, variations were observed on diuresis, creatinine clearance, U/P creatinine ratio, fractional excretion of water, fractional excretion of electrolytes. The gentamicin-induced nephrotoxicity was reversible, the glomerular function being corrected earlier than the tubular urinary concentrating defect. Furosemide seemed to lead to a delay of development of loop of Henle, suggesting a functional adaptation of other segments of tubule, already mature and functioning. Furthermore, our results provide evidences of functional developmental disturbances (altered growth and urinary concentrating defect) in young rats, lately after prenatal exposure to furosemide or gentamicin.  
In conclusion, drug administration to mother during pregnancy can lead to a detrimental effect upon the kidney of the newborn and of the young animal.

**Key-words :** gentamicin, pregnant rats, in-utero-induced nephrotoxicity, developmental pharmacology, furosemide, renal functional maturation, neonate's kidney

**MEMBRES DU JURY :**

Président	:	Monsieur	J.P. MALLIE	Professeur
Rapporteurs	:	Messieurs	M. JACQUE A. MINN	Professeur Chargé de Recherche CNRS
Examineurs	:	Messieurs	B. BANNWARTH M. DAUÇA H. GERARD	Maitre de Conférence des Universités Professeur Professeur