
Dépôt Institutionnel de l'Université libre de Bruxelles /
Université libre de Bruxelles Institutional Repository
Thèse de doctorat/ PhD Thesis

Citation APA:

Malmendier, C. (1969). *Le métabolisme lipidique dans le syndrome néphrotique* (Unpublished doctoral dissertation). Université libre de Bruxelles, Faculté de Médecine – Médecine, Bruxelles.

Disponible à / Available at permalink : <https://dipot.ulb.ac.be/dspace/bitstream/2013/215110/1/7014fac9-21b7-4d29-9206-ac39471effff.txt>

(English version below)

Cette thèse de doctorat a été numérisée par l'Université libre de Bruxelles. L'auteur qui s'opposerait à sa mise en ligne dans DI-fusion est invité à prendre contact avec l'Université (di-fusion@ulb.ac.be).

Dans le cas où une version électronique native de la thèse existe, l'Université ne peut garantir que la présente version numérisée soit identique à la version électronique native, ni qu'elle soit la version officielle définitive de la thèse.

DI-fusion, le Dépôt Institutionnel de l'Université libre de Bruxelles, recueille la production scientifique de l'Université, mise à disposition en libre accès autant que possible. Les œuvres accessibles dans DI-fusion sont protégées par la législation belge relative aux droits d'auteur et aux droits voisins. Toute personne peut, sans avoir à demander l'autorisation de l'auteur ou de l'ayant-droit, à des fins d'usage privé ou à des fins d'illustration de l'enseignement ou de recherche scientifique, dans la mesure justifiée par le but non lucratif poursuivi, lire, télécharger ou reproduire sur papier ou sur tout autre support, les articles ou des fragments d'autres œuvres, disponibles dans DI-fusion, pour autant que :

- Le nom des auteurs, le titre et la référence bibliographique complète soient cités;
- L'identifiant unique attribué aux métadonnées dans DI-fusion (permalink) soit indiqué;
- Le contenu ne soit pas modifié.

L'œuvre ne peut être stockée dans une autre base de données dans le but d'y donner accès ; l'identifiant unique (permalink) indiqué ci-dessus doit toujours être utilisé pour donner accès à l'œuvre. Toute autre utilisation non mentionnée ci-dessus nécessite l'autorisation de l'auteur de l'œuvre ou de l'ayant droit.

----- English Version -----

This Ph.D. thesis has been digitized by Université libre de Bruxelles. The author who would disagree on its online availability in DI-fusion is invited to contact the University (di-fusion@ulb.ac.be).

If a native electronic version of the thesis exists, the University can guarantee neither that the present digitized version is identical to the native electronic version, nor that it is the definitive official version of the thesis.

DI-fusion is the Institutional Repository of Université libre de Bruxelles; it collects the research output of the University, available on open access as much as possible. The works included in DI-fusion are protected by the Belgian legislation relating to authors' rights and neighbouring rights. Any user may, without prior permission from the authors or copyright owners, for private usage or for educational or scientific research purposes, to the extent justified by the non-profit activity, read, download or reproduce on paper or on any other media, the articles or fragments of other works, available in DI-fusion, provided:

- The authors, title and full bibliographic details are credited in any copy;
- The unique identifier (permalink) for the original metadata page in DI-fusion is indicated;
- The content is not changed in any way.

It is not permitted to store the work in another database in order to provide access to it; the unique identifier (permalink) indicated above must always be used to provide access to the work. Any other use not mentioned above requires the authors' or copyright owners' permission.

UNIVERSITÉ LIBRE DE BRUXELLES

LABORATOIRE DE MÉDECINE EXPÉRIMENTALE
(Professeur P. P. LAMBERT)

LE
MÉTABOLISME LIPIDIQUE
DANS LE
SYNDROME NÉPHROTIQUE

PAR

C. L. MALMENDIER



THÈSE PRÉSENTÉE EN VUE DE L'OBTENTION
DU GRADE D'AGRÉGÉ DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR

ÉDITIONS ARSCIA S.A.

BRUXELLES

1969

THESES ANNEXES

1. L'augmentation importante du volume plasmatique produite par l'administration IV de dextrane augmente, chez les patients protéinuriques, leur perméabilité glomérulaire à l'albumine. La mesure de la perméabilité glomérulaire grâce au test de surcharge à l'albumine n'a donc de valeur que lorsqu'on n'introduit pas de grand changement dans le volume plasmatique.
2. L'analyse du « stop-flow » a été appliquée à l'étude de l'excrétion de l'hémoglobine. L'étude du rapport UP / UP créatinine suggère que cette protéine pénètre dans la lumière tubulaire par diffusion pendant l'occlusion urétérale et progresse lentement, subissant les effets d'une double réabsorption.
3. La concentration chimique des phospholipides du muscle squelettique (long palmaire) chez l'homme est assez constante ; la concentration des glycérides est par contre extrêmement dépendante de l'état nutritionnel du patient.

THESES ANNEXES

1. L'augmentation importante du volume plasmatique produite par l'administration IV de dextrane augmente, chez les patients protéinuriques, leur perméabilité glomérulaire à l'albumine. La mesure de la perméabilité glomérulaire grâce au test de surcharge à l'albumine n'a donc de valeur que lorsqu'on n'introduit pas de grand changement dans le volume plasmatique.
2. L'analyse du « stop-flow » a été appliquée à l'étude de l'excrétion de l'hémoglobine. L'étude du rapport UP / UP créatinine suggère que cette protéine pénètre dans la lumière tubulaire par diffusion pendant l'occlusion urétérale et progresse lentement, subissant les effets d'une double réabsorption.
3. La concentration chimique des phospholipides du muscle squelettique (long palmaire) chez l'homme est assez constante ; la concentration des glycérides est par contre extrêmement dépendante de l'état nutritionnel du patient.

LE MÉTABOLISME LIPIDIQUE
DANS LE
SYNDROME NÉPHROTIQUE

UNIVERSITÉ LIBRE DE BRUXELLES

LABORATOIRE DE MÉDECINE EXPÉRIMENTALE

(Professeur P. P. LAMBERT)

LE
MÉTABOLISME LIPIDIQUE
DANS LE
SYNDROME NÉPHROTIQUE

PAR

C. L. MALMENDIER

THÈSE PRÉSENTÉE EN VUE DE L'OBTENTION
DU GRADE D'AGRÉGÉ DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR

ÉDITIONS ARSCIA S.A.
60, RUE DE L'ÉTUVE — BRUXELLES
1969

*Tous droits de traduction,
d'adaptation et de reproduction
par tous procédés, y compris la
photographie et les microfilms,
réservés pour tous pays.*

© 1969 by ÉDITIONS ARSCIA S.A.

D 1969/0227/1

(Printed in Belgium)

*N*OUS remercions le Professeur P.-P. LAMBERT pour l'accueil qu'il nous a réservé dans son laboratoire où ce travail fut effectué et pour les conseils qu'il nous a donnés.

Nous remercions les Docteurs FRANCKSON et VERNIORY pour leurs conseils lors de la rédaction.

Nous remercions le Professeur MARTIN pour ses indications dans l'établissement des calculs statistiques.

Nous remercions le Docteur Claude DELCROIX pour sa contribution importante dans l'analyse mathématique des résultats.

Nous remercions Mademoiselle Claudine van den BERGEN pour son aide technique et pour sa collaboration dans la discussion des résultats expérimentaux.

Cette étude a été réalisée grâce à une bourse des « National Institutes of Health » (USA) et à un subside de l'Euratom (Contrat ULB - Pise BIAC 026-63-4).

Nous tenons à exprimer au Docteur C. PIRSON et aux Editions ARSCIA nos plus sincères remerciements pour la collaboration qu'ils nous ont apportée pour la publication de ce mémoire et nos félicitations pour la qualité du travail effectué.

TABLE DES MATIÈRES

Pages

INTRODUCTION

Historique	15
Classification des lipides	16
Classification et mode d'identification des lipoprotéines du plasma	17
1. Méthodes de précipitation	17
2. Electrophorèse	18
3. Ultracentrifugation	19
4. Chromatographie	21
5. Immunochimie	21

Pathogénie de l'hyperlipémie du syndrome néphrotique 22

Relation entre l'hyperlipémie et l'hypoalbuminémie	22
Rôle du rein	27
Rôle du foie	30
Rôle de l'intestin	32
Rôle des glandes endocrines et de leurs hormones	32
a) L'hypophyse	32
b) La surrénale	33
c) La thyroïde	33
Rôle des apports alimentaires	34
Rôle des facteurs intraplasmiques	35
Rôle des tissus périphériques	38

Conclusion 39

BUT DU TRAVAIL 41

MATERIEL ET METHODES

1. Production du syndrome néphrotique	47
2. Prélèvements	47
3. Milieux d'incubation	47

4. Procédés d'extraction et déterminations chimiques	48
5. Chromatographie	
a) Sur couche mince	49
b) Sur colonne	49
6. Observations manométriques	50
7. Détermination de la radioactivité	52
8. Préparation des chylomicrons	52
9. Rapport de tissu humide à tissu sec	53
10. Détermination du quotient respiratoire	53
11. Collection du CO_2 et mesure du C^{14}O_2	53
12. Détermination de l'espace et du pool glucose	54
13. Statistique	55
14. Méthode mathématique	55
Calcul du débit	55
Calcul de la masse en mouvement et temps de transit moyen	57
Propriété d'additivité des temps de transit	58
Calcul par ajustement multiexponentiel	59

PREMIERE PARTIE

EXPERIENCES IN VITRO

CHAPITRE 1. — Critères de la néphrose — valeurs sanguines

1. Protéines	63
2. Lipides	63
3. Acides gras non estérifiés	71
4. Glycémie	71

CHAPITRE 2. — Concentrations chimiques en lipides, protéines et glycogène des diaphragmes de rat normal et néphrotique

Rapport poids sec : poids humide	75
Glycogène	75
Lipides	
a) Phospholipides	
1. Diaphragmes non incubés	78
2. Diaphragmes incubés	78
b) Glycérides	79
Séparation des triglycérides, diglycérides et monoglycérides	83
a) Acides gras non estérifiés	
1. Diaphragmes non incubés	83
2. Diaphragmes incubés	86
Protéines	86

CHAPITRE 3. — Incubation de diaphragmes de rats normaux et néphrotiques en présence de divers substrats

1. En présence de palmitate	91
2. En présence de chylomicrons	109
A. Influence du temps d'incubation	114
B. Influence de la composition du milieu	116
C. Influence de l'état de nutrition du rat	119
D. Influence du glucose	124
3. En présence de glycérol	127
4. En présence de glucose	135
5. En présence de leucine	136

CHAPITRE 4. — Mesure de l'oxydation « in vitro »

1. Quantité de CO_2 produite	143
Mode de détermination du QCO_2	143
Calcul de la constante de la fiole : k	143
Détermination du QCO_2	144
2. Oxydation du palmitate-1- C^{14}	150
3. Oxydation du glycérol-1- C^{14}	152
4. Oxydation du glucose-1- C^{14}	154
5. Rapport du CO_2 marqué au CO_2 total expiré	155

DEUXIEME PARTIE

EXPERIENCES IN VIVO

CHAPITRE 1. — Importance de l'alimentation — différence entre rats normaux, isonourris et néphrotiques	163
--	-----

CHAPITRE 2. — Quotient respiratoire et métabolisme basal des rats normaux et néphrotiques	165
---	-----

CHAPITRE 3. — Etude du métabolisme oxydatif du rat néphrotique.

Introduction

1. Détermination de l'erreur sur les données expérimentales	167
2. Détermination du CO_2 éliminé par minute (débit mesuré)	157
3. Excrétion de C^{14}O_2 après injection de palmitate-1- C^{14}	
a) Vitesse d'excrétion de C^{14}O_2 par minute	169
b) Excrétion cumulative de C^{14}O_2	171
c) Activités spécifiques ($\text{C}^{14}\text{O}_2/\text{CO}_2$)	172
d) Analyse mathématique des résultats	175

4. Excrétion de $C^{14}O_2$ après injection de glucose-1- C^{14} et de glucose-6- C^{14}	
a) Vitesses d'excrétion par minute	177
b) Pourcentages cumulatifs	178
1. Après injection de glucose-6- C^{14}	178
2. Après injection de glucose-1- C^{14}	182
c) Activités spécifiques	
1. Après injection de glucose-6- C^{14}	185
2. Après injection de glucose-1- C^{14}	188
d) Analyse mathématique des résultats	192
5. Excrétion de $C^{14}O_2$ après injection de bicarbonate- C^{14}	196
CHAPITRE 4. — Etude de la décroissance sanguine de l'activité du glucose-1- C^{14} au cours du temps. — Détermination d'un espace glucose et de la vitesse de renouvellement	203
DISCUSSION	
A. Métabolisme du diaphragme	
1. Métabolisme du palmitate	
a) Incorporation	209
b) Oxydation	211
2. Métabolisme des chylomicros	
a) Incorporation	212
b) Oxydation	214
3. Métabolisme du glycérol	
a) Incorporation	214
b) Oxydation	217
4. Métabolisme du glucose	
a) Incorporation	217
b) Oxydation	218
5. Incorporation de la leucine	218
B. Métabolisme oxydatif du rat néphrotique in toto	218
CONCLUSION	222
RÉSUMÉ	227
SAMENVATTING	233
SUMMARY	237
BIBLIOGRAPHIE	241

INTRODUCTION

HISTORIQUE

LA présence d'un excès de lipides dans le sérum de patients souffrant de maladies rénales a été signalée pour la première fois par Bright en 1827. En 1839, Christison précisait cette notion : « dans le stade précoce de la néphrite chronique, le sérum est habituellement un peu lactescent et abandonne à l'éther, lors de son agitation avec lui, un matériel concentré huileux qui ne semble guère différent de la graisse du tissu cellulaire sous-cutané ».

Les premières études semi-quantitatives soulignaient la présence en excès de cholestérol (CHAUFFARD, LAROCHE et GRIGAUT, 1911 ; WIDAL, WEILL et LAUDAT, 1912 ; DENIS, 1917 ; GAINSBOROUGH, 1929 ; EPSTEIN et ROTHSCHILD, 1917 ; PORT, 1919 ; HAHN et WOLFF, 1921 ; WESTPHAL, 1924 ; SCHWARZ et KOHN, 1922). L'augmentation du taux des acides gras totaux (BLOOR, 1917 ; DANIELS, 1925 ; KNAUER, 1927 ; LING et LIU, 1928 ; HILLER, LINDER, LUNDGAARD et VAN SLYKE, 1924 ; Page, KIRK et VAN SLYKE, 1936 ; HEYMANN et LUND, 1951 ; PETERS et MAN, 1943 ; THOMAS, ROSENBLUM, LANDER et FISHER, 1951) et des phospholipides (DANIELS, 1925 ; HOESCH, 1931), est une notion d'acquisition plus récente.

L'hyperlipémie n'existerait que dans les cas de néphrite accompagnée d'œdème (MURPHY, 1927 ; MAXWELL, 1927, 1934 ; LICHTENSTEIN et EPSTEIN, 1931 ; CALVIN et GOLDBERG, 1931). Elle se rencontre également dans les néphrites aiguës mais à un moindre degré que dans le syndrome néphrotique (ADDIS, 1948 ; HEYMANN et WILSON, 1959) : quand la néphrite est au stade terminal, la lipémie redevient normale (HENES, 1920 ; ASHE et BRUGER, 1933).

Ce n'est que plus récemment qu'une relation a été établie entre la protéinurie et l'hyperlipémie. Cette relation n'est toutefois pas absolue. Dans l'amyloïdose, le lupus érythémateux diffus ou la glomérulosclérose diabétique par exemple (SOFFER, SOUTHERN, WEINER et WOLF, 1961 ; MUEHRCKE, KARK, PIRANI et POLLAK, 1957 ; MICHON, LARCAN, HURIET et GAUCHER, 1963), la protéinurie peut être fort importante sans entraîner un degré aussi marqué d'hyperlipémie que celui observé dans les syn-

dromes néphrotiques idiopathiques ou connaissant une autre origine (WALD, 1955 ; KING et BRUGER, 1935, CALVIN et GOLDBERG, 1931 ; EICHELBERGER et MCKLUSKY, 1927 ; BLAINY, HARDWICKE et WHITFIELD, 1954).

CLASSIFICATION DES LIPIDES

Les lipides totaux se trouvent dans le sérum humain normal à jeun à la concentration de 400 à 800 mg %. Ils sont dosés par gravimétrie ou par réduction d'un oxydant tel que le dichromate de potassium.

Ils comprennent :

1) Les phospholipides (valeur normale = 150 à 300 mg %) dont 70 % sont représentés par la lécithine. Ils sont dosés par leur contenu en phosphore qui représente en moyenne 4 % de leur poids (STEWART et HENDRY, 1935).

2) Le cholestérol total (valeur normale = 150 à 250 mg %) dont 70 à 75 % sont estérifiés. Il est généralement dosé après précipitation à la digitonine par une réaction colorimétrique (SPERRY et WEBB, 1950).

3) Les glycérides ou esters du glycérol (valeur normale 25 à 150 mg %). Ils sont dosés soit par différence après estimation des autres constituants lipidiques sériques (BRAGDON, 1951) soit après séparation chromatographique, par dosage de leur liaison ester (RAPPORT et ALONZO, 1955) ou de leur contenu en glycérol (VAN HANDEL et ZILVERSMIT, 1957 ; CARLSON, 1960). Ces glycérides sont composés pour leur plus grande partie de triglycérides mais ils contiennent aussi de petites quantités de mono- et de diglycérides (CARLSON et WADSTRÖM, 1957, 1959).

4) Les acides gras non estérifiés (FFA) (valeur normale = 0,3 à 0,7 mEq/l) dosés par titration (DOLE, 1956).

5) D'autres constituants en très petites quantités tels que les cérébrosides (SVENNERHOLM et SVENNERHOLM, 1956, 1963) (3,5 à 5,7 mg %), les caroténoïdes (0,07 à 0,2 mg %) et la vitamine A (0,02-0,07 mg %) (LEITNER, MOORE et SHARMAN, 1960), le squalène (GOODMAN, 1964).

Les acides gras totaux provenant des esters du cholestérol, des phospholipides, des glycérides auxquels s'ajoutent les acides gras non estérifiés, sont dosés par titration après saponification (leur concentration varie de 200 à 400 mg %).

Des méthodes plus récentes ont permis de séparer les phospholipides des autres lipides, les cholestérides des glycérides et les glycérides en

plusieurs sous-fractions telles que tri-, di- et monoglycérides. Ces méthodes sont la chromatographie sur colonne et en couche mince, le support étant l'acide silicique.

CLASSIFICATION ET MODE D'IDENTIFICATION DES LIPOPROTÉINES DU PLASMA (L.P.)

Lorsqu'il eut été reconnu que les lipides du plasma sanguin étaient liés aux protéines sous forme de complexes ou cénapses lipoprotéiques (MACHEBŒUF, 1929, 1936), les techniques de séparation et de mise en évidence des protéines ont été appliquées à ces « lipoprotéines » (CHARGAFF, 1944).

Trois méthodes principales ont permis de séparer les lipoprotéines en trois grands groupes : les alpha-lipoprotéines, les beta-lipoprotéines et les chylomicrons. Elles tirent profit des différences de solubilité, de densité ou de mobilité dans un champ électrique, de ces constituants. Ces méthodes sont : la précipitation fractionnée, l'ultracentrifugation et l'électrophorèse.

1) Méthodes de précipitation

a) L'éthanol à froid (-5°C) permet de séparer les alpha des beta-lipoprotéines ; les premières se retrouvent dans les fractions IV et V de COHN, les secondes dans les fractions I et III (COHN, STRONG, HUGHES, MULFORD, ASWORTH, MELIN et TAYLOR, 1946 ; COHN et coll., 1950 ; PEARSALL et CHANUTIN, 1949). Le rapport de cholestérol aux phospholipides est de 2,31 dans les fractions I et III et de 0,81 dans les fractions IV et V (LEVER, GURD, UROMA, BROWN, BARNES, SCHMID et SCHULTZ, 1951 ; ONCLEY, MELIN, RICHERT, CAMERON et GROSS, 1949 ; ONCLEY, GURD et MELIN, 1950).

b) Une préparation sélective des beta-lipoprotéines s'obtient par un réactif acétate de Zinc-glycinate de Zinc (COHN, 1953) ou par certains polyanions à poids moléculaire élevé : héparine ou sulfate de dextrane (ONCLEY, WALTON et CORNWELL, 1957 ; BERNFELD, DONAHUE et BERKOWITZ, 1957, BERNFELD, NISSELBAUM, BERKELEY, HANSON, 1960 ; BURSTEIN, 1956 ; BURSTEIN et SAMAILLE, 1958 ; BURSTEIN et FINE, 1964 ; CORNWELL et KRUGER, 1961) ou encore par des polycations (polyvinylpyrrolidone) (BURSTEIN et BERLINSKI, 1960).

Dans les cas de néphrose, une distribution anormale du cholestérol parmi les fractions protéiques du sérum précipitées par l'alcool a été notée

par PEARSALL et CHANUTIN, 1949 ; BARR, RUSS et EDER, 1951 ; EDER et RUSS, 1952). L'anomalie de distribution consiste en une diminution du cholestérol dans les aliphalipoprotéines. Le même résultat est obtenu par l'analyse du surnageant après précipitation des betalipoprotéines par l'héparine ou le sulfate de dextrane (BURSTEIN et BERLINSKI, 1960).

2) Electrophorèse

Cette méthode de séparation est basée sur la mobilité électrophorétique différente des alpha et betalipoprotéines. Leur migration est parallèle à celle des alpha et betaglobulines du sérum. La révélation des lipoprotéines en électrophorèse libre est basée sur un procédé optique (BLIX, TISELIUS et SVENSSON, 1941). En électrophorèse de zone (sur papier, sur gel d'amidon, gel d'agarose ou acétate de cellulose) (CHARMAN et LANDOWNE, 1967), les lipoprotéines sont révélées par des colorants spécifiques des graisses : Soudan IV (ROSENBERG, 1952) ou Scharlach, Soudan III, Noir soudan (SWAHN, 1952 ; KUNKEL et SLATER, 1952 ; MAC DONALD, 1958 ; BURSTEIN et FINE, 1964), Oil red O (DURRUM, PAUL et SMITH, 1952, JENCKE, HYATT, JETTON, MATTINGLY et DURRUM, 1956, LEES et HATCH, 1963 ; LEES et FREDERICKSON, 1964). Au lieu de 2 constituants, SWAHN (1953) croit pouvoir en distinguer 4 dans le sérum normal : le premier se situe entre l'albumine et les globulines alpha₁ et représente 30 % des lipoprotéines : il représente le groupe alpha ; un second peu important chez le sujet normal (3 % des lipoprotéines) migre au niveau des alpha₂-globulines : c'est la pré-beta-lipoprotéine de LEES et FREDERICKSON (1964) ; le troisième, représentant 60 % des LP est constitué par les beta-lipoprotéines ; le quatrième représente les chylomicrons dont la migration est inhibée par leur haute absorbabilité par le papier. Ils ne se retrouvent que dans la lipémie postprandiale ou dans certains états pathologiques. KUNKEL et SLATER (1952) ne retrouvent pas sur gel d'amidon, au niveau des gamma-globulines cette quatrième zone qui résulterait d'après eux d'un défaut de la méthode d'électrophorèse sur papier. D'autres auteurs identifient jusqu'à 5 fractions et plus en sous-fractionnant les beta-lipoprotéines (RAYNAUD et D'ESHOUGHES, 1955).

L'étude de la composition chimique de ces deux groupes de lipoprotéines (alpha et beta) montre que les 2 fractions contiennent à peu près le même pourcentage de phospholipides mais que la majeure partie du cholestérol (environ 75 %) est accumulée dans la fraction beta (OLIVER et BOYD, 1953 ; KUNKEL et SLATER, 1952). La proportion de cholestérol libre et de cholestérol estérifié est la même dans les deux types (60-80 % sous forme estérifiée).

Les beta-lipoprotéines sont nettement augmentées dans la néphrose de l'enfant (SALT et WOLFF, 1957) ou de l'adulte (LONGSWORTH, SHEDLOVSKY et MAC INNES, 1939 ; LONGSWORTH et MAC INNES, 1940 ; LUETSCHER, 1940, 1942 ; FASOLI, 1952, 1953). Parfois, on observe un pic intermédiaire important entre les groupes alpha et beta dont la nature n'est pas précisée (KUNKEL et SLATER, 1952). Enfin, on note le plus souvent une traînée beta très riche en graisses neutres (c'est le quatrième constituant de Swahn ou chylomicrons) (ENSELME et DREYFUS, 1955 ; SWAHN, 1953 ; NIKKILÄ, 1955).

Lors de l'amélioration de l'état clinique obtenue par l'ACTH, il existe une bonne corrélation entre la diminution du taux du cholestérol total du sérum et celle des lipoprotéines qui constituent le système de transport de ce lipide (FARNSWORTH et RUPPENTHAL, 1951).

3) L'ultracentrifugation

La propriété la plus caractéristique des lipoprotéines est leur basse densité ($d = 0,98$ à $1,21$) comparée à celle des autres protéines du sérum ($d = 1,26$ à $1,38$). On utilise cette propriété pour leur séparation. Plus légères, elles vont se mouvoir vers la surface lorsque la densité du milieu est supérieure à leur densité propre. En modifiant la densité du milieu, on sépare les différentes lipoprotéines selon leur constante de flottaison (DE LALLA et GOFMAN, 1954). L'unité de flottaison utilisée dans un milieu de densité $1,063$ (ClNa à 9 ‰) est le Sf. Celui-ci est égal à 1×10^{-3} cm/sec/dyne/gm (unité de vitesse cm/sec par unité de champ de force dyne/gramme). Le coefficient Sf des lipoprotéines varie entre 0 et 40.000 (GOFMAN et coll., 1951). Les lipoprotéines alpha dont la densité est supérieure à $1,063$ sédimentent dans ces conditions avec les autres fractions protéiques. En portant la densité du milieu à $1,21$ par addition de KBr, Lewis et Page (1953) ont pu les séparer du sédiment globulines-albumine. Pour caractériser les lipoprotéines par leur densité, ils ont recours à un nouveau symbole —S (comparable au Sf, et qui correspond en fait à un coefficient de sédimentation négative dans un milieu de densité $1,21$).

Par ce procédé, on obtient six groupes de lipoprotéines :

- 1) les —S (2-20) correspondent aux alpha₁-lipoprotéines de Swahn que la méthode de Gofman ne permettait pas de séparer ;
- 2) les —S (20-25) correspondant aux lipoprotéines de Sf 1-3 ;
- 3) les —S (25-40) correspondant aux lipoprotéines de Sf 3-12 ;

- 4) des —S (40-70) correspondant aux LP de Sf 12-20 ;
- 5) des —S (70-100) correspondant aux LP d'un Sf 20 à 100, et
- 6) des —S 100 identiques aux L.P. dont le coefficient Sf va de 100 à 40.000 qui constituent les chylomicrons.

Le groupe 1) dans la littérature anglo-saxonne est souvent désigné sous le nom de « high density lipoproteins » (HAVEL, EDER et BRAGDON, 1955). Les groupes 2), 3), 4) et 5) constituent les « low density lipoproteins » des anglo-saxons, le groupe 6) les « very low density » et les chylomicrons.

L'ultracentrifugation du sérum de patients néphrotiques montre une nette augmentation des différentes fractions de lipoprotéines dont le coefficient —S est supérieur à 23 (LEWIS et PAGE, 1953), c'est-à-dire dont le coefficient Sf est mesurable (GOFMAN, RUBIN, MCGINLEY et JONES, 1954 ; GOFMAN, LINDGREN, JONES, LYON et STRISOWER, 1951 ; HAVEL et coll., 1955). L'étude très complète de BAXTER, GOODMAN et HAVEL (1960) permet de distinguer par l'ultracentrifugation une composition lipoprotéique différente suivant qu'il s'agit d'une forme de néphrose légère ou d'une forme sévère. Dans le premier cas, on note une augmentation des beta-lipoprotéines de densité comprise entre 1,019 et 1,063, celle-ci est parallèle à la hausse du taux du cholestérol et des phospholipides. Par contre, il y a peu de changement dans les lipoprotéines de densité inférieure à 1,019. Dans les formes graves, on assiste à une augmentation des lipoprotéines de densité inférieure à 1,019 ce qui se reflète dans le sang par une augmentation de la concentration en triglycérides et par l'apparition de la lactescence (BAXTER, GOODMAN et HAVEL, 1960). Dans les phases de rémission induites par la corticothérapie ou par des infusions répétées d'albumine, les lipoprotéines de densité inférieure à 1,019 diminuent et celles de densité comprise entre 1,019 et 1,063 augmentent. Des infusions prolongées de glucose ont l'effet inverse (BAXTER, GOODMAN et SHAFRIR, 1959). Ces variations réciproques de la concentration des fractions lipoprotéiques s'observent aussi en dehors de la néphrose. Elles suggèrent l'existence d'un phénomène d'interaction entre les lipoprotéines de différentes densités. Ce phénomène est certainement d'ordre métabolique car des expériences réalisées *in vitro* ne montrent aucun changement au cours du temps dans la composition de mélanges de lipoprotéines de densités différentes (SHAFRIR, 1959).

Enfin la composition élémentaire des lipoprotéines (pourcentage des phospholipides, des triglycérides et du cholestérol) peut être modifiée dans la néphrose humaine (NYE et WATERHOUSE, 1961). Il en est de même de leur composition en acides aminés (RODBELL, 1958).

Dans le syndrome néphrotique expérimental du rat, une augmentation analogue des lipoprotéines s'observe mais elle est plus marquée que chez l'homme pour les lipoprotéines de basse densité (LEWIS et HEYMANN, 1954 ; BAXTER, GOODMAN et HAVEL, 1960).

Le taux sérique des glycérides est un bon indice de la quantité de lipoprotéines de basse densité présente dans le sérum (ALBRINK, 1961).

Le cholestérol total, par contre, n'est pas toujours un bon indice de la quantité de lipoprotéines de densité 1,019-1,063 bien que cette fraction renferme normalement la majeure partie du cholestérol. Dans le syndrome néphrotique, en effet, la fraction de densité $< 1,019$ en renferme souvent en grande quantité. Une estimation approchée du spectre lipoprotéique peut être tirée de la connaissance simultanée des taux de cholestérol et de triglycérides ou plus simplement encore du taux de cholestérol et de l'aspect du sérum (BAXTER, 1960). En effet, la lactescence du sérum est toujours associée à une augmentation des graisses neutres (VAN ECK, PETERS et MAN, 1952, ALBRINK, MAN et PETERS, 1955) ou des lipoprotéines de très faible densité (BAXTER, 1960 ; ALBRINK, 1961). Elle apparaît généralement lorsque le taux des graisses neutres exprimées par leur contenu en acides gras dépasse 20 mEq/l. Par contre, même en présence d'une hypercholestérolémie importante mais isolée, le sérum reste limpide (ALBRINK, MAN et PETERS, 1955). Signalons encore deux autres méthodes de séparation des lipoprotéines moins fréquemment utilisées :

4) La chromatographie (HJERTEN, 1959 ; CARLSON, 1960, CRAMER, 1962 ; PEETERS et LAGA, 1963), et

5) L'immunochimie ou immunoélectrophorèse sur milieu agar en utilisant des antisérums réagissant avec les alpha et les beta-lipoprotéines (LEVY, FREDRICKSON et LASTER, 1966 ; LEVY, LEES et FREDRICKSON, 1966 ; BURSTEIN et FINE, 1964).

PATHOGÉNIE DE L'HYPERLIPÉMIE DU SYNDROME NÉPHROTIQUE

Relation entre l'hyperlipémie et l'hypoalbuminémie

Quoique l'hyperlipémie soit toujours associée dans cette affection à de l'hypoprotidémie et en particulier à de l'hypoalbuminémie (MARSH et DRABKIN, 1955), il n'y a pas de parallélisme absolu entre la lipémie et le déficit protidique plasmatique (VAN SLYKE et coll., 1930 ; DANIELS, 1925 ; LEWIS et PAGE, 1953). L'absence de parallélisme est particulièrement frappante dans l'amyloïdose secondaire (MICHON, LARCAN, HURIET et GAUCHER, 1963) dans le lupus érythémateux (JIMENES-DIAZ, 1950 ; MUEHRCKE, KARK, PIRANI et POLLAK, 1957 ; SOFFER, SOUTHERN, WEINER et WOLF, 1961 ; SHEARN, 1964) et dans les syndromes néphrotiques compliqués de malnutrition ou de troubles digestifs (PETERS, BRUCKMAN, EISENMAN, HALD et WAKEMAN, 1931).

L'association obligatoire de l'hypoalbuminémie et de l'hyperlipémie, conduit à chercher lequel de ces deux phénomènes était la cause de l'autre (HEYMANN et HACKEL, 1952 ; ROSENMAN, FRIEDMAN et BYERS, 1956 ; ROSENMAN, BYERS et FRIEDMAN, 1957 ; HEYMANN, NASH, GILKEY et LEWIS, 1958). C'est pourquoi l'on s'est tout d'abord efforcé de déterminer lequel apparaissait en premier lieu.

Après l'injection au rat d'un sérum néphrotoxique obtenu par l'immunisation d'un lapin, les lipides totaux du sérum augmentent lentement dès la 2^e heure (HEYMANN et HACKEL, 1952). Cette augmentation s'accroît après 4 heures pour atteindre des valeurs très au-dessus de la normale (valeur normale selon ces auteurs : 180 à 400 mg %) : parmi ces lipides, ce sont les triglycérides qui augmentent le plus rapidement dès la 5^e heure (ROSENMAN, BYERS et FRIEDMAN, 1957).

L'hypercholestérolémie est d'apparition plus tardive, ne devenant manifeste que 6 à 8 heures après l'injection d'hétéronéphrotoxines. Ce symptôme s'accroît pendant des jours, voire même des semaines. L'évolution du taux des phospholipides sanguins est assez parallèle à celle du cholestérol (valeur normale selon HEYMANN et HACKEL : 100 à 150 mg %). Pour ROSENMAN, BYERS et FRIEDMAN (1957), nonante-six heures après l'injection, le taux des lipides décroît déjà, cette décroissance résultant surtout de la diminution rapide du taux des triglycérides.

La concentration protéique du sérum, elle, diminue parfois dès la 4^e heure ; ce processus se poursuit régulièrement pendant les 3 premiers

jours. L'hyperlipémie précéderait donc plutôt qu'elle ne suivrait l'hypoalbuminémie (HEYMAN, NASH, GILKEY et LEWIS, 1958). Cependant, cet avis n'est pas partagé par tous les auteurs. Pour ROSENMAN, BYERS et FRIEDMAN (1957), la réduction du taux de la sérumalbumine est plus précoce que l'augmentation des lipides sanguins. La rapidité de développement de la néphrose d'origine néphrotoxique ne permet pas une étude chronologique très précise de ces manifestations humorales. Aussi a-t-on étudié la séquence des modifications sanguines produites par l'aminonucléoside (DUBACH, RECAN, HATCH et KOCH, 1960). Une latence de 5 jours s'observe en effet avant l'apparition des manifestations franches de la néphrose produite par cette substance. Dans cette affection, l'hypercholestérolémie semble bien suivre l'hypoprotidémie. Cependant, selon DUBACH, RECAN, HATCH et KOCH (1960), cette relation temporelle ne suffit pas à établir une relation causale entre les deux phénomènes.

Le rôle de l'hypoalbuminémie dans la genèse de l'hyperlipémie a été démontré par ROSENMAN, BYERS et FRIEDMAN (1957). Lorsqu'on injecte de l'albumine bovine par voie veineuse à des rats néphrotiques, on observe toujours une diminution des lipides sanguins et surtout des triglycérides. Si l'albumine bovine est perfusée d'une manière continue pendant les 24 heures qui suivent l'injection du sérum néphrotoxique, cette perfusion prévient l'augmentation des lipides sans que ceci puisse être attribué à leur hémodilution ; en effet, l'hématocrite ne varie pas significativement (ROSENMAN, FRIEDMAN et BYERS, 1956). Dès que cesse la perfusion d'albumine, le cholestérol et les lipides totaux augmentent rapidement (en moins de 24 heures). Parfois, cependant, l'injection d'albumine chez les animaux où la néphrose est installée depuis plus de 24 heures, ne suffit pas à normaliser le taux des lipides tout en l'abaissant. Il semble que l'albumine de rat, mieux que l'albumine bovine, y réussisse dans ces cas (ALLEN, 1959).

Chez l'homme, PETERS et MAN (1948) observent une importante diminution des lipides sériques, après l'injection d'albumine chez des patients hypoalbuminémiques, atteints ou non de néphrose et cela que le taux de lipides soit élevé ou non. SOOTHILL et KARK (1956) observent chez les néphrotiques une chute du cholestérol atteignant 50 %. BAXTER, GOODMAN et ALLEN (1961) abaissent le taux du cholestérol et des phospholipides chez tous leurs malades et celui des triglycérides chez 3 de leurs 5 patients.

Cette correction de l'hyperlipémie ne s'obtient pas seulement par l'infusion d'albumine. La transfusion sanguine corrige l'anémie et augmente le contenu protéique du sang. Elle diminue aussi le contenu en

graisse et en cholestérol du sang qui reviennent à des valeurs normales (EPSTEIN, 1917).

Chez le rat néphrotique, ALLEN, BAXTER et GOODMAN (1961) obtiennent un résultat similaire par l'infusion intraveineuse de dextran ou de polyvinylpyrrolidone (PVP). Les doses utilisées doivent être suffisantes pour augmenter le volume plasmatique. Les triglycérides diminuent nettement plus que ne le font le cholestérol et les phospholipides. L'injection de PVP à des rats normaux n'abaisse que le taux du cholestérol et des phospholipides sériques, mais beaucoup moins nettement que chez le rat néphrotique. L'effet favorable du dextran sur la lipémie dans la néphrose expérimentale avait déjà été noté par HEYMANN, NASH, GILKEY et LEWIS (1958). La similitude d'action des infusions d'albumine, de dextran ou de polyvinylpyrrolidone a conduit à penser que la réduction de la pression colloïdo-osmotique du plasma était responsable de l'hyperlipémie. Il semble bien en tous cas que l'on puisse écarter l'idée que la diminution du taux des lipides pourrait résulter uniquement de l'hémodilution qu'entraîne la perfusion d'agents osmotiquement actifs (MOLLISON et RENNIE, 1954). Selon ces auteurs, l'abaissement du taux de cholestérol subsiste en effet, même après le retour de l'hématocrite à sa valeur initiale. Pour HEYMANN (1958) cette action est assez fugace. Après la cessation du traitement, le taux sanguin de lipides remonte à sa valeur initiale.

Le mode d'action de ces agents reste assez mystérieux. Ils ne modifient pas l'état néphrotique, ne réduisent pas la protéinurie et n'entraînent aucune élévation de l'azotémie. Une action toxique du dextran ou du PVP paraît également exclue car aucune toxicité de ces produits n'a pu être démontrée. Ces substances ne paraissent pas augmenter la libération de lipoprotéine-lipase (HOUSSET, ÉTIENNE, LOEPER et COTTET, 1968) bien qu'une activation de cet enzyme ait été suggérée (WOLDOW, 1966) : elles n'accélèrent pas le processus de clarification des lipides plasmatiques en agissant comme accepteurs d'acides gras. Étudiée par la technique de RADDING, BRAGDON et STEINBERG (1958), la synthèse des lipoprotéines de basse densité par des tranches de tissu hépatique provenant de rats néphrotiques n'est pas modifiée par l'administration préalable de dextran ou de PVP. Ces substances sont aussi dépourvues d'action sur la mobilité des lipoprotéines du plasma (STEWART, 1958), au contraire de ce que l'on observe pour l'héparine et le sulfate de dextrane (HAVEL et BRAGDON, 1954, JEAUVONS et RICKETTS, 1956 ; GLAZKO, STRONG et HAZENKO, 1954 ; HOUCK, MORRIS et LAZARO, 1957). Le dextran et le PVP bloquent le système réticuloendothélial (STEELE, VAN

SLYKE et PLAZIN, 1952 ; NELSON et LUSKY, 1951 ; SQUIRE, BULL, MAYCOCK et RICKETTS, 1955). Le blocage de ce système chez l'animal entraîne plutôt une diminution du taux des lipides : le cholestérol notamment s'abaisse (BROWN, PHILIPS et KAGAN, 1952 ; FRIEDMAN, BYERS et ROSENMAN, 1954 ; RICE, SCHOTS, POWELL et ALFIN-SLATER, 1954) ; cette réduction de la lipémie reste toutefois peu importante. La dégradation de ces substances n'influencerait pas davantage le métabolisme des lipides plasmatiques. En fait, le PVP n'est pas métabolisé et est excrété tel quel par l'urine (STEELE, VAN SLYKE et PLAZIN, 1952). Le dextran est peu métabolisé chez l'animal (CARGILL et BRUNER, 1951). La libération de glucose à partir de dextran ne paraît pas susceptible d'abaisser le taux des lipides, car une alimentation riche en hydrates de carbone ne modifie pas la clearance de chylomicrons injectés par voie veineuse. Par contre, une telle alimentation réduit légèrement le taux des lipoprotéines de basse et de haute densité (BRAGDON, HAVEL et GORDON, 1957) du sérum des rats normaux. Des perfusions continues de glucose n'amènent pas de réduction significative du taux des lipides chez les néphrotiques (BAXTER, GOODMAN et SHAFRIR, 1959), parfois même elle induit une augmentation des lipoprotéines de très basse densité.

Le syndrome néphrotique n'est pas la seule circonstance où l'hyperlipémie peut apparaître comme un mécanisme compensateur de la diminution de la pression oncotique résultant de l'hypoalbuminémie. Les saignées répétées par exemple ont le même effet sur la lipémie (BOGGS et MORRIS, 1909 ; SAKAI, 1914 ; FEIGL, 1921 ; HORIUCHI, 1920 ; BARKER et KIRK, 1930 ; ROODENBURG, 1945 ; JIMENEZ-DIAZ, 1950 ; CLEVE et HARTMANN, 1954 ; SPITZER et SPITZER, 1955 ; SELLERS, HUBBARD et MARMORSTON, 1957). Dans ce cas, l'élévation du taux des lipides sanguins provient en partie de la mobilisation des dépôts sous-cutanés et rétropéritonéaux (FISHBERG et FISHBERG, 1928).

MACHEBŒUF (1931), MACHEBŒUF et TAYEAU (1939) croyaient que la pression oncotique par gramme de protéine plasmatique était plus élevée chez les patients souffrant de néphrose lipoidique que chez les individus normaux et pensaient que cela était dû à une augmentation de la concentration des lipides. Cette opinion était partagée par FISHBERG (1929) et RABINOWITCH (1930). Ultérieurement POPJAK et MCCARTHY (1943, 1946) démontraient que les lipides n'ont aucun effet osmotique.

Lorsque fut connu le rôle de la sérumalbumine comme accepteur d'acides gras non estérifiés (FFA), on crut pouvoir expliquer par ce mécanisme l'élévation du taux des lipides plasmatiques et l'effet hypo-

lipémiant des injections d'albumine (BOGDONOFF, LINHART, KLEIN et ESTES, 1961). L'insuffisance en substrat assurant le transport des acides gras libérés par l'hydrolyse des triglycérides pouvait, pensait-on, bloquer la lipolyse (ROBINSON et FRENCH, 1953 ; GORDON, 1957 ; SEIFTER et BAEDER, 1955 ; McDANIEL et GROSSMAN, 1955). En fait la concentration plasmatique des FFA est normale dans le syndrome néphrotique (SAFFRAN et KALANT, 1959 ; BOGDONOFF, LINHART, KLEIN et ESTES, 1961) mais si la fraction liée à l'albumine est diminuée, celle fixée aux lipoprotéines est au contraire beaucoup plus élevée que normalement (OTT, 1957 ; SHAFRIR, 1958, GOODMAN et SHAFRIR, 1959).

Le partage des FFA entre l'albumine et les lipoprotéines dépend du rapport des concentrations de ces fractions dans le sérum. Une répartition normale des acides gras libres est rétablie par l'addition *in vitro* au sérum néphrotique d'albumine pauvre en FFA (OTT, 1957). Le sérum de 2 patients présentant une anabuminémie contenait un taux anormalement élevé de lipides dans la zone correspondant aux α_2 -globulines en électrophorèse sur papier. Il s'agirait, en fait, de beta-lipoprotéines porteuses des FFA du sérum dont la migration aurait été modifiée (OTT, 1957).

Les lipoprotéines ayant un coefficient Sf élevé sont normalement converties en lipoprotéines de Sf plus bas (PIERCE, 1954). GITLIN, CORNWELL, NAKASATO, ONCLEY, HUGHES et JANEWAY, 1958) croient que l'origine de l'hyperlipémie néphrotique devrait être recherchée dans la réduction du processus de conversion des lipoprotéines beta de basse densité (Sf 10-200) en lipoprotéines de densité moyenne (Sf 3-9) ; il résulterait de ce « blocage » une accumulation pathologique de lipoprotéines de basse densité (Sf 10-200). Ce ralentissement du processus de conversion pourrait être attribué soit à la saturation, soit à une insuffisance en un ou des facteurs intervenant dans ce processus ; ces facteurs sont précisément la concentration en albumine et le taux de la lipoprotéine-lipase.

Comme le rôle de l'hypoalbuminémie dans la genèse de l'hyperlipémie n'est pas contesté, il était intéressant de réaliser l'atteinte rénale du syndrome néphrotique tout en s'opposant au développement de l'hypoalbuminémie. Il fallait pour cela empêcher la fuite rénale d'albumine. Ceci fut réalisé par la ligature des uretères (voir plus loin). Dans ces conditions l'hyperlipémie n'apparaît pas (ROSENMAN, FRIEDMAN et BYERS, 1956). Il reste néanmoins surprenant que d'autres maladies réalisant une déplétion albuminique aussi considérable que celle observée dans la néphrose ne s'accompagnent pas d'hyperlipémie. Tel est le cas

du syndrome de malnutrition chez l'homme (MAN et GILDEA, 1936), du kwashiorkor (DEAN et SCHWARTZ, 1953 ; SCHWARTZ et DEAN, 1957 ; SMIT et PRETORIUS, 1957 ; SCHENDEL et HANSEN, 1958), de la cirrhose portale (MAN, KARTIN, DURLACHER et PETERS, 1945) et de la forme hypercatabolique de l'hypoalbuminémie idiopathique (GORDON, 1959 ; MÄRKI et WUHRMANN, 1961). Ce n'est que dans la forme anabolique de cette affection que le taux de cholestérol sérique est fréquemment augmenté et décroît lorsqu'on perfuse de l'albumine (GORDON, BARTIER et WALDMANN, 1959). Tant par le type d'altération lipidique que par la présence d'œdème cette forme s'apparente aux formes de néphrose avec un taux d'albumine relativement bien conservé. Il est cependant à remarquer que dans la néphrose, la synthèse protéique n'est pas diminuée mais augmentée (BLAHD, FIELDS et GOLDMAN, 1955 ; KAITZ, 1959, MARSH et DRABKIN, 1958). Il se pourrait que dans les affections susmentionnées où l'hypoalbuminémie ne s'accompagne pas d'hyperlipémie, des troubles nutritionnels ou métaboliques importants (GILLMAN, GILBERT et SAVAGE, 1962), absents dans la néphrose, se superposent à l'hypoalbuminémie.

Signalons enfin que, dans l'analbunémie, le taux du cholestérol est fréquemment élevé (BECK et DORTA, 1959 ; OTT, 1957, WALDMANN, GORDON et ROSSE, 1964).

Rôle du rein

Si l'hypoalbuminémie paraît jouer un rôle fondamental dans la genèse de l'hyperlipémie néphrotique, il était naturel de suspecter le rein d'intervenir dans ce processus puisque ce sont les lésions rénales qui sont à l'origine de la fuite urinaire de la sérulalbumine.

Que le rein joue un rôle dans le métabolisme lipidique est suggéré par les observations suivantes : la ligature des uretères chez le chien (WINKLER, DURLACHER, HOFF et MAN, 1943 ; HEYMANN, 1942), le singe (WINKLER, DURLACHER, HOFF et MAN, 1943), le chat (NEKLUDOW, 1925), le lapin (SVANBORG, 1951) élève la lipémie : l'occlusion des vaisseaux du rein (JOHNSON, BAUER, HIRSCH et CARBONARO, 1951) aurait le même effet (HASSON, BERKMAN, PARKER et RIFKIN, 1957 ; BLAINY, HARDWICKE et WHITFIELD, 1954, POLLAK, KARK, PIRANI, SHAFTER et MUEHRCKE, 1956). Cette hyperlipémie pourrait être la conséquence de l'interruption de la fonction excrétoire du rein ou de l'altération d'une éventuelle activité sécrétoire interne ou encore d'une altération de sa fonction métabolique. C'est à cette dernière hypothèse que se rallie

SVANBORG (1951) ; en effet, la ligature des uretères entraîne une diminution de la tributyrase et de la phosphomonoestérase alcaline rénales. Un autre enzyme du métabolisme lipidique, la lipase rénale, est diminué dans certaines néphropathies expérimentales toxiques ou circulatoires (GALEONE et PELOCCHINO, 1954) et dans certaines atteintes tubulaires chez l'homme (REUBI et SCHMID, 1955). Cette diminution de l'activité lipasique semblerait grossièrement en rapport avec l'hyperlipémie (REUBI et SCHMID, 1955).

Chez 3 patients néphrotiques avec hyperlipémie sévère, SCHIROSA et GUARINI (1960) entraînent par l'injection de sang de la veine rénale une diminution rapide de la lipémie ; cette réduction du taux des lipides n'apparaîtrait pas si le sang veineux injecté provient d'une veine du bras.

La néphrectomie entraîne également de l'hyperlipémie (HEYMANN, 1942 ; HEYMANN et SEKERAK, 1945 ; WINKLER, DURLACHER, HOFF et MAN, 1943 ; NEKLUDOW, 1925 ; CHANUTIN et LUDEWIG, 1933 ; LUDEWIG et CHANUTIN, 1938 ; JIMENEZ-DIAZ et CASTRO-MENDOZA, 1948 ; JIMENEZ-DIAZ, 1950) tandis que l'injection d'un extrait rénal inhibe l'hyperlipémie observée après néphrectomie bilatérale ou ligature urétérale chez le chien (JIMENEZ-DIAZ et CASTRO-MENDOZA, 1952). Cette observation n'est toutefois pas confirmée, ni par SVANBORG (1951), ni par DIMOND, MARQUES SANTOS, MUNDY et CALDERWOOD (1953). Des dialyses péritonéales répétées préviennent l'élévation de la lipidémie chez le chien soumis à la néphrectomie bilatérale bien que les lipides ne soient pas dialysables (DI LUZIO et HOUCK, 1956 ; LEWIS, KOLFF et PAGE, 1956). Il n'y a cependant pas de corrélation entre l'azotémie et la concentration lipidique du plasma (PETERS et VAN SLYKE, 1945 ; JIMENEZ-DIAZ et CASTRO-MENDOZA, 1952). Cet effet des dialyses pourrait s'expliquer par l'élimination d'une substance toxique pour le foie et notamment le cholate dont l'excès pourrait jouer un rôle dans l'hyperlipémie (FRIEDMAN, BYERS et ROSENMAN, 1952 ; ROSENMAN, FRIEDMAN et BYERS, 1953).

Certains agents néphrotoxiques tels que le chlorure mercurique (ATLAS, CASH et KIRSCHEN, 1949 ; HEYMANN et SEKERAK, 1945), le dichromate de potassium, le nitrate d'urane (BAUER, JOHNSON, CARBONARO et HIRSCH, 1951, KELLER, 1953) élèvent le taux des lipides sanguins. L'effet du mercure est plus net que celui des autres substances précitées (HEYMANN et CLARK, 1945). Comme ces toxiques ne provoquent pas d'hypoprotéinémie, leur action paraît liée plutôt au dommage rénal qu'elles entraînent. Certains agents minéraux ou organiques, les sels d'or, les diurétiques mercuriels, la tridione (HEYMANN, 1958 ; MILLI-

CHAP et KIRMAN, 1953 ; PREEDY et RUSSELL, 1953 ; MUNCK et NISSEN, 1956 ; BURSTON, DARMADY et STRANACK, 1958 ; RIDDLE, GARDNER, BESWICK et FILSHIE, 1958 ; WEISSENBAACH, MARTINEAU, BROCARD et MALINSKY, 1936 ; PASTEUR VALLERY-RADOT, MAURIC, WOLFFFROMM et GUIOT, 1942 ; HEYMANN, HACKEL et HUNTER, 1960 ; FARQUHAR, 1953), à l'opposé des premiers provoquent un syndrome néphrotique s'accompagnant d'hyperlipémie.

Si le rôle du rein dans le métabolisme lipidique paraît bien établi par ces expériences, sa participation dans l'hyperlipémie du syndrome néphrotique n'en est guère expliquée. Cependant, chez des rats rendus néphrotiques par l'injection de sérum anti-rein, la néphrectomie unilatérale réalisée après l'induction de la maladie décroît pratiquement de 50 % le taux de l'hyperlipémie (HEYMANN et HACKEL, 1955). La néphrectomie bilatérale pratiquée immédiatement avant l'injection du sérum néphrotoxique prévient le développement de l'hyperlipémie (HEYMANN et HACKEL, 1955). Si la lésion néphrotique n'atteint qu'un des reins — l'autre étant protégé par le clampage du pédicule rénal pendant 30 minutes après l'injection intraveineuse du sérum néphrotoxique — la lipémie est moins importante qu'en cas de lésion bilatérale (HEYMANN et HACKEL, 1955). L'ablation du rein lésé ramène les lipides à leur valeur normale. Ces diverses expériences suggèrent qu'un agent induisant l'hyperlipémie pourrait être sécrété par le rein malade. Cette hypothèse n'a pu être vérifiée jusqu'à présent.

La thrombose des veines rénales provoquée par leur ligature partielle (LAGRUE, MILLIEZ, HALPERN et BRANELLEC, 1960) réalise un syndrome néphrotique avec hyperlipémie chez le lapin. L'hyperlipémie serait au moins en partie d'origine rénale car elle n'apparaît pas si la ligature veineuse est unilatérale ; elle apparaît par contre si, quelques jours plus tard, on enlève le rein opposé, sain.

REUBI et SCHMID (1955) envisagent un tout autre mécanisme. Le filtre glomérulaire lésé dans la maladie se laisserait traverser par des molécules lipoprotéiques : les lipides ne pourraient-ils alors se libérer de leur liaison protéidique lors de la réabsorption tubulaire et être restitués sous forme de lipides libres au plasma, la fraction protéique étant moins résorbable et pratiquement excrétée. Le rein néphrotique jouerait ainsi un rôle dans la dégradation des lipoprotéines en favorisant l'accumulation des lipides dans le sang.

En résumé, les travaux consacrés au rôle du rein dans le métabolisme des lipides et la pathogénie de l'hyperlipémie néphrotique, n'ont pas

réussi à séparer ce qui revient à l'hypoalbuminémie provoquée par la fuite rénale d'albumine des effets que pourrait avoir la présence d'un parenchyme rénal altéré.

Rôle du foie

Le foie paraît être la source principale sinon exclusive du cholestérol sanguin chez l'animal (BYERS, 1951). On admet que la quantité de cholestérol excrétée par la bile est une fraction fixe de la quantité totale de cholestérol synthétisé par le foie (BYERS et FRIEDMANN, 1952). On pouvait donc penser que la mesure du débit biliaire du cholestérol permettait d'apprécier la quantité synthétisée par le foie. Utilisant comme précurseur de l'acétate marqué, GOULD, CAMPBELL, TAYLOR, KELLY, WARNER et DAVIS (1951) avaient montré que le cholestérol synthétisé est en effet immédiatement sécrété dans la bile sans même avoir été complètement mélangé au cholestérol hépatique. Or la concentration en cholestérol de la bile chez le rat néphrotique est plus basse que celle observée chez l'animal normal (BYERS, FRIEDMAN et ROSENMAN, 1954). Ceci a fait conclure à l'existence d'une diminution de la synthèse du cholestérol chez les rats néphrotiques. HEYMANN (1956) ne décèle cependant aucun changement dans la synthèse hépatique du cholestérol deux jours après l'injection de sérum néphrotoxique. MARSH et DRABKIN au contraire (1955) la trouvent accrue au même moment.

Chez l'homme, LONDON, SABELLA et YAMASAKI (1951) ont étudié à l'aide d'un précurseur marqué au deuterium la synthèse du cholestérol sérique. Celle-ci paraît ralentie plutôt qu'accélérée chez un patient néphrotique étudié par cette méthode.

In vitro, des tranches de foie isolées à partir de rats néphrotiques depuis 5 à 7 jours, synthétisent moins de cholestérol marqué lorsqu'elles sont incubées avec de l'acétate-1-C¹⁴ que des tranches de foie normal. L'augmentation du pool de cholestérol ne suffit pas à expliquer cette moindre incorporation (MARSH et DRABKIN, 1955). Tout se passe comme si le foie réagissait à une augmentation du taux sanguin de cholestérol par une réduction de sa synthèse. C'est ce que GOULD et TAYLOR (1950) observaient dans des expériences de gavage et DUBACH et RECENT (1961) lors de l'administration d'un régime riche en cholestérol. Cependant, le contenu en cholestérol du foie augmente dans ces expériences (FRANTZ, SCHNEIDER et HINKELMAN, 1954) de sorte que la vitesse de synthèse hépatique est plutôt inversement proportionnelle au contenu en cholestérol du tissu qu'au taux sanguin (MARSH, 1955).

Le contenu en cholestérol et en lipides totaux du foie néphrotique a fait l'objet de rapports contradictoires. Celui-ci est normal pour ROSENMAN, FRIEDMAN et BYERS (1955) ; il est diminué pour HEYMANN et HACKEL (1957). Pour MARSH et DRABKIN (1955), SAFFRAN et KALANT (1959), MALMENDIER (1962), le contenu du foie en cholestérol et en acides gras totaux est plus élevé chez les animaux néphrotiques. Il est généralement admis que cette augmentation des lipides hépatiques est davantage due à l'hypertrophie du foie (HEYMANN et HACKEL, 1957 ; MALMENDIER, 1962) qu'à une augmentation de la concentration par gramme d'organe. L'augmentation pondérale du foie (exprimé en % du poids du corps) n'est pas due chez l'animal néphrotique à une augmentation du contenu en eau du tissu (HEYMANN et HACKEL, 1957).

In vivo, après injection intraveineuse de palmitate marqué, l'activité spécifique des acides gras totaux et du cholestérol hépatiques et sanguins décroît plus rapidement chez le rat néphrotique (SAFFRAN et KALANT, 1959). Ces auteurs tirent de leur travail la conclusion que la synthèse hépatique et la libération des lipides est accrue dans la néphrose. En même temps existerait une rétention des lipides dans le sérum. MALMENDIER (1962), dans des expériences de distribution tissulaire de C^{14} après injection intraveineuse de palmitate et de chylomicrons, a montré que le foie du rat néphrotique retenait une quantité beaucoup plus considérable de la radioactivité dans les glycérides et les phospholipides que le rat normal.

S'appuyant sur les travaux de FEINBERG, RUBIN, HILL, ENTENMAN et CHAIKOFF (1945) chez le chien, HEYMANN et HACKEL (1956) démontrent que l'administration orale de DL-éthionine à des rats néphrotiques réduisait le taux des lipides plasmatiques et les ramenait à leur niveau normal après 3 à 5 jours. Parallèlement, le contenu en lipides du foie (qu'ils trouvaient abaissés dans ce syndrome), tendait à se normaliser. On sait que l'éthionine interfère avec la formation des protéines au niveau du foie et provoque une stéatose hépatique chez des femelles normales maintenues à jeûn (FARBER, SIMPSON et TARVER, 1950). Comme pratiquement tous les lipides sériques se trouvent sous forme de lipoprotéines, il est concevable que l'éthionine diminue la synthèse des lipoprotéines et leur libération dans la circulation. Ainsi s'expliquerait l'augmentation des graisses hépatiques et la décroissance du taux des lipides plasmatiques chez les rats néphrotiques traités.

La synthèse des protéines et particulièrement des lipoprotéines par le foie néphrotique a également été étudiée à l'aide de précurseurs aminés marqués, tant *in vitro* qu'*in vivo*. Des tranches de foie provenant de rats

néphrotiques incorporent les acides aminés (leucine-1-C¹⁴) plus rapidement dans les lipoprotéines que ne le font les tranches de foie de rats normaux (RADDING et STEINBERG, 1960). Dans des expériences de perfusion hépatique réalisée *in situ*, une synthèse accrue de lipoprotéines de basse densité a été observée par MARSH (1960) chez des rats néphrotiques. Celle-ci va de pair avec une augmentation de la synthèse d'albumine (MARSH, 1960).

Enfin, il reste à dire un mot d'observations physiologiques tendant à démontrer le rôle du foie dans la genèse de l'hyperlipémie néphrotique. La ligature du canal biliaire chez le rat (HEYMANN et HACKEL, 1955) ne diminue l'hyperlipémie — en même temps d'ailleurs que la protéinurie — qu'en cas d'atteinte rénale sévère. L'intervention est sans effet lorsqu'elle est pratiquée à la phase chronique de l'affection c'est-à-dire de 2 à 4 mois après l'induction de la néphrose. L'hépatectomie subtotale (HEYMANN et HACKEL, 1955) interfère de manière significative avec le développement de l'hyperlipémie néphrotique alors que la splénectomie n'en modifie pas le cours.

Rôle de l'intestin

Pensant que l'hypercholestérolémie du syndrome néphrotique n'était pas explicable par une modification de synthèse hépatique du cholestérol, BYERS, ROSENMAN et FRIEDMAN (1955) ont recherché si le taux plasmatique du cholestérol était influencé par son excrétion fécale. Très rarement semble-t-il un taux élevé de cholestérol sérique paraît résulter d'une diminution de celle-ci.

L'excrétion fécale de graisses n'est pas différente chez des rats néphrotiques non encore arrivés au stade chronique de la maladie de ce qu'elle est à l'état normal. Il n'y a donc aucun argument pour penser que l'excrétion par les fèces joue un rôle dans l'élévation du taux des lipides sériques dans le syndrome néphrotique.

Rôle des glandes endocrines et de leurs hormones

a) L'HYPOPHYSE

L'hypophysectomie lorsqu'elle est pratiquée avant l'injection de sérum néphrotoxique au rat réduit l'importance de la protéinurie, de l'ascite et de l'œdème sous-cutané tout en ne modifiant ni l'hypoprotéinémie ni l'hyperlipémie (HEYMANN, HACKEL, GILKEY et SALEHAR, 1953). Ce n'est pas l'avis de BALLY et NUMA (1957) qui trouvent que les rats

néphrotiques hypophysectomisés, malgré une hypoalbuminémie sévère, ne développent qu'une hyperlipémie très modérée. Si l'intervention est pratiquée après l'installation de la néphrose, elle réduit la lipémie et la protéinurie (TRACY, 1962 ; BALLY et NUMA, 1957). Le taux du cholestérol ne revient toutefois pas à sa valeur normale (OLIVER et KELSCH, 1964). Dans la néphrose par amino nucléoside l'extirpation hypophysaire prévient l'augmentation du cholestérol et des triglycérides sériques (HOAK, CONNOR et STONE, 1966).

Dans l'analyse des effets de l'hypophysectomie on se rappellera que les extraits hypophysaires augmentent la synthèse des lipoprotéines. L'hormone de croissance en particulier mobilise les acides gras des triglycérides du tissu adipeux (GOODMAN et KNOBIL, 1964 ; GOODMAN, 1966) et élève leur concentration sanguine. Les effets de l'hypophysectomie chez le rat néphrotique pourraient donc s'expliquer par la réduction de ce processus.

b) LA SURRÉNALE

La surrénalectomie, qu'elle soit pratiquée avant ou après l'injection de sérum néphrotoxique, bien que réduisant la protéinurie et l'œdème n'a pas d'effet sur l'hyperlipémie (HEYMANN, HACKEL, GILKEY et SALEHAR, 1953).

c) LA THYROÏDE

L'abaissement du métabolisme basal est fréquent chez le sujet néphrotique (EPSTEIN et LANDE, 1922). Il suggère l'existence d'une hypothyroïdie associée. La glande thyroïde n'est toutefois pas augmentée de volume et les patients ne répondent pas à des doses élevées de thyroxine (EPSTEIN, 1926, LEITER, 1931, PETERS et MAN, 1948).

De même, l'administration aiguë d'hormone thyroïdienne n'affecte pas significativement les lipides plasmatiques élevés des rats néphrotiques (ROSENMAN et SMITH, 1958).

RECANT et RIGGS (1952) et RASMUSSEN (1956) ont décrit l'abaissement du PBI chez 16 patients (valeur moyenne 2,2 $\mu\text{g } \%$). Par contre, le pouvoir de captation de la thyroïde (mesuré par l' I^{131}) était normal. La perte urinaire de PBI ne représenterait qu'une petite partie de la sécrétion journalière normale d'hormone thyroïdienne selon RECANT (1952) et ne suffirait pas à expliquer l'abaissement du taux sanguin. La thyroïde répond normalement à la stimulation par l'hormone thyroïdienne (RECANT et RIGGS, 1952). Au contraire, pour RASMUSSEN (1956) la perte urinaire d'hormones thyroïdiennes représente 25 à 30 % de la sécrétion

normale. Il s'y ajoute une perte fécale non négligeable. La sécrétion journalière de thyroxine par la glande thyroïde étant normale, la quantité dégradée chaque jour au niveau des tissus périphériques serait de 50 % environ. Il en résulte que la vitesse de disparition du plasma de la thyroxine I^{131} est accélérée chez le néphrotique ($T/2$ raccourci). Selon RASMUSSEN (1956) l'abaissement du métabolisme basal des néphrotiques est dû à une inaptitude du système hypophyse-thyroïde à compenser le déficit apparent d'hormones thyroïdiennes.

Un défaut de liaison des hormones thyroïdiennes aux protéines plasmatiques a été suggéré par ROBBINS, RALL et PETERMANN (1954) et RECANT (1956). D'études réalisées *in vitro*, ROBBINS, RALL et PETERMANN (1957) concluent que la capacité de fixation de la thyroxine sur l' α_1 -globuline n'est que très légèrement diminuée dans le sérum néphrotique. L' α_1 -globuline à laquelle se lie l'hormone thyroïdienne existe dans le sérum néphrotique comme dans le sérum humain normal (ROBBINS, RALL et PETERMANN, 1957). Dans l'urine, la thyroxine est également liée à de l' α_1 -globuline spécifique (RECANT, 1957). Ceci dit, il est toutefois possible qu'une différence quantitative existe entre le sujet normal et le sujet néphrotique (RECANT, 1957) de telle sorte que la concentration en hormone libres (non liées à la protéine) soit normale ou même augmentée dans la néphrose. Si les effets physiologiques des hormones thyroïdiennes étaient fonction de la quantité d'hormone libre, on comprendrait aisément la coexistence d'un état d'euthyroïdie et d'un PBI bas. En ce qui concerne le métabolisme lipidique, on sait que la L-triiodothyronine inhibe l'hydrolyse des triglycérides (SHORE, 1955). Cette inhibition ne résulterait toutefois pas d'une inactivation de l'héparine ou d'un enlèvement de calcium ou de magnésium.

Rôle des apports alimentaires

L'hypercholestérolémie ne peut être secondaire à une augmentation de l'absorption intestinale du cholestérol exogène (ROSENMAN, FRIEDMAN et BYERS, 1954, SADHU et MORKERJEA, 1955) car elle survient même en l'absence complète de graisses dans le régime alimentaire. Par contre, le taux plasmatique des acides gras totaux s'élève notablement après les repas (HILLER et coll., 1929) chez les patients néphrotiques ; le régime ne semble pas affecter le taux du cholestérol (BEUMER, 1921 ; WICHERT, POSPELOFF et JAKOWLEWA, 1929 ; HEYMANN et STARTZMAN, 1946). Ces observations n'ont cependant pas pu être confirmées par EPSTEIN et ROTHSCILD (1917), PAGE et FARR (1936).

Rôle des facteurs intraplasmatiques

Nous avons vu que le syndrome néphrotique humain comme la néphrose expérimentale s'accompagne d'une élévation des trois fractions lipidiques du sérum : cholestérol, phospholipides et glycérides.

ALBRINK, MAN et PETERS (1955) ont par ailleurs noté l'association physique du cholestérol et des lipides neutres dans les molécules de chylomicrons. On peut concevoir qu'un excès de graisses neutres puisse diminuer la solubilité du cholestérol et prévenir son inclusion dans les lipoprotéines solubles ce qui entraînerait de l'hypercholestérolémie. Certains arguments expérimentaux viennent à l'appui de cette thèse. FRIEDMAN et BYERS, 1955, FRIEDMAN, ROSENMAN et BYERS, 1954 infusant rapidement par voie veineuse une suspension de graisses neutres induisent non seulement une hyperlipémie mais aussi une hypercholestérolémie. L'injection de protamine qui prévient le départ du sang d'une importante quantité de graisses neutres a le même effet. L'élévation expérimentale du taux des phospholipides plasmatiques (par l'infusion d'une émulsion de phospholipides de la fève de soya) provoque, elle aussi, une élévation du taux du cholestérol (FRIEDMAN et BYERS, 1956). L'hypercholestérolémie du syndrome néphrotique ne pourrait-elle pas être secondaire à un trouble du métabolisme des graisses neutres ou des phospholipides ? Si cette hypothèse était correcte, il resterait évidemment à élucider les raisons de l'augmentation des glycérides et des phospholipides.

MOSER et EMERSON (1955) ont observé dans le syndrome néphrotique humain, un retard important dans l'établissement de l'équilibre entre phospholipides plasmatiques et hépatiques ; la fraction de phospholipides disparaissant de la circulation par unité de temps est beaucoup plus petite que normalement. Le temps de « turnover » des phospholipides injectés est le double de la normale. Cette différence pourrait s'expliquer par une altération de la composition des phospholipides ; on sait en effet que chez le chien le temps de renouvellement de la céphaline et de la sphingomyéline est plus long que celui de la lécithine. Les résultats obtenus chez les néphrotiques indiquent comme dans l'hypothyroïdie une altération du rapport de ces phospholipides (NYE et WATERHOUSE, 1961).

Un excès de cholate a été trouvé dans le sang des patients et des rats néphrotiques par ROSENMAN, FRIEDMAN et BYERS (1953), quand il existait de l'hypercholestérolémie. Or l'injection intraveineuse ou le gavage de cholate augmente le taux du cholestérol sérique chez les

animaux normaux et néphrotiques (BYERS, FRIEDMAN, BIGGS et GUNNING, 1953) ; ces derniers se débarrassent toutefois moins facilement de l'excès de cholate que les normaux. Le taux de cholestérol retourne de ce fait plus lentement à la valeur de départ chez les animaux néphrotiques. Cet excès de cholate pourrait également être responsable de la réduction de la tension de surface observée par CLAUSEN (1925) et par LEITER (1931) sur du sérum néphrotique.

L'héparine administrée par voie veineuse accélère la disparition de la graisse particulée visible et clarifie le sérum dans l'hyperlipémie alimentaire (HAHN, 1943). Ce phénomène ne se produit qu'*in vivo* (HAHN, 1943 ; WELD, 1944 ; ANDERSON et FAWCETT, 1950 ; SWANK et WILMOT, 1951 ; BLOCK, BARKER et MANN, 1951 ; WALDRON et FRIEDMAN, 1948 ; BROWN, 1952 ; OLIVER et BOYD, 1953 ; FRENCH, ROBINSON et FLOREY, 1953 ; LEVY et SWANK, 1953). L'héparine modifie profondément le spectre des lipoprotéines (GRAHAM, LYON, GOFMAN, JONES, YANKLEY, SIMONTON et WHITE, 1951). Les molécules de coefficient Sf élevé diminuent en nombre tandis qu'augmente la concentration des lipoprotéines ayant un coefficient Sf bas. L'enzyme responsable de l'hydrolyse de triglycérides, aboutissant à la libération d'acides gras et de glycérol, hydrolyse activée par l'injection d'héparine, a été appelé lipoprotéine-lipase par KORN (1955). Cette propriété de l'héparine peut être observée *in vitro* si l'on ajoute le plasma clair d'un sujet héparinisé au préalable à du plasma lipémique (ANDERSON et FAWCETT, 1950 ; ANFINSEN, BOYLE et BROWN, 1952, BROWN, BOYLE et ANFINSEN, 1953 ; SHORE, 1953). Le plasma néphrotique subit alors comme le plasma normal l'effet clarificateur de l'héparine (ROSENMAN et BYERS, 1960 ; DAY et WILKINSON, 1958). Il est donc peu probable que le sérum néphrotique contienne un inhibiteur de la lipoprotéine-lipase comme l'avaient supposé SEIFTER et BAEDER (1954). Ces observations n'excluent pas l'hypothèse d'un déficit en lipoprotéine-lipase dans le sérum néphrotique. Il y aurait déficit pour GITLIN et GROSS (1957), GITLIN, CORNWELL, NAKASATO, ONCLEY, HUGHES et JANEWAY (1958) et LARCAN, WOLFF et WOLFF (1962) chez certains patients néphrotiques et pas chez d'autres. Toutefois, le dosage de la lipoprotéine-lipase dans le sérum lactescent de rats néphrotiques ne s'est pas révélé différent de celui des rats normaux (KORN et MALMENDIER, 1961).

L'action de la lipase ne peut se poursuivre en l'absence d'albumine. L'addition d'albumine au plasma néphrotique hypoalbuminémique (ROSENMAN et BYERS, 1960) permet une clarification complète du sérum lactescent. Ceci confirme le rôle essentiel de l'albumine comme accepteur

d'acides gras libres (ROBINSON et FRENCH, 1953 ; SEIFTER et BAEDER, 1955) et suggère qu'en l'absence d'albumine le processus de clarification optique d'un substrat triglycérique est inhibé par un excès d'acides gras libérés (ROBINSON, 1953 ; GORDON, BOYLE, BROWN, CHERKES et ANFINSEN, 1953 ; GROSSMAN, STADLER, CUSHING et PALM, 1955).

L'héparine prévient l'élévation du taux des lipides et du cholestérol dans la néphrose expérimentale si elle est administrée avant ou immédiatement après l'injection du sérum néphrotoxique (ROSENMAN, BYERS et FRIEDMAN, 1954 ; ROSENMAN et FRIEDMAN, 1957). Dans la néphrose humaine l'administration d'héparine réduit le taux des graisses neutres (HERZSTEIN, WANG et ADLESBERG, 1954) mais la diminution de la lipémie est moins importante que chez le sujet normal (KLEIN et LEVER, 1957). ROSENMAN et FRIEDMAN (1957) pensent que si l'injection d'albumine aux rats préalablement rendus néphrotiques ne normalise pas complètement le taux des lipides sanguins, c'est sans doute parce que l'héparine s'échappe dans l'urine en même temps que l'albumine, la lipoprotéine-lipase et un co-facteur éventuel. On comprend ainsi que lorsque le rat néphrotique est néphrectomisé et infusé avec de l'albumine, on observe une normalisation des lipides alors qu'on ne l'observait chez les rats néphrotiques intacts qu'après la perfusion intraveineuse simultanée d'albumine et d'héparine (ROSENMAN, 1957).

SEIFTER et BAEDER (1956) ont démontré la présence dans le plasma normal d'un facteur mobilisateur des lipides dont l'administration répétée entraîne de l'hyperlipémie avec perte de poids consécutive à une déplétion des graisses périphériques. Dans les cas de néphrose avec hypercholestérolémie, les concentrations en ce facteur seraient plus grandes que chez les rats normaux (ZARAFONETIS, SEIFTER, BAEDER et KALAS, 1957).

Ni la présence d'un inhibiteur de la lipoprotéine-lipase sérique d'une part, ni la rétention des lipides dans le compartiment plasmatique par défaut d'accepteurs d'acides gras libres, d'autre part, ne paraissent expliquer la diminution de la vitesse d'extraction sanguine des chylomicrons observée par SAFFRAN et KALANT (1959), MORRIS et FRENCH (1959), SODHI et KALANT (1960) chez le rat néphrotique. En effet, celle-ci n'est pas corrigée par l'administration d'albumine bovine (MORRIS et FRENCH, 1959) ou de sérum-albumine de rat (SODHI et KALANT, 1960). Elle n'est pas modifiée non plus par l'injection de plasma néphrotique à un rat normal (SODHI et KALANT, 1960). Le retard d'extraction des chylomicrons ne pourrait-il s'expliquer par un effet de dilution si l'on supposait une mobilisation accrue des lipoprotéines endogènes

venant des dépôts. De fait, la présence d'une hyperlipémie endogène massive chez des rats non néphrotiques n'altère pas la vitesse de disparition des chylomicrons administrés. Les chylomicrons toutefois peuvent être enlevés sans avoir subi une hydrolyse préalable par une lipoprotéine-lipase sérique (FRENCH et MORRIS, 1958). On pourrait donc ne pas être à même de mettre en évidence *in vivo* un effet d'inhibition de cette lipoprotéine-lipase (SODHI et KALANT, 1960).

Rôle des tissus périphériques

MARSH et DRABKIN (1955) considèrent l'hyperlipémie de la néphrose expérimentale comme une « lipidémie de transport », c'est-à-dire une mobilisation des graisses et du cholestérol à partir de leurs lieux de stockage, en réponse à un besoin accru de graisses comme source d'énergie. La mobilisation accrue de ce matériel entraîne nécessairement une augmentation du taux sanguin et une diminution de la concentration des lipides dans les réserves. Ceci paraît bien se vérifier pour le cholestérol. En effet, le cholestérol corporel total du rat néphrotique est sensiblement égal à celui du rat normal. Or, le contenu en cholestérol du sang, du foie et des reins y est beaucoup plus important que normalement ; par conséquent le cholestérol des tissus adipeux et musculaire doit être fortement abaissé. Le faible concentration du cholestérol dans les tissus adipeux et musculaire ne permet pas de bien saisir la différence entre normaux et néphrotiques. Le cholestérol de la peau — dont la concentration est élevée (3,4 mg/Gm de peau) — pourrait aussi être mobilisé beaucoup plus rapidement chez le rat néphrotique (GOODRICH et HARMS, 1964). Par contre, le taux des glycérides et des graisses totales musculaires est nettement abaissé chez les rats néphrotiques (MALMENDIER, 1962). Ces observations cadrent donc bien avec l'hypothèse formulée par Marsh et Drabkin. On admet qu'en raison d'un besoin énergétique accru, les graisses mobilisées à partir du tissu adipeux sont libérées sous forme d'acides gras libres non estérifiés (GORDON, 1957 ; FREDRICKSON et GORDON, 1958). Il paraît peu probable que les triglycérides soient libérés tels quels par un autre tissu que le foie (STEIN et SHAPIRO, 1960 ; HAMOSH et SHAPIRO, 1961).

Par contre, tous les tissus semblent capables d'extraire de la circulation les chylomicrons sans hydrolyse préalable des glycérides. Le foie, le tissu adipeux et le muscle les captent en grande quantité (BRAGDON et GORDON, 1958). L'étude de la distribution tissulaire des chylomicrons marqués au C^{14} après leur injection intraveineuse montre chez le rat néphrotique une augmentation de captation par le foie (MALMENDIER,

1962). Cependant, l'extraction sanguine des chylomicrons est réduite chez le rat néphrotique (FRIEDMAN, 1954 ; SAFFRAN et KALANT, 1959). On doit donc admettre que la captation est diminuée à la périphérie (muscle et tissu adipeux). Une diminution de la radioactivité en C^{14} dans les extraits lipidiques du muscle et du tissu adipeux des animaux néphrotiques après injection de chylomicrons a, en effet, été observée ; elle pourrait cependant ne pas traduire une diminution réelle de la captation des chylomicrons mais résulter d'une augmentation de l'utilisation de ces lipides pour des besoins métaboliques avec libération accrue d'acides gras libres dans la circulation (MALMENDIER, 1962).

CONCLUSION

On retiendra de cette introduction que le syndrome néphrotique expérimental du rat peut se présenter sous deux formes cliniques auxquelles correspondent des tableaux humoraux différents en ce qui concerne les lipides. Tantôt le syndrome néphrotique est modéré : les œdèmes sont discrets, l'albuminurie d'intensité moyenne et l'hypoalbuminémie peu marquée. Tantôt la maladie est sévère s'accompagnant d'ascite, d'albuminurie massive et d'hypoalbuminémie importante. Dans le premier cas, le sérum est clair, l'hyperlipémie n'excède pas 900 mg %, le taux du cholestérol est cependant fort élevé. Dans le second cas, le sérum a un aspect lactescent et les triglycérides représentent la majeure partie des lipides sériques.

Des multiples travaux expérimentaux réalisés dans le but d'expliquer l'hyperlipémie du syndrome néphrotique nous retiendrons essentiellement ce qui suit :

1. **le rein** joue un rôle fondamental mais indirect dans le déclenchement de l'hyperlipémie, il n'intervient pas directement dans le métabolisme lipidique, mais il est responsable de la fuite d'albumine et par conséquent de l'hypoalbuminémie. Le rôle pathogénique de l'hypoalbuminémie n'est pas contestable. En effet, la restauration d'un taux normal d'albumine corrige généralement l'hyperlipémie.
2. **au niveau du foie** la synthèse de protéines et particulièrement d'albumine est accrue. Il en va de même pour les lipoprotéines. Le foie paraît jouer un rôle déterminant dans la genèse de l'hypercholestérolémie.
3. **le métabolisme des tissus périphériques** (muscle et tissu adipeux) n'a été jusqu'ici que peu étudié. Cependant, la masse musculaire représente environ 40 % du poids total du rat (DONALDSON, 1924) et le tissu adipeux 10 à 15 %. Cette constatation suffit à justifier le présent travail.

BUT DU TRAVAIL

DANS des travaux parus en 1962 (MALMENDIER), nous avons étudié la répartition des lipides dans différents organes et tissus au cours du syndrome néphrotique du rat provoqué par l'injection de sérum néphrotoxique. Nous avons observé que dans les formes moins sévères de la maladie, les graisses hépatiques étaient augmentées tandis que le contenu en lipides du tissu musculaire et du tissu adipeux était normal et même parfois un peu élevé. Dans les formes plus graves où le sérum était lactescent, les lipides hépatiques étaient tout aussi accrus mais le contenu en graisses du muscle et du tissu adipeux était toujours diminué. Ces observations sans exclure l'hypothèse que l'hypercholestérolémie et l'hyperphospholipémie trouvent leur origine dans une augmentation de la synthèse hépatique, suggéraient que l'élévation du taux des triglycérides provenait davantage d'une mobilisation accrue des graisses périphériques comme l'avaient proposé déjà MARSH et DRABKIN (1955).

Ces observations nous ont conduit à centrer notre attention sur le métabolisme du tissu musculaire du rat néphrotique, d'une part, et sur certains aspects du métabolisme du rat néphrotique étudié *in toto*, d'autre part.

La première partie du travail a trait aux études réalisées *in vitro* sur des diaphragmes isolés ; dans le premier chapitre de notre étude, nous traiterons de l'incorporation par ce tissu de précurseurs marqués intervenant dans la synthèse des glycérides. Comme cette synthèse participe de deux copules, l'acide gras et le glycérophosphate, nous avons utilisé comme précurseurs le palmitate, la leucine, le glycérol et le glucose.

Dans le second chapitre, nous étudierons *in vitro* l'oxydation par le tissu musculaire de 3 des précurseurs précités, le palmitate, le glycérol et le glucose. La constatation d'une diminution importante de la teneur en glycogène du muscle nous a conduit à rechercher dans quelle mesure une altération du métabolisme glucidique pouvait être à l'origine des troubles constatés dans le métabolisme lipidique du muscle et à déterminer la part relative de ces 2 voies métaboliques dans les processus oxydatifs observés *in vitro*.

La seconde partie du travail est consacrée à l'étude *in vivo* de la participation des hydrates de carbone et des graisses dans les phénomènes d'oxydation. L'oxydation du palmitate, du glucose 1-C¹⁴ et -6-C¹⁴ a été

mesurée par la radioactivité du $C^{14}O_2$ expiré au cours du temps. L'interprétation des résultats obtenus nous a conduit à déterminer le pool du glucose et celui du bicarbonate de rats normaux et de rats néphrotiques ainsi que le métabolisme basal et le quotient respiratoire de ces animaux.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. Production du syndrome néphrotique

Nous avons utilisé dans nos expériences des rats « Sherman » mâles pesant entre 170 et 250 grammes. La néphrose est induite par une ou deux injections intraveineuses à 24 heures d'intervalle de sérum de lapin, néphrotoxique pour le rein de rat, sérum provenant d'un pool préparé selon la méthode de BAXTER et GOODMAN (1956). Les critères de la néphrose sont : l'albuminurie massive, l'ascite, l'œdème sous-cutané, l'hypoalbuminémie et la lactescence du sérum. Les animaux en expérience sont sacrifiés le 6^e jour de la maladie. Pendant ces 6 jours, ils reçoivent de l'aliment « Protector » pour rats contenant en poids : 16,5 % de protéines, 4 % de graisses, 32 % d'hydrates de carbone et des doses adéquates de vitamines. Comme une réduction de l'appétit a été notée chez les rats néphrotiques, certains rats normaux ont reçu, à titre comparatif, la même ration que les néphrotiques (on les appelle rats « isonourris »). Enfin, certains animaux normaux et néphrotiques ont été privés de nourriture 22 heures avant l'expérience (ce sont les rats « à jeûn »).

2. Prélèvements

Le diaphragme est excisé après décapitation, placé immédiatement dans une solution tampon de Krebs-Ringer phosphate, puis séché entre deux feuilles de papier filtre et disséqué de manière à éliminer la partie tendineuse et tout tissu non musculaire.

3. Milieux d'incubation

Chaque hémidiaphragme est placé dans des Erlenmeyer de 25 ml contenant 2 ml de Krebs-Ringer phosphate à pH 7,4 (UMBREIT, 1957) et de l'albumine bovine (0,25 μ mole par fiole). Trois variantes du milieu d'incubation ont été utilisées : le milieu A ne contient pas de glucose, le milieu B contient 20 μ moles de glucose par flacon et le milieu C 20 μ moles d'alpha-glycérophosphate par flacon. Les substances radioactives dont le métabolisme a été étudié sont le palmitate-1-C¹⁴, le glycérol-1-C¹⁴, le glucose-1-C¹⁴, la leucine(U)C¹⁴. Le palmitate est préparé

sous forme de complexe avec l'albumine selon la méthode décrite par NEPTUNE, SUDDUTH et FASH (1959). La radioactivité variait entre 1 et 1,5 μC par flacon.

L'incubation se fait dans un incubateur métabolique de Dubnoff à la température de 37,5°C et pendant une durée de 30 ou de 90 minutes. A la fin de cette incubation, les tissus sont extraits des flacons, rincés quatre fois dans une solution physiologique froide, séchés sur papier filtre et pesés sur une balance à torsion. Les tissus sont ensuite broyés dans un mortier de porcelaine en présence de chloroforme-méthanol (2 : 1) et de sable de mer (Merck) préalablement délipidé. Dans certaines expériences les hémidiaphragmes provenant de dix rats normaux ou de vingt rats néphrotiques ont été rassemblés après l'incubation afin d'obtenir des estimations plus précises de leur contenu en mono-, di- et triglycérides après séparation chromatographique.

4. Procédés d'extraction et déterminations chimiques

La suspension muscle-sable est transférée dans un flacon jaugé avec quatre rinçages du mortier au chloroforme-méthanol (2 : 1) et centrifugée à 4°C (International Centrifuge). Le liquide clair surnageant est transféré dans des tubes rodés bouchés. Deux autres volumes de lavage de la suspension sont, après centrifugation, ajoutés au surnageant. L'extrait lipidique est lavé selon la méthode de FOLCH, LEES et SLOANE STANLEY (1957) au chlorure de sodium à 0,73 %. Des aliquots de la phase chloroformique sont séparés en lipides neutres et en phospholipides par chromatographie sur colonne d'acide silicique Mallinckrodt (BORGSTRÖM, 1952). L'extrait phospholipidique est lavé deux fois de plus pour éliminer tout matériel non lipidique.

Les lipides neutres sont repris dans l'hexane. Un aliquot de la phase hexane est extrait avec de l'alcool en solution alcaline (BORGSTRÖM, 1952) puis repris dans l'hexane. Les acides gras non estérifiés (FFA) sont dosés dans l'hexane selon le procédé de DOLE (1956). Le dosage de la liaison ester de l'acide gras est effectué selon la méthode de RAPPORT et ALONZO (1955) sur des phases hexane ou chloroforme-méthanol. Les glycérides sont hydrolysés selon VAN HANDEL et ZILVERSMIT (1957) et le glycérol est déterminé par le procédé d'HANAHAN et OLLEY (1958).

Dans les expériences avec la leucine- C^{14} (U), les protéines du précipité muscle-sable sont extraites et purifiées par des précipitations successives dans une solution d'acide trichloracétique à 10 %, dans l'alcool absolu, une solution alcool-éther (1 : 1) puis dans l'éther (CHRISTOPHE et WODON,

1963). Le précipité protéique est enfin redissous dans 4 ml d'hydroxyde de soude et décanté après une ultime centrifugation pour éliminer le sable. Deux aliquots de cette solution alcaline sont prélevés, l'un pour la mesure de la radioactivité, l'autre pour la détermination protéique suivant la méthode au biuret de GORNALL, BARDAWILL et DAVID (1949).

Le glycogène musculaire est extrait et hydrolysé selon STADIE, HAUGAARD et MARSH (1951). Le glucose est déterminé au Technicon Autoanalyzer selon une modification (1963) de la méthode d'HOFFMAN (1937).

DOSAGES DANS LE SÉRUM

Le sang est récolté au moment de la décapitation des animaux. Les déterminations suivantes ont été effectuées sur le sérum : protéines totales (GORNALL, BARDAWILL et DAVID, 1949), lipides totaux (BRAGDON, 1951), cholestérol total (SPERRY et WEBB, 1950), phospholipides (STEWART et HENDRY, 1935), acides gras libres non estérifiés (DOLE, 1956), glucose (HOFFMAN, 1937).

L'électrophorèse des protéines sériques a été conduite selon la méthode de GRASSMAN et HANNIG (1952). Les bandes sont colorées au Noir Soudan. L'hématocrite est déterminé dans des tubes capillaires par la microméthode.

5. Chromatographie

a) SUR COUCHE MINCE

Le procédé utilisé est similaire à celui décrit par MANGOLD (1961). Le support est constitué de Silicagel G (Merck). Les lipides neutres sont chromatographiés dans un solvant constitué d'hexane-diéthyl-éther-acide acétique 80 : 20 : 1 (v/v/v). Les esters du cholestérol, les triglycérides, les acides gras libres, les 1,3-diglycérides, le cholestérol libre, les 1,2 diglycérides et les monoglycérides apparaissent bien séparés les uns des autres avec des mobilités aisément reproductibles d'une plaque à l'autre. Les taches sont développées à la vapeur d'iode. Les zones de silicagel colorées sont grattées avec une palette et éluées à travers un papier filtre avec de l'éther ; l'éluat est directement recueilli dans des flacons pour scintillation.

b) SUR COLONNE

La chromatographie sur colonne d'acide silicique a été utilisée selon le procédé de BARRON et HANAHAN (1958) pour l'étude d'extraits d'un

pool de diaphragmes. Toutefois, les colonnes utilisées sont plus étroites, ne contenant que 2 grammes d'acide silicique., la quantité de lipides totaux n'excédant pas 18 mg/g d'acide silicique. La radioactivité est lue dans chaque tube provenant du collecteur de fractions. Ensuite le contenu des tubes correspondant à chaque fraction est mélangé ; le mélange est évaporé dans un évaporateur rotatif et repris dans du chloroforme. Des phases chloroformiques correspondant à chacune des fractions, on prélève des aliquots pour la détermination des acides gras estérifiés, pour les dosages du glycérol et des acides gras libres après hydrolyse préalable et pour la mesure de la radioactivité dans chaque fraction.

En vue de comparer les résultats fournis par la chromatographie sur colonne à ceux fournis par la chromatographie en couche mince, des aliquots provenant de la chromatographie sur colonne sont évaporés et chromatographiés sur couche mince. La pureté de chaque fraction a ainsi pu être confirmée. La corrélation entre la radioactivité dans la chromatographie sur colonne et celle sur couche mince est excellente pour les fractions triglycérides et diglycérides. Par contre, les monoglycérides paraissent un peu surestimés dans la chromatographie sur couche mince. Cette différence peut être attribuée à la petite quantité de matériel utilisé dans la couche mince.

6. Observations manométriques

Les diaphragmes utilisés lors des expériences de respiration tissulaire sont coupés en quatre fragments égaux pesant environ 50 mg. Deux fragments servent aux mesures du CO_2 contenu dans le tissu et dans le milieu au temps 0 de l'incubation, les deux autres aux mesures effectuées après 60 minutes d'incubation en présence du substrat que l'on désirait étudier. Les fragments sont introduits dans des flacons de Dixon-Keilin raccordés à l'appareil de Warburg (fig. 1). Le bras latéral du flacon (B) contient 0,3 ml d'Hcl 3 N et la cupule du robinet inférieur (C) 200 μl de NaOH 2,5 N. La chambre d'incubation (A) contient 3 ml de tampon de Krebs-Ringer phosphate à pH 7,4 sans calcium, avec 0,1 μmole d'albumine bovine et le substrat à étudier (palmitate-1- C^{14} $0,6 \times 10^{-6}$ Mole/flacon, glycérol-1- C^{14} $7,2 \times 10^{-6}$ Mole/flacon ou glucose-1- C^{14} $1,5 \times 10^{-6}$ Mole/flacon). Ce milieu diffère du milieu d'incubation décrit dans le paragraphe 3 des méthodes, par son absence en calcium et par sa faible concentration en albumine bovine. Les effets de l'addition de glucose (1×10^{-2} M) au milieu d'incubation sur l'oxydation du palmitate et du glycérol, ont été étudiés.

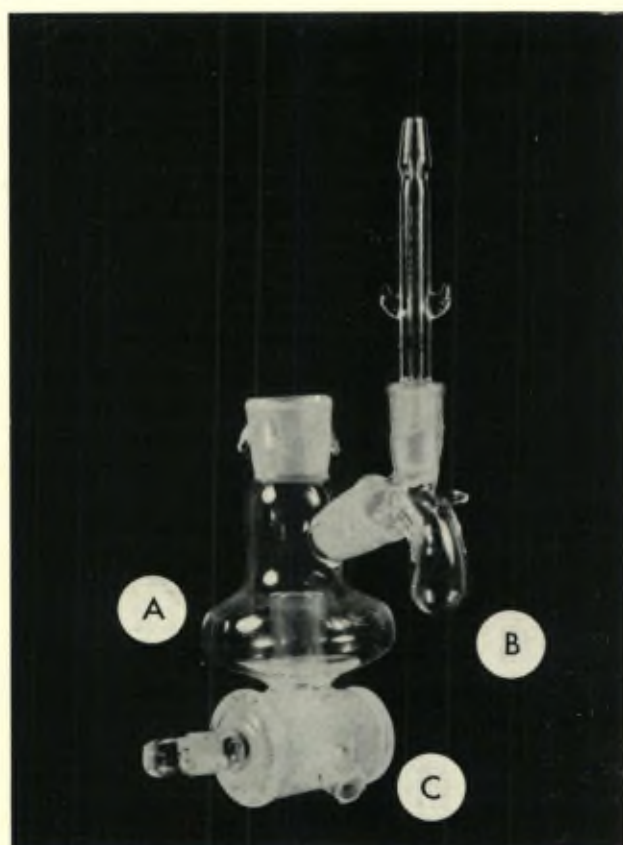


FIG. 1. Flacons de Dixon-Keilin.

A = chambre d'incubation.

B = bras latéral

C = cupule du robinet inférieur

Les flacons de Dixon-Keilin sont placés dans un bain thermostatique à la température de 37°C et oxygénés pendant 5 minutes. Après vingt cinq minutes d'équilibration thermique, l'oxydation est stoppée dans les deux flacons contrôles par l'introduction de l'HCl contenu dans le bras latéral dans la chambre d'incubation. On mesure à ce moment (temps 0 de l'expérience) sur le manomètre le dégagement gazeux provoqué. Celui-ci correspond au CO_2 présent dans le tissu et dans le milieu d'incubation plus le CO_2 dégagé par l'addition d'HCl au substrat ajouté au milieu. Cette dernière quantité n'est importante que lorsque

le substrat est du palmitate. La même manœuvre interrompt la respiration dans les deux flacons expérimentaux après 60 minutes d'incubation.

Dix minutes plus tard, le NaOH (2,5 N) contenu dans la cupule du robinet inférieur est mis en présence de l'atmosphère de la chambre principale. Une période de 45 minutes est nécessaire à la captation complète du CO_2 par la soude. La mesure manométrique permet de déterminer la quantité totale de CO_2 dégagée. Le CO_2 réellement formé pendant les 60 minutes de l'incubation, correspond à la différence entre les quantités de CO_2 mesurées dans les flacons expérimentaux et les flacons témoins. Un aliquot de 100 μl prélevé dans la cupule du robinet inférieur est versé dans un flacon standard contenant un agent gel thixotropique (le Cab-O-Sil) (HARLAN, 1961) et 10 ml de milieu scintillant de Bray.

7. Détermination de la radioactivité

Tous les échantillons sont comptés dans un compteur à scintillation en milieu liquide (Packard Tri-Carb). La radioactivité de la solution alcaline contenant les protéines musculaires est déterminée en pipettant des aliquots d'un ml dans des flacons contenant 10 ml de mélange de BRAY (1960). Un standard interne (acide benzoïque- C^{14}) est utilisé pour éliminer un effet possible de quenching.

Les extraits chloroformiques, chloroforme-méthanol, hexane et éther sont évaporés et repris dans 15 ml d'une solution à 0,5 % de 2,5-diphényloxazole (DPO) dans le toluène.

8. Préparation des chylomicrons

La méthode suivante a été utilisée pour « biosynthétiser » des chylomicrons marqués au C^{14} dans leur fraction acide gras. Le canal thoracique de rats normaux a été cannulé avec des catheters en polyéthylène (PE 50) suivant le procédé de BOLLMAN, CAIN et GRINDLAY (1948). Le chyle a été collecté sous glace pendant la nuit, les rats étant maintenus dans des cages spéciales (BOLLMAN, 1948). Le lendemain matin, ils recevaient par sonde gastrique une dose de 100 microcuries de palmitate-1- C^{14} en solution à parties égales de carbonate de potassium et d'huile d'olive. Le chyle était ensuite recueilli d'heure en heure pendant 10 heures, la première récolte débutant 30 minutes après l'ingestion.

Les chylomicrons de la lymphe sont isolés par ultracentrifugation dans une ultracentrifugeuse Spinco (rotor 40) suivant le procédé décrit par BRAGDON (1958). Leur composition est testée par chromatographie

en couche mince suivant une modification de la méthode de MANGOLD (1961). La préparation du tissu musculaire et les techniques d'incubation ont été décrites plus haut. En présence de chylomicrons, le temps d'incubation a varié de 10 à 105 minutes. Les milieux d'incubation contiennent entre 6,5 et 8,5 μ moles de triglycérides par flacon et entre 0,5 et 1 microcurie par flacon.

9. Rapport de tissu humide à tissu sec

Des échantillons de diaphragmes provenant de rats normaux et néphrotiques ont été chauffés dans un four à 90°C pendant 15 heures. A ce moment, leur poids est constant. Le contenu en eau du tissu est calculé par différence. Le rapport poids humide à poids sec du muscle néphrotique sur poids humide à poids sec du muscle normal est égal à 1,13 pour 40 déterminations. Ce rapport est très voisin de celui de 1,07 obtenu par DRABKIN, MARSH et BRAUN (1962). Ce facteur de correction a été appliqué dans tous les calculs de concentrations des tissus néphrotiques.

10. Détermination du quotient respiratoire

Le rat est anesthésié par une injection intrapéritonéale de Nembutal (0,15 ml = 9 mg). Il est ensuite placé dans une chambre métabolique connectée à un diaféromètre de Noyons en circuit ouvert (modèle Kipp) avec diaphragme adapté pour le rat permettant un débit de 0,83 l/min. On mesure de 1/2 en 1/2 minute la déflexion simultanée pour le CO_2 et l' O_2 . Après correction pour la température ambiante et la pression atmosphérique, on détermine par la formule $\Delta\text{CO}_2/\Delta\text{O}_2$ le quotient respiratoire (QR) et le métabolisme basal (MB) (litres d' O_2 /minute \times nombre de calories par litre d' O_2 /minute).

11. Collection du CO_2 et mesure du C^{14}O_2

Immédiatement après l'injection intraveineuse du produit marqué (palmitate-1- C^{14} , glucose-1- C^{14} ou glucose-6- C^{14}) sous un volume d'un ml, le rat est placé dans une chambre métabolique connectée à un système de captation du CO_2 . Lorsque le traceur utilisé est du bicarbonate-1- C^{14} , l'injection se fait dans la chambre métabolique elle-même afin de rendre négligeable le temps écoulé entre l'injection et la collection de l'air expiré.

Le système de captation est constitué des éléments suivants connectés en série : un flacon contenant de la soude pour enlever le CO_2 de l'air, une chambre métabolique de volume réduit, une pompe à diaphragme aspirante-foulante, un flacon collecteur à verre frité pour obtenir le barbotage de l'air dans un volume de 200 ml de NaOH 0,1 N destinés à capter le CO_2 provenant de la respiration du rat et un flacon de sécurité contenant de la baryte en solution pour éviter la perte du CO_2 qui n'aurait pas été capté dans le flacon collecteur. La solution de NaOH était changée exactement à 5, 10, 15, 20, 30, 45, 60, 90, 120, 150, 180, 210, 240, 300, 360, 420 minutes après l'administration IV du produit marqué. La quantité de CO_2 formée était déterminée dans des aliquots de 10 ml de chaque flacon collecteur par titration avec de l' H_2SO_4 0,1 N jusqu'à un point final avec la phénolphthaléine. La radioactivité est mesurée en plaçant des aliquots d'un ml de la solution alcaline dans des flacons contenant 10 ml de mélange de Bray. Le blanc consistait en 0,1 N NaOH. Le comptage se faisait dans un compteur à scintillation liquide de type Packard (efficience 60 %).

12. Détermination de l'espace et du pool glucose

La carotide de rats anesthésiés au nembutal par voie péritonéale a été cathétérisée selon la méthode décrite par WANG (1959) avec un catheter (50 PE). 3,3 μC de glucose-1- C^{14} contenue dans un volume de 0,2 ml ont été injectés dans la veine de la queue. Un aliquot de $\pm 0,1$ ml de sang a été prélevé dans la carotide toutes les 3 minutes pendant les 11 premières minutes. Le sang était hémolysé dans 2,9 ml d'eau distillée et déprotéiné selon la méthode de Somogyi (HAWK, OSER et SUMMERSON, 1949). Après filtration sur papier filtre, on détermine sur le filtrat la radioactivité du glucose en plaçant un aliquot d'un ml dans des flacons contenant 10 ml de mélange de Bray. Pendant ces 11 minutes, il n'y a guère de carbone marqué ailleurs que dans le glucose (BAKER, SHIPLEY, CLARK et INCEFY, 1959).

Cinq prélèvements sanguins d'environ 0,2 ml ont été effectués entre 11 et 40 minutes après l'injection. Ces échantillons de sang hépariné ont été déprotéinés selon le procédé de Somogyi. La séparation du glucose et de ses dérivés acides a été faite de la manière suivante : le filtrat de déprotéination a été passé à travers une colonne de 0,1 g de résine Dowex 1200/400 Mesh \times 8. La résine avait été préalablement conditionnée par le passage de 1 ml de CO_3Na_2 1 N puis d'eau distillée jusqu'à obtention d'un pH de 7,0. Ce procédé (modification de la méthode

de GAITONDE, MARCHI et RICHTER, 1964) retenait complètement le matériel acide et seul le glucose filtrait. Un aliquot de ce filtrat était analysé pour sa radioactivité. La différence entre la radioactivité du sang total et celle obtenue après filtration sur résine correspondait à la radioactivité contenue dans les acides dérivés du métabolisme hydrocarboné.

13. Statistique

Les méthodes statistiques utilisées ont été soit le Student's test (LISON, 1958), soit l'analyse de la variance (SNEDECOR, 1946). Toute valeur de P dépassant 0,05 est considérée comme non significative.

14. Méthode mathématique

Deux possibilités s'offraient pour différencier, grâce à l'analyse mathématique des courbes d'activité spécifique du $C^{14}O_2$, le comportement des rats normaux et des rats néphrotiques après injection de palmitate ou de glucose marqués en C^{14} .

La première était de comparer les modèles compartimentaux rendant compte des résultats expérimentaux ; mais nous connaissons assez la complexité des transformations biochimiques d'un substrat comprenant du carbone pour savoir à quel point un tel modèle comporterait un grand nombre de compartiments dont les rapports entre eux sont encore assez mal connus. Cette difficulté s'aggrave encore du fait de la nature enzymatique des réactions considérées.

La seconde consiste à caractériser d'une manière globale les deux catégories d'individus par la comparaison de grandeurs telles que le temps de transit moyen, le débit moyen et la masse en mouvement. Cette méthode a l'avantage de cerner les fractions de modèles responsables du comportement différent des rats normaux et des rats néphrotiques.

CALCUL DU DÉBIT

Soit $b(t)$ la fonction de fréquence des temps de transit à travers un système physiologique quelconque. Cette fonction s'appelle aussi réponse impulsionnelle. Si on injecte une molécule marquée, sa trajectoire dans l'espace des réactions physiocochimiques est un événement aléatoire caractérisé par un temps de transit auquel nous attachons la fonction de probabilité $b(t)$. Si, par contre, nous injectons simultanément

ment un grand nombre de molécules marquées (q_0), la distribution des particules émergeant du système entre l'instant t et $t + dt$ nous sera donné par l'expression :

$$q_0 b(t) dt$$

La quantité de traceur quittant le système entre l'instant t et l'instant $t + dt$ est aussi exprimée par le produit du débit [$\rho(t)$] par la concentration en molécules marquées, c'est-à-dire l'activité spécifique à la sortie du système [$a(t)dt$]. Cette quantité est donnée par l'équation suivante :

$$q_0 b(t) dt = \rho(t) \cdot a(t) dt \quad (1)$$

q_0 = dose injectée ;

ρ = débit en $\mu\text{moles/min}$.

Les hypothèses de la méthodologie des traceurs, linéarité, causalité, stationnarité, nous conduisent à considérer les cas où le flux de substance est indépendant du temps

$$\rho(t) = \text{constante} \quad (2)$$

La somme des probabilités de sortie des traceurs est égale à l'unité sauf s'il existe des sorties différentes de celles investiguées ou en cas de rétention dans le système, auquel cas elle est inférieure à 1

$$\int_0^{\infty} b(t) dt = \alpha \leq 1 \quad (3)$$

Si nous additionnons les sorties de molécules marquées, l'équation (1) devient

$$q_0 = \rho \int_0^{\infty} a(t) dt \quad (4)$$

et nous obtenons une variante de l'équation de Stewart-Hamilton (HAMILTON, MOORE, KINSMAN et SPURLING, 1932 ; SHEPPARD, 1962).

$$\rho = \frac{\alpha q_0}{\int_0^{\infty} a(t) dt} \quad (\text{MT}^{-1}) \quad (5)$$

CALCUL DE LA MASSE EN MOUVEMENT ET DU TEMPS DE TRANSIT

Selon la démonstration de ZIERLER (1963), si on considère la trajectoire de chaque particule marquée dans l'espace physico-biochimique on peut lui associer un temps de transit au travers du système. La collection des particules marquées ayant un temps de transit entre t et $t + dt$ constitue la fraction $\rho b(t) dt$ du flux total. Chaque particule marquée est représentative de la population des molécules qui ont le même temps de transit et qui sont réparties aléatoirement dans un tube infinitésimal centré sur sa trajectoire. Par suite la masse de molécules présentes dans ce volume est

$$dM = t \rho b(t) dt \quad (6)$$

dont l'intégration donne

$$M = \rho \int_0^{\infty} t b(t) dt \quad (7)$$

$$\int_0^{\infty} t b(t) dt = \bar{t} \quad (8)$$

définit le temps moyen de transit.

Expérimentalement nous le calculerons par l'expression

$$\bar{t} = \frac{\int_0^{\infty} t a(t) dt}{\int_0^{\infty} a(t) dt} \quad (9)$$

Par définition, la transformation de Laplace d'une fonction $f(t)$ s'écrit

$$Lf(t) = F(p) = \int_0^{\infty} f(t) e^{-pt} dt$$

où p = variable de Laplace.

Si A est la transformée de Laplace de l'activité spécifique, on peut alors substituer

$$-[dA/dp]_{p=0} \quad \text{à} \quad \int_0^{\infty} t a(t) dt$$

et

$$A_{p=0} \quad \text{à} \quad \int_0^{\infty} a(t) dt$$

Le temps de transit moyen s'exprime alors suivant la formule utilisée par STEPHENSON (1960) :

$$\bar{t} = \frac{-[dA/dp]_{p=0}}{A_{p=0}} .$$

PROPRIÉTÉ D'ADDITIVITÉ DES TEMPS DE TRANSIT

La seconde équation fondamentale de la méthodologie des traceurs est l'équation dite de composition

$$\gamma_b(t) = \int_0^t \gamma_a(t - \theta) b(\theta) d\theta \quad (10)$$

où $\gamma_a(t)$ est le flux de particules entrant dans le système, $\gamma_b(t)$ le flux de particules sortant du système et $b(t)$ la réponse impulsionnelle de fonction de fréquence.

En appliquant la transformation de Laplace, on peut montrer que

$$\bar{t}_k = \bar{t}_b = \bar{t}_a . \quad (11)$$

Cette propriété d'additivité des temps de transit résulte du caractère aléatoire des transformations successives et est générale. Elle est exprimée par CRAMER (1963) sous la forme d'un théorème : « la valeur moyenne d'une somme de variables aléatoires est égale à la somme des valeurs moyennes des termes de la somme (à condition que ces derniers existent). ». Il résulte de cette propriété que l'étude globale d'un système

biologique (débit, temps de transit, masse en mouvement) peut être effectuée en injectant le traceur en diverses positions physiques ou états biochimiques en amont du site de prélèvement.

Les formules (5), (7), (8) et (9) ne caractérisent pas la fraction du système biologique dont nous perdons la trace au cours de l'expérience. Cette fraction qui va se perdre pendant un temps infiniment long par rapport au temps de l'expérience ne fournit aucune information mesurable et est exclue de nos calculs.

Dans la discussion de la communication que ZIERLER (1963) a faite au symposium tenu à Oak Ridge, il apparaît que les notions de masse et de volume des systèmes ne dépendent dans la formulation mathématique que des dimensions des débits. Si le système est caractérisé par une entrée et une sortie (sans source ni fuite) la masse calculée est limitée par les sites d'injection et de prélèvement. Si par contre, le système est caractérisé par plusieurs entrées ou plusieurs sorties, les masses en mouvement calculées englobent toutes celles caractérisées par la même fonction de fréquence. Si comme dans le cas du CO_2 nous admettons qu'il n'existe qu'une voie d'excrétion, la masse calculée est déterminée à partir d'une position arbitraire en amont dans le flux.

CALCUL PAR AJUSTEMENT MULTIEXPONENTIEL

Les calculs des débits, des temps de transit et des masses en mouvement, nécessitent l'estimation de l'intégrale des courbes d'activité spécifique et d'excrétion cumulative. Pour faciliter ce calcul, nous avons choisi d'ajuster préalablement des fonctions théoriques aux données expérimentales. Ces fonctions doivent être continues et tendre vers zéro pour les grandes valeurs des abscisses. Il existe un grand choix de fonctions ayant ces caractéristiques et si nous avons choisi des sommes d'exponentielles, il faut reconnaître que notre choix est totalement arbitraire. Nous ne désirons pas interpréter les coefficients de ces exponentielles en terme de la théorie des compartiments. Comme nous l'avons déjà laissé entendre, le système physiologique considéré est d'une telle complexité qu'il faudrait décomposer les courbes expérimentales en un très grand nombre d'exponentielles ce qui est incompatible avec la précision des données. En outre, nous nous trouvons en présence de réactions biochimiques ne s'exprimant pas par des équations linéaires. A titre d'exemple, les données expérimentales du groupe de rats normaux ayant subi une injection de glucose-1- C^{14} ont été ajustées à des sommes de deux et quatre exponentielles avec des succès comparables (tableau I).

TABLEAU I

Résultat des ajustements de deux et quatre exponentielles aux données expérimentales (activités spécifiques de $C^{14}O_2$) du groupe de rats normaux ayant subi une injection de glucose-1- C^{14}

$$(y = A e^{-\lambda t})$$

	A_1	λ_1	ε (*)	$\int_0^\infty a(t) dt$ (**)	\bar{t}
2 expon.	+ 59,94 — 65,64	0,797 3,935	14,04	58,5	153 min.
4 expon.	+ 52,37 + 30,82 — 35,84 — 52,43	1,435 0,618 3,290 3,331	10,42	59,7	164 min.

(*) $\varepsilon = \sum (y_1 \text{ exper.} - y_1 \text{ extim.})^2$

(**) Surface sous la courbe.

PREMIÈRE PARTIE



EXPÉRIENCES IN VITRO

CHAPITRE I

CRITÈRES DE LA NÉPHROSE VALEURS SANGUINES

1. Protéines

La concentration sérique en protéines totales (en g %) a été déterminée chez 37 rats normaux et chez 41 rats néphrotiques (tableaux II et III). Elle est significativement abaissée chez le rat néphrotique ($4,22 \pm 0,13$ g/100 contre $6,22 \pm 0,05$ g/100 ml chez le rat normal). La séparation des albumines et globulines par électrophorèse sur papier a été effectuée sur ces mêmes rats. On constate que la teneur en sérum-albumine chez le rat néphrotique est fortement abaissée (pratiquement au 1/6^e de sa valeur normale : 0,55 contre 3,18 g %). La teneur en globulines beta et gamma est également réduite à près du 1/3 de sa valeur normale (0,40 contre 1,36 g %). Par contre le taux des alpha₁-globulines fait plus que doubler (2,72 contre 1,24 g %), l'augmentation des alpha₂-globulines étant nettement moins sensible en électrophorèse sur papier (0,56 contre 0,44 g %). L'électrophorèse sur gel d'amidon montre un déplacement du pic des alpha₁-globulines vers les alpha₂-globulines. Ce tracé électrophorétique est très comparable à celui observé chez les sujets humains atteints de syndrome néphrotique (HARDWICKE, 1954 ; JENSEN, 1967).

2. Lipides

Dans les tableaux IV et V sont donnés les taux sanguins des lipides totaux, du cholestérol total, des phospholipides et des glycérides (ceux-ci calculés par différence), déterminés chez 54 rats normaux et 56 rats néphrotiques. Les lipides totaux chez les rats néphrotiques sont considérablement augmentés (1669 mg % contre 257 mg % chez les rats normaux). Cette hyperlipémie provient de l'augmentation de toutes les fractions : cholestérol, phospholipides et glycérides. La lactescence du

TABLEAU II
Protéines du sang du rat normal
(g/100 ml)

Protéines totales	Albu- mine	α_1 - globulines	α_2 - globulines	β - globulines	γ - globulines
5,47	2,64	1,09	0,40	0,77	0,58
5,74	2,76	1,09	0,46	0,76	0,66
5,46	2,60	1,08	0,58	0,73	0,48
5,76	2,93	1,06	0,61	0,73	0,43
6,08	2,85	1,26	0,52	0,99	0,46
6,27	2,85	1,47	0,50	0,92	0,52
6,02	3,00	1,24	0,45	0,69	0,65
6,75	3,09	1,58	0,38	1,00	0,68
6,27	3,17	1,20	0,43	0,88	0,59
6,11	3,09	1,28	0,46	0,67	0,61
6,14	3,13	1,28	0,39	0,88	0,46
6,08	3,22	1,13	0,46	0,86	0,41
6,27	3,30	1,05	0,60	0,84	0,48
6,46	3,60	1,00	0,50	0,99	0,37
6,35	3,42	1,16	0,45	0,79	0,53
6,62	3,49	1,09	0,56	0,83	0,66
6,40	3,37	1,07	0,54	0,80	0,63
6,60	3,54	1,38	0,36	0,81	0,50
6,32	3,07	1,33	0,37	0,90	0,65
6,08	3,26	1,22	0,27	0,89	0,44
6,57	3,09	1,43	0,43	0,97	0,64
6,43	3,08	1,38	0,44	0,87	0,66
6,63	3,25	1,13	0,40	1,15	0,70
6,20	3,20	1,46	0,32	0,82	0,40
6,62	3,37	1,51	0,44	0,89	0,40
6,02	3,12	1,41	0,34	0,73	0,41
6,22	3,10	1,30	0,50	0,75	0,57
5,79	2,76	1,35	0,41	0,71	0,56
6,58	3,43	1,41	0,32	0,86	0,56
5,89	3,25	0,91	0,52	0,78	0,44
6,23	3,17	1,24	0,44	0,84	0,54
6,08	3,34	1,20	0,34	0,67	0,52
6,55	3,65	1,30	0,36	0,72	0,51
6,20	3,44	1,00	0,47	0,79	0,48
6,32	3,41	1,31	0,32	0,71	0,54
6,45	3,24	1,20	0,48	0,92	0,61
6,14	3,28	1,18	0,49	0,79	0,40
6,22 \pm 0,05 <i>n</i> = 37	3,18 \pm 0,04 <i>n</i> = 37	1,24 \pm 0,03 <i>n</i> = 37	0,44 \pm 0,01 <i>n</i> = 37	0,83 \pm 0,02 <i>n</i> = 37	0,53 \pm 0,02 <i>n</i> = 37

TABLEAU III

Protéines du sang de rat néphrotique
(g/100 ml)

Protéines totales	Albumine	α_1 - globulines	α_2 - globulines	$\beta + \gamma$ - globulines
4,80	0,44	2,62	0,93	0,81
5,30	0,41	2,90	0,91	1,08
3,02	0,33	1,76	0,46	0,46
4,10	0,52	2,38	0,56	0,64
4,13	0,55	2,83	0,43	0,32
4,37	0,39	2,91	0,62	0,50
4,77	0,48	3,26	0,53	0,48
4,61	0,54	2,97	0,59	0,51
4,06	0,55	2,73	0,58	0,27
3,86	0,44	2,79	0,42	0,20
3,47	0,41	2,28	0,53	0,45
3,84	0,37	2,83	0,29	0,35
4,35	0,73	2,82	0,46	0,33
6,40	0,33	4,86	0,52	0,68
4,45	0,61	3,24	0,50	0,10
5,21	0,21	3,96	0,59	0,45
3,43	0,29	2,57	0,27	0,29
3,98	0,71	2,46	0,38	0,43
4,45	0,87	2,22	0,51	0,84
5,73	1,96	2,52	0,87	0,38
4,05	0,50	2,67	0,58	0,30
4,51	0,50	2,85	0,75	0,41
3,07	0,22	1,99	0,44	0,43
4,54	1,17	2,06	0,75	0,56
4,93	0,66	3,08	0,62	0,57
3,26	0,36	2,09	0,47	0,35
3,52	0,85	1,69	0,52	0,45
3,68	0,67	2,21	0,60	0,20
6,27	2,56	2,60	0,41	0,70
4,36	0,45	2,91	0,62	0,38
3,76	0,29	2,41	0,79	0,27
4,02	0,40	2,61	0,80	0,21
4,31	0,37	3,25	0,55	0,14

TABLEAU III (Suite)

Protéines totales	Albumine	α_1 - globulines	α_2 - globulines	$\beta + \gamma$ - globulines
3,26	0,22	2,20	0,42	0,41
3,33	0,18	2,78	0,17	0,20
3,09	0,15	2,10	0,62	0,22
3,94	0,30	2,58	0,80	0,25
4,49	0,37	3,28	0,59	0,25
3,08	0,46	2,20	0,27	0,16
4,49	0,37	3,28	0,59	0,25
4,92	0,41	3,60	0,67	0,24
$4,22 \pm 0,13$ $n = 41$	$0,55 \pm 0,07$ $n = 41$	$2,72 \pm 0,09$ $n = 41$	$0,56 \pm 0,03$ $n = 41$	$0,40 \pm 0,03$ $n = 41$

TABLEAU IV

Lipides du sang de rats normaux
(mg/100 ml)

Lipides totaux	Cholestérol total	Phospholipides	Glycérides
270	56	118	96
318	55	128	135
243	46	96	101
217	48	107	62
167	41	90	36
197	51	103	43
237	45	115	77
234	41	122	71
231	54	97	80
183	27	95	61
249	36	122	91
308	45	125	138

TABLEAU IV (Suite)

Lipides totaux	Cholestérol total	Phospholipides	Glycérides
246	41	103	102
234	44	119	71
242	42	98	101
277	38	126	113
281	51	104	126
284	55	78	151
273	42	97	134
229	40	100	89
253	40	108	105
271	44	108	119
345	51	112	182
249	54	120	76
204	21	72	111
352	36	110	206
334	46	93	195
312	45	95	172
260	42	108	110
257	50	93	114
242	30	112	100
257	42	115	100
265	39	134	92
254	40	115	99
241	24	121	96
234	30	108	96
307	44	134	129
371	57	194	120
340	46	130	164
354	38	123	193
291	32	113	146
207	21	124	62
226	31	130	65
340	64	117	159
206	50	117	39
170	22	106	42

TABLEAU IV (Suite)

Lipides totaux	Cholestérol total	Phospholipides	Glycérides
222	44	125	53
219	64	100	55
183	48	105	30
207	37	125	45
194	41	127	26
394	37	159	198
267	44	130	93
164	24	86	54
257 ± 54	42 ± 10	113 ± 19	102 ± 25
$n = 54$	$n = 54$	$n = 54$	$n = 54$

TABLEAU V

Lipides du sang de rats néphrotiques
(mg/100 ml)

Lipides totaux	Cholestérol total	Phospholipides	Glycérides
2.115	219	537	1.359
2.302	292	612	1.398
1.794	306	513	975
1.248	219	467	562
1.364	217	501	546
1.100	187	323	590
1.988	278	638	1.072
1.895	344	520	1.031
1.513	325	471	717
2.027	377	639	1.009
998	200	322	476
1.318	270	399	649
1.520	294	433	793
1.131	222	396	513
1.895	350	559	986

TABLEAU V (Suite)

Lipides totaux	Cholestérol total	Phospholipides	Glycérides
1.988	336	501	1.151
1.076	225	339	512
1.902	375	423	1.104
1.388	268	437	683
1.351	289	500	562
1.017	212	417	388
1.251	301	404	546
1.403	265	434	704
1.754	297	508	949
1.450	326	468	656
1.111	273	413	425
1.333	273	486	574
1.048	153	372	523
1.540	—	499	—
1.150	—	459	—
1.210	—	416	—
1.920	—	523	—
1.405	336	488	581
1.498	309	464	725
1.638	371	498	769
1.415	372	424	629
2.308	315	650	1.343
1.996	169	480	1.333
2.012	186	624	1.202
2.620	267	639	1.614
1.075	110	300	665
1.532	165	405	962
2.281	290	696	1.295
1.686	123	467	1.096
2.959	282	741	1.936
2.073	287	685	1.101
1.855	150	700	1.005
1.232	272	588	371

TABLEAU V (Suite)

Lipides totaux	Cholestérol total	Phospholipides	Glycérides
1.013	197	535	281
2.340	413	759	1.168
1.590	263	632	695
[pool de 5 animaux]			
2.163	332	588	1.343
1.669 ± 62	274 ± 10	512 ± 15	903 ± 52
n = 56	n = 52	n = 56	n = 52

TABLEAU VI
FFA du sérum du rat
(en mEq/l)

Normaux	Néphrotiques	Isonourris
0,57	0,51	
0,71	0,45	
0,64	0,48	
0,57	0,48	
0,45	0,53	
0,42	0,57	
0,50		
0,45	0,43	0,70
0,45	0,54	0,56
0,47	0,56	0,53
0,50	0,56	0,60
0,58	0,57	0,55
0,59		0,36
0,53	0,52	0,54
0,63	0,55	0,59
0,54	0,50	0,58
	0,63	0,58

sérum de la plupart des rats néphrotiques même à jeûn correspond à sa teneur élevée en glycérides (en moyenne 903 mg %).

3. Acides gras non estérifiés (FFA) (Tableau VI)

Le taux des acides gras non estérifiés (déterminés sur 20 sérums normaux $(0,52 \pm 0,018 \text{ mEq/l})$ n'est pas différent de celui observé en moyenne chez 25 rats néphrotiques $(0,51 \pm 0,013 \text{ mEq/l})$. Les mêmes valeurs sont également observées pour les 15 sérums de rats normaux « isonourris » $(0,57 \pm 0,02 \text{ mEq/l})$.

4. Glycémie (Tableau VII)

Les rats normaux nourris ad libitum et normaux « isonourris » ont une glycémie nettement plus élevée (140 et 141 mg/100 ml respectivement) que celle des rats néphrotiques (118 mg/100 ml). Cette hypoglycémie du rat néphrotique avait déjà été signalée par d'autres auteurs. Tandis que DRABKIN et MARSH (1955) trouvent des taux de glucose sanguin réduits à 50 % de leur valeur normale, nos résultats se rapprochent davantage de ceux de KALANT, CLAMEN et HOFFMAN (1957).

La constatation d'une glycémie normale chez les rats « isonourris » nous incite à penser que l'hypoglycémie du rat néphrotique ne peut être due à la seule réduction de l'ingestion alimentaire. Elle pourrait en partie s'expliquer par une utilisation accrue de glucose sanguin comme substrat d'énergie en présence d'une réduction importante du glycogène musculaire, notamment (HULTMAN, 1967).

TABLEAU VI (Suite)

Normaux	Néphrotiques	Isonourris
0,43	0,55	
0,40	0,61	
0,52	0,51	
0,53	0,39	
	0,43	0,68
	0,52	0,64
	0,59	0,59
	0,58	0,49
	0,53	0,56
	0,62	
$0,52 \pm 0,018$ $n = 20$	$0,51 \pm 0,013$ $n = 25$	$0,57 \pm 0,02$ $n = 15$
NS		NS

TABLEAU VII

Glycémie du rat
(en mg/100 ml)

Normaux	Néphrotiques	Isonourris
137	114	161
132	90	162
130	123	129
129	90	129
130	108	
140	100	
141		
130	117	134
143	102	120
		127

TABLEAU VII (Suite)

Normaux	Néphrotiques	Isonourris
140	125	155
140	137	165
141	131	177
137		175
138	124	139
138	125	149
144	128	142
	125	125
156	128	
154	99	
141	115	
152	130	
	131	133
	112	122
	118	121
	119	130
	132	128
	115	
140 ± 2	118 ± 3	141 ± 3
$n = 20$	$n = 25$	$n = 20$
NS		
P < 0,001		

CHAPITRE 2

CONCENTRATIONS CHIMIQUES EN LIPIDES PROTEINES ET GLYCOGENES DES DIAPHRAGMES DE RAT NORMAL ET NEPHROTIQUE

Rapport poids humide : poids sec (tableau VIII)

Sachant que l'animal néphrotique présente souvent de l'ascite et un œdème sous-cutané important, on pouvait se demander si le diaphragme néphrotique n'était pas plus hydraté que le diaphragme normal. Le rapport poids humide/poids sec a été étudié dans ce but chez 21 rats normaux et 20 rats néphrotiques. Il était de $4,19 \pm 0,28$ pour les diaphragmes normaux et $4,75 \pm 0,23$ pour les diaphragmes néphrotiques. Le rapport de ces deux valeurs $4,75/4,19$ donne 1,13. Il est très voisin de celui trouvé par DRABKIN et MARSH en 1962 pour le même muscle (1,07). Afin de comparer les teneurs des muscles normaux et néphrotiques en différents composants, nous donnerons tous nos résultats en poids humide, en multipliant les valeurs trouvées chez les animaux néphrotiques par le facteur 1,13 de manière à éliminer les variations résultant du degré d'hydratation différent du tissu musculaire des deux groupes.

Glycogène

Chez l'animal normal, la teneur du muscle en glycogène est naturellement fort influencée par le régime. Lorsque le rat est à jeûn pendant 22 heures, le glycogène tombe au 1/3 de la valeur mesurée chez l'animal nourri. Un même effet de jeûne se retrouve chez le rat néphrotique (tableau IX). Un rat « isonourri » a une teneur musculaire en glycogène égale à celle d'un rat nourri ad libitum. Si l'on compare rats néphrotiques et rats normaux, on constate que le diaphragme du rat néphrotique nourri n'a pas une teneur en glycogène très supérieure à celle de l'animal normal maintenu à jeûn pendant 22 heures. Sa teneur en glycogène est donc très réduite. D'une manière générale, les valeurs de glycogène

TABLEAU VIII
Rapport poids humide / poids sec du diaphragme

Rats normaux	Rats néphrotiques
4,24	4,76
4,14	4,97
	4,62
	4,63
4,16	4,90
4,20	4,84
4,15	5,25
4,15	5,25
4,14	4,60
4,30	4,75
4,19	4,73
4,17	4,70
4,17	4,55
4,20	4,44
	4,94
	5,00
	4,38
	4,51
4,17	4,68
4,13	4,52
4,20	
4,20	
4,33	
3,98	
3,98	
4,37	
4,42	
Moy. $4,19 \pm 0,28$ $n = 21$	Moy. $4,74 \pm 0,23$ $n = 20$
Rapport NEP/NOR = 1,13	

TABLEAU IX
Glycogène du muscle de rat
(mg glucose g)

Rats décapités					Rats anesthésiés
Normal à jeûn	Normal nourri	Normal isonourri	Néphrotique nourri	Néphrotique à jeûn	Normal nourri
56	481	770	195	45	406
48	471	367	254	104	389
76	476	406	262	49	326
117	322	249	179	120	301
111	378	173	119	71	385
125	270	204	192	77	453
104	239	246	115	47	446
84	325	328	190	43	290
89	226	389	182	41	311
82	344	459	165	44	327
79	244	466	170	59	605
96	268	577	107	20	
114	321		257	19	
179	273		204	43	
134	282		259	29	
143	362			45	
117	427			37	
125	368			28	
135	333			34	
140	308			60	
76					
106 ± 7 n = 21	336 ± 18 n = 20	386 ± 49 n = 12	190 ± 13 n = 15	56 ± 6 n = 20	385 ± 28 n = 11
P < 0,001		NS	P < 0,001		
NS					

musculaire que nous obtenons sont comparables à celles données par VERZAR et WENNER (1948), BOWMAN (1953), HANSEN, RUTTER et CRAINE (1952), RUSSEL et BLOOM (1955), HALL (1960), KITS VAN HEIJNINGEN (1957), mais nettement inférieures à celles obtenues par RUSSEL et BLOOM (1955) et KIPNIS et CORI (1957). Comme on pouvait se demander si la décapitation n'avait pas pour effet d'augmenter la glycogénolyse, on a déterminé le glycogène musculaire chez quelques rats anesthésiés à l'éther. Aucune différence notable n'a été notée entre les résultats obtenus par les deux techniques pour les rats normaux nourris.

Une réduction identique du contenu en glycogène a été signalée dans le tissu adipeux (GUTMAN et SHAFRIR, 1963) et le tissu hépatique (MARSH et DRABKIN, 1955) des rats néphrotiques.

Lipides

a) PHOSPHOLIPIDES

La teneur en phospholipides des diaphragmes normaux et néphrotiques a été étudiée chez 12 animaux (soit 12 hémidiaphragmes dans chaque groupe) immédiatement après la décapitation et chez 143 animaux après 90 minutes d'incubation dans un milieu de Krebs-Ringer phosphate contenant ou ne contenant pas de glucose.

1) *Diaphragmes non incubés*

Le taux des phospholipides est identique pour les 12 hémidiaphragmes normaux ($30,8 \pm 0,4$ mg/g de tissu humide) et les 12 hémidiaphragmes néphrotiques étudiés ($30,8 \pm 1,0$ mg/g de tissu humide) (tableau X).

2) *Diaphragmes incubés*

Le taux des phospholipides chez les rats normaux est réduit par le jeûne (8,8 contre 10,0 mg/g). L'addition de glucose (10^{-2} M) au milieu d'incubation ne modifie pas ces valeurs (tableau XI). Chez les rats néphrotiques le taux des phospholipides est également réduit par le jeûne. Dans ce cas non plus l'addition de glucose au milieu d'incubation est sans effet. NEPTUNE, SUDDUTH, FOREMAN et FASH (1960) observaient déjà cette différence de taux des phospholipides sous l'influence du jeûne. De même, on ne trouve pas de différence significative lorsqu'on compare la teneur en phospholipides des diaphragmes de rats normaux « isonourris » et néphrotiques.

TABLEAU X

Glycérides et phospholipides du diaphragme avant incubation
(mg/g)

Glycérides		Phospholipides	
Normaux	Néphrotiques	Normaux	Néphrotiques
8,40	4,10	10,6	10,0
9,50	4,42	10,8	10,9
7,95	2,54	10,0	11,4
7,60	2,45	11,2	11,0
8,05	2,86	11,0	9,3
10,30	3,26	10,3	10,5
7,40	3,32	10,0	9,3
7,25	1,12	11,1	10,0
7,06	1,47	11,8	13,4
8,10	2,17	10,9	12,1
9,50	2,71	10,9	11,3
9,00	4,85	10,6	9,9
12,60	4,20		
11,90	4,90		
10,60	7,10		
Moy. 9,00	3,40	10,7	10,7
$s_m \pm 0,44$	$\pm 0,4$	$\pm 0,14$	$\pm 0,21$
P < 0,001		NS	
n = 15		n = 12	

b) GLYCÉRIDES

Les taux de glycérides de 15 hémidiaphragmes néphrotiques prélevés chez des rats nourris avant l'incubation sont donnés dans le tableau X. Les valeurs obtenues après 90 minutes d'incubation du muscle ne sont pas différentes de celles obtenues par des analyses immédiates ($9,02 \pm 0,44$ avant, contre $8,7 \pm 0,6$ mg/g après incubation pour les rats normaux, et $3,4 \pm 0,4$ avant, contre $3,2 \pm 0,29$ mg/g après incubation pour les rats néphrotiques). Ces résultats sont en contradiction avec ceux de

TABLEAU XI

Phospholipides du muscle après incubation
(mg/g de tissu)

Rats à jeûn				Rats nourris			
Norm.	Néphr.	Norm.	Néphr.	Norm.	Néphr.	Norm.	Néphr.
Série du 18-6-63				Série du 28-10-63		Série du 17-4-63	
8,1	5,1	7,4	7,9	11,3	10,0	10,1	9,2
6,8	6,7	7,6	6,4	12,3	10,5	11,0	8,8
9,2	8,0	7,3	9,3	11,0	9,8	9,5	8,9
8,8	8,7	8,1	8,7	9,7	10,3	9,8	8,5
	7,1		9,8	9,5	10,4	Série du 30-9-63	
	Série du 1-7-63			10,6	9,8	9,9	11,9
10,7	7,2	10,0	7,6	11,2	10,3	11,4	9,3
8,7	7,1	9,0	7,3	12,5	10,1	10,5	13,8
8,1	9,3	6,9	6,7	Série du 25-2-64		11,3	11,3
	Série du 23-7-63			11,4	10,2	13,3	10,7
9,6	7,3	9,1	7,7	9,3	8,2	11,0	10,7
10,9	7,0	8,5	6,7	7,0	10,3	11,7	10,5
7,6	9,5	8,7	10,2	8,8	9,9	12,8	10,5
8,1	9,5	9,3	7,6			Série du 9-11-63	
Série du 14-8-63		Série du 27-1-64				10,3	10,2
9,1	9,0	9,9	8,1			8,7	8,8
9,9	9,7	10,2	9,8			9,1	9,1
9,0	10,1	9,9	10,6			11,3	8,9
9,0	10,7	11,6	12,6			8,6	11,0
9,1	10,1						8,0
7,0	10,8			Série du 26-11-63			
8,8	7,8			8,5	10,6	10,0	9,7
				9,9	9,0	8,4	10,5
				9,2	10,3	9,1	10,6
				6,9	8,6	9,2	10,2
8,8	8,4	8,9	8,6	10,0	9,9	10,3	10,0
±0,26	±0,36	±0,34	±0,43	±0,42	±0,34	±0,30	±0,28
n = 18	n = 19	n = 15	n = 16	n = 16	n = 16	n = 21	n = 22
NS		NS		NS		NS	
P < 0,01				P < 0,02			
P < 0,005				P < 0,02			

NEPTUNE, SUDDUTH, FOREMAN et FASH (1960). Cependant, la courbe obtenue par ces auteurs n'indique aucune différence entre animaux normaux et néphrotiques pendant les 60 premières minutes d'incubation ; ce n'est qu'après ce délai qu'apparaît une différence réelle ; on notera toutefois que les courbes ne sont pas suivies au delà de 80 minutes.

Parallèlement à ce que l'on observe pour les phospholipides, les glycérides du muscle sont influencés chez l'animal normal par l'état nutritionnel du rat, la teneur pour les rats à jeûn étant nettement plus faible (5,1 mg/g) que chez des animaux normalement nourris (8,7 mg/g) (tableau XII). Ces observations confirment celles de FRITZ et KAPLAN (1961) chez des rats normaux. Ces résultats s'opposent à ceux de NEPTUNE, SUDDUTH, FOREMAN et FASH (1960) qui ne trouvent pas de réduction du taux des glycérides après un jeûne de 43 heures, alors qu'ils en observent une pour les phospholipides. La présence de glucose dans le milieu d'incubation à la concentration de 10^{-2} M, ne modifie pas ces valeurs (6,2 à jeûn et 9,4 chez l'animal nourri).

TABLEAU XII
Glycérides du muscle après incubation
(mg/g de tissu)

Rats à jeûn				Rats nourris			
0 Glucose		+ Glucose		0 Glucose		+ Glucose	
Norm.	Néphr.	Norm.	Néphr.	Norm.	Néphr.	Norm.	Néphr.
Série du 10-5-63				Série du 17-4-63			
4,1	1,5	4,5	0,9	7,0	2,7	7,5	2,8
3,3	0,9	4,9	2,1	5,9	2,9	9,7	4,2
4,2	3,0	4,0	1,8	7,7	2,8	5,9	2,1
4,3	0,9	3,5	2,6	5,3	2,1	7,8	3,5
Série du 18-6-63				Série du 30-4-63			
4,1	0,7	3,4	1,9	13,5	4,4	9,8	0,8
4,6	1,7	8,0	2,1	5,4	1,0	8,7	0,9
6,9	0,9	7,4	2,8	8,2	3,8	5,2	1,7
5,5	1,6	7,6	2,8		2,0		5,7
	1,5		0,9		1,5		1,5

TABLEAU XII (Suite)

Rats à jeûn				Rats nourris			
0 Glucose		+ Glucose		0 Glucose		+ Glucose	
Norm.	Néphr.	Norm.	Néphr.	Norm.	Néphr.	Norm.	Néphr.
Série du 1-7-63				Série du 30-9-63			
4,5	2,1	6,0	2,3			5,8	3,8
5,8	1,7	6,6	3,0			7,6	2,4
5,5	2,5	5,9	2,3			8,4	2,6
Série du 23-7-63						5,2	2,5
6,3	0,8	7,4	0,7	Série du 26-11-63			
5,0	0,9	4,2	0,8	9,6	4,6	11,8	4,0
4,8	0,6	7,2	1,9	10,2	4,0	14,3	4,1
6,3	0,6	7,2	1,7	4,5	4,3	9,0	4,4
Série du 14-8-63				9,8	4,7	16,4	5,0
6,6	1,0			Série du 9-12-63			
4,4	3,0			9,4	2,1	12,1	3,5
4,4	1,4			7,6	4,7	14,9	5,4
3,5	1,5			8,8	2,5	5,5	3,3
5,8	3,2			8,2	3,0	11,2	2,3
5,6	2,6			Série du 28-10-63			
3,9	1,1			9,6	5,3		
Série du 27-1-64				11,8	3,4		
		7,5	1,8	9,7	4,0		
		7,1	1,9	9,3	3,5		
		7,5	2,6	8,2	2,4		
		6,9	3,1	13,4	2,3		
				Série du 9-11-63			
						8,5	2,5
						10,4	2,7
						8,9	3,7
						7,0	1,8
						11,3	2,7
						13,2	3,1
moy.							
5,1	1,6	6,2	2,0	8,7	3,2	9,4	3,1
s_m							
$\pm 0,26$	$\pm 0,17$	$\pm 0,36$	$\pm 0,13$	$\pm 0,6$	$\pm 0,29$	$\pm 0,75$	$\pm 0,31$
$n = 22$	$n = 23$	$n = 19$	$n = 20$	$n = 21$	$n = 23$	$n = 25$	$n = 27$
P < 0,001		P < 0,001		P < 0,001		P < 0,001	

L'influence de l'état de nutrition est tout aussi marquée pour le diaphragme de rat néphrotique (1,6 mg/g pour les animaux à jeûn, 3,2 mg/g pour les animaux nourris) mais ici encore le glucose présent dans le milieu n'a pas d'effet sur le taux des glycérides (2,0 mg/g pour les animaux à jeûn et 3,1 mg/g pour les animaux nourris).

La différence entre les valeurs obtenues chez les rats normaux et néphrotiques est très importante puisque le diaphragme du rat normal à jeûn contient plus de glycérides que celui du rat néphrotique nourri et cela malgré la correction effectuée pour la différence d'hydratation du tissu. Le diaphragme de 7 rats « isonourris » contient une quantité de glycérides comprise entre celles trouvées dans les diaphragmes de rats normaux et ceux de rats néphrotiques ($4,08 \pm 0,36$ mg/g de tissu). Le rôle de l'ingestion alimentaire est donc très important pour le taux des glycérides du muscle.

Ce fait a été confirmé chez l'homme ; la concentration chimique des phospholipides du long palmaire n'est guère influencée par l'alimentation (environ 3,0 mg/g) alors que la concentration chimique des glycérides est extrêmement dépendante de l'état nutritionnel du patient (MALMENDIER, 1964).

Séparation des triglycérides, diglycérides et monoglycérides

La séparation des glycérides en tri-, di- et monoglycérides a été effectuée par chromatographie sur colonne d'acide silicique (tableau XIII). Elle a été réalisée sur deux pools de diaphragmes, chacun contenant de 10 à 20 diaphragmes. La teneur des diaphragmes normaux était en moyenne de $7,29 \pm 0,66$ mg/g de triglycérides, $0,86 \pm 0,03$ mg/g de diglycérides et de $0,45 \pm 0,04$ mg/g de monoglycérides ; celle des diaphragmes néphrotiques de $2,94 \pm 0,60$ mg/g pour les triglycérides, $0,42 \pm 0,03$ pour les diglycérides et $0,305 \pm 0,015$ pour les monoglycérides. Le rapport normal néphrotique est donc de 2,51 pour les triglycérides, de 2,05 pour les diglycérides et de 1,55 seulement pour les monoglycérides.

c) ACIDES GRAS NON ESTÉRIFIÉS

1) *Diaphragmes non incubés*

Pour 16 rats normaux, la teneur en FFA du diaphragme était en moyenne de $0,98 \mu\text{Eq/g}$, les animaux étant nourris au moment du prélèvement (tableau XIV). Dans un même nombre d'animaux néphrotiques, cette valeur était de $1,47 \mu\text{Eq/g}$ dans les mêmes conditions.

TABLEAU XIII
Séparation des tri-, di- et monoglycérides du diaphragme

	Rats normaux		Rats néphrotiques	
Triglycérides (mg/g)	Pool 1 (23-10-64) <i>n</i> = 10	6,62 (*)	Pool 2 <i>n</i> = 20	2,34
	Pool 2 (9-11-64) <i>n</i> = 10	7,95	Pool 2 <i>n</i> = 20	3,55
	Moyenne	7,29	Moyenne	2,94
Diglycérides (mg/g)	Pool 1	0,83	Pool 1	0,39
	Pool 2	0,89	Pool 2	0,45
	Moyenne	0,86	Moyenne	0,42
Monoglycérides (mg/g)	Pool 1	0,49	Pool 1	0,34
	Pool 2	0,41	Pool 2	0,27
	Moyenne	0,45	Moyenne	0,305
Glycérides totaux				
	Moyenne	8,60	Moyenne	3,67

(*) Après séparation chromatographique sur colonne d'acide silicique (Barron et Hanahan) d'un extrait choloformique.

Dosage des liaisons esters selon Rapport et Alonzo.

TABLEAU XIV
Acides gras libres du diaphragme de rat normal
($\mu\text{Eq/g}$)

Avant incubation	Après incubation (90 minutes dans KRP)		
	Sans glucose	\pm Glucose (10^{-2} M)	\pm Glycérophos- phate (10^{-2} M)
Série du 16-6-65	Série du 26-11-63	Série du 26-11-63	
0,79	4,54	4,36	
0,84	4,43	4,50	
1,01	4,21	4,73	
1,01	3,78	4,09	
0,96	Série du 9-12-63	Série du 9-12-63	
0,98	4,38	5,38	
Série du 9-8-65	3,92	5,19	
0,95	4,71	5,58	
1,00	4,48	6,11	
0,92	Série du 2-6-64	Série du 2-6-64	
0,75	4,54	4,05	
Série du 18-6-67	6,05	5,18	
1,31	4,02	3,60	
0,95	Série du 20-10-64		Série du 20-10-64
1,20	4,35		6,42
0,92	6,55		6,13
1,23	3,98		6,00
0,96	6,16		7,15
	Série du 8-2-65	Série du 8-2-65	5,11
	(pool de 4 rats)	(pool de 4 rats)	
	4,05	4,95	
	Série du 23-2-65		
	(pool de 4 rats)		
	5,18		
Moy. $0,98 \pm 0,04$ $n = 16$	Moy. $4,65 \pm 0,16$ $n = 23$	Moy. $4,84 \pm 0,17$ $n = 15$	Moy. $6,16 \pm 0,33$ $n = 5$
P < 0,001		P < 0,001	
NS			

d'expérience (tableau XV). La différence entre les deux groupes était nettement significative ($P < 0,001$).

2) *Diaphragmes incubés pendant 90 minutes dans du Krebs-Ringer phosphate*

Les diaphragmes incubés provenaient d'animaux normalement nourris jusqu'au moment du prélèvement. La teneur moyenne en FFA de 15 diaphragmes analysés séparément et de deux pools de 4 diaphragmes prélevés chez des animaux normaux était de $4,65 \mu\text{Eq}$ lorsque le milieu d'incubation ne contenait pas de glucose ; celle de 11 diaphragmes analysés séparément et d'un pool de 4 muscles était de $4,84 \mu\text{Eq}$ lorsque le milieu d'incubation contenait du glucose (tableau XIV). La présence de glycérophosphate dans le milieu augmentait la teneur en FFA des muscles.

Lorsque les muscles provenaient d'animaux néphrotiques, la teneur en FFA des diaphragmes incubés était de $5,24 \mu\text{Eq}$ en l'absence de glucose dans le milieu, de $5,16 \mu\text{Eq}$ en présence de glucose dans le milieu et de $5,17 \mu\text{Eq}$ en présence de glycérophosphate (tableau XV).

Ces résultats conduisent à trois conclusions :

- 1° La teneur en FFA du diaphragme normal non incubé est augmentée chez le rat néphrotique par rapport au normal.
- 2° L'incubation a pour effet d'augmenter tant chez le normal que chez le néphrotique la teneur en FFA du diaphragme chez des animaux normalement nourris jusqu'au moment du prélèvement ; cette augmentation résulte de l'hydrolyse des glycérides intratissulaires durant la période d'incubation.
- 3° L'addition de glucose au milieu d'incubation ne modifie pas significativement les résultats obtenus dans chaque groupe mais la différence qui se manifestait entre animaux normaux et animaux néphrotiques, lorsque l'incubation se faisait en l'absence de glucose disparaît par l'addition de glucose ou de glycérophosphate au milieu d'incubation. On sait que le glucose a pour effet de réduire l'hydrolyse et de favoriser l'utilisation des acides gras pour la synthèse glycéridique.

Protéines

La méthode utilisée ne permet d'obtenir qu'une évaluation globale du contenu protidique des diaphragmes de rats normaux et néphrotiques. L'identité des résultats obtenus dans les deux groupes n'exclut pas des différences qualitatives des divers types de protéines musculaires. Le tableau XVI donne les valeurs individuelles de chaque série d'animaux.

TABLEAU XV

Acides gras libres du diaphragme de rat néphrotique
($\mu\text{Eq/g}$)

Avant incubation	Après incubation (90 minutes dans KRP)		
	Sans glucose	+ Glucose (10 ⁻² M)	+ Glycérophos- phate (10 ⁻² M)
Série du 16-6-65	Série du 26-11-63	Série du 26-11-63	
1,41	4,04	5,62	
1,28	5,71	4,16	
1,23	4,87	5,08	
1,39	5,17	5,40	
1,39	Série du 9-12-63	Série du 9-12-63	
Série du 9-8-65	4,15	4,94	
1,29	6,23	5,59	
1,64	5,23	4,85	
2,08	4,71	5,82	
1,78	Série du 2-6-64	Série du 2-6-64	
1,47	4,10	5,34	
Série du 18-6-67	5,42	5,36	
1,25	6,65	5,18	
1,38	Série du 29-6-64		
1,43	5,98		
1,43	5,15		
1,16	Série du 20-10-64		Série du 20-10-64
1,31	4,88		6,30
	5,35		5,34
	5,41		4,71
	4,04		5,66
	Série du 8-2-65	Série du 8-2-65	3,82
	(pool de 4 rats)	(pool de 4 rats)	
	6,05	5,02	
	Série du 23-2-65		
	(pool de 4 rats)		
	4,98		
Moy. 1,47 ± 0,07 n = 16	Moy. 5,25 ± 0,15 n = 25	Moy. 5,16 ± 0,10 n = 15	Moy. 5,17 ± 0,42 n = 5
P < 0,001		NS	
NS			

TABLEAU XVI

Protéines du muscle (*) (diaphragme de rat)
(en mg/g)

Rats normaux	Rats néphrotiques
230	232
235	209
240	228
215	325
252	297
236	206
268	206
234	252
	273
	222
258	260
272	245
252	250
237	219
262	204
269	288
264	215
249	237
241	213
291	235
251	247
239	242
262	267
253	263
223	254
219	264
240	263
225	262
224	253
223	207
234	202

TABLEAU XVI (Suite)

Rats normaux	Rats néphrotiques
254	272
238	246
220	260
218	251
246	273
228	232
245	269
264	288
249	262
219	274
266	231
238	249
260	271
263	267
252	261
242	252
271	269
265	265
292	262
270	253
Moy. $247 \pm 2,7$	Moy. $249 \pm 3,6$
NS	
$n = 49$	$n = 51$

(*) Le facteur de correction de 1,13 a été appliqué pour les valeurs obtenues chez les rats néphrotiques afin de ramener à un même degré d'hydratation.

CHAPITRE 3

INCUBATION DE DIAPHRAGMES DE RATS NORMAUX ET NÉPHROTQUES EN PRÉSENCE DE DIVERS SUBSTRATS

1. En présence de palmitate

Le tableau XVII montre les résultats d'une expérience type d'incubation de diaphragme en présence de palmitate-1-C¹⁴. Dix hémidiaphragmes provenant de 5 rats normaux (1-2-3-4-9) et dix hémidiaphragmes provenant de 5 rats néphrotiques (5-6-7-8-10) sont incubés soit en présence d'un milieu A contenant de l'albumine, du palmitate marqué et du Krebs-Ringer phosphate (1A-2A-3A-4A-5A-6A-7A-8A) soit en présence du même milieu auquel on a ajouté du glycérophosphate de Na (0,01 M), milieu B (1B-2B-3B-4B-5B-6B-7B-8B-9B-10B).

TABLEAU XVII

Effet du glycérophosphate sur l'incorporation du palmitate

Rats nourris

Incubation de 90 minutes au Dubnoff 37,5°C (2 ml par flacon)

Milieu d'incubation

A		B	
2	ml d'eau distillée	2,4	ml de glycérophosphate
0,40	ml albumine 100 mg/ml	0,72	ml albumine 100 mg/ml
5	ml palmitate (*)	6	ml palmitate (*)
	KRP ad 20 ml		KRP ad 24 ml
<hr/>		<hr/>	
20,00 ml		24,00 ml	

DL alpha-glycérophosphate de Na. $6\text{H}_2\text{O}$ (PM 324,14) : solution 0,1 molaire.
Acide palmitique (PM 256).

1 ml d'acide palmitique- 1-C^{14} (0,138 mg) + 3,67 mg d'acide palmitique BDH recristallisé sont utilisés sous forme de sel sodique (méthode de Baxter et Goodman) ; repris dans 12 ml d'eau distillée. Pour le milieu A, 5 ml de la solution sont portés à 20 ml de milieu dont 2 ml (0,62 μmoles) sont introduits dans chaque Erlenmeyer pour l'incubation.

I.

Poids des rats normaux	Poids humide des hémidiaphragmes normaux		Poids des rats néphrotiques	Poids des hémidiaphragmes néphrotiques	
180 g	1 A	146 mg	185 g	5 A	103 gm
	B	122		B	92
195 g	2 A	117	180 g	6 A	88
	B	128		B	101
195 g	3 A	152	175 g	7 A	93
	B	100		B	107
190 g	4 A	118	185 g	8 A	110
	B	140		B	127
185 g	9 B	300 (*)	185 g	10 B	220 (*)

II. Radioactivité des milieux d'incubation (prise 0,5 ml — lect. 0,5 min.)

		Lect. fen. rouge	Lect. fen. verte	CPM fen. rouge	Net CPM fen. rouge	Net CPM dans milieu après incubation
Radioactivité du milieu ne contenant pas de tissu (MIA)						
	MIA	83.955	56.729	167.910	167.874	671.496
Incubation dans le milieu A						
Normaux	1 A	71.419	45.915	142.838	142.802	571.208
	2 A	74.540	46.843	149.080	149.044	596.176
	3 A	73.030	46.314	146.060	146.024	584.096
	4 A	74.465	46.316	148.930	148.894	595.576
Néphrot.	5 A	79.184	50.028	158.368	158.332	633.328
	6 A	79.926	52.471	159.952	159.816	639.264
	7 A	81.457	53.158	162.914	162.878	651.512
	8 A	80.018	51.791	160.036	160.000	640.000

(*) Les diaphragmes entiers ont été utilisés dans cette expérience.

		Incubation dans le milieu B				
Normaux	1 B	74.666	48.341	149.332	149.296	597.184
	2 B	74.180	49.101	148.350	148.324	592.296
	3 B	78.042	48.916	156.084	156.048	624.192
	4 B	75.283	48.946	150.568	150.536	602.120
	9 B	77.102	49.626	154.204	154.170	616.680
Néphrot.	5 B	79.684	50.762	159.368	159.332	637.328
	6 B	79.789	50.931	159.578	159.542	638.168
	7 B	79.461	51.955	158.922	158.886	635.544
	8 B	82.917	54.670	165.834	165.798	663.184
	10 B	80.205	52.525	160.410	160.374	641.496

Radioactivité par μ mole : $670.000 : 620 = 1.080$ CPM

III. Radioactivité contenue dans les lipides totaux du muscle (mode d'extraction : voir méthodes) volume de l'extrait 18 ml — prise 1 ml.

		CPM fen. rouge	CPM fen. verte	Net CPM fen. rouge	Net CPM pour l'extrait
Normaux	1 A	8.158	3.614	8.138	146.684
	2 A	7.002	3.028	6.982	125.676
	3 A	7.348	3.222	7.328	131.904
	4 A	—	—	—	—
Néphrotiques	5 A	5.390	2.210	5.370	96.660
	6 A	4.513	1.977	4.493	80.874
	7 A	4.882	2.109	4.862	87.516
	8 A	5.823	2.531	5.803	104.454
Normaux	1 B	6.535	2.737	6.515	117.270
	2 B	7.726	3.404	7.706	138.708
	3 B	—	—	—	—
	4 B	7.281	3.216	7.261	130.698
	9 B	—	—	—	—
Néphrotiques	5 B	4.984	2.256	4.964	89.352
	6 B	5.549	2.257	5.529	99.522
	7 B	5.333	2.251	5.313	95.364
	8 B	5.721	2.528	5.701	102.618
	10 B	11.471	5.352	11.451	216.123

Eaux de lavages : prise 0,5 ml + 0,5 ml NaOH donc $\times 24$

Après correction et multiplication par les facteurs de dilution, on trouve respectivement pour 1 A à 8 A : 2.350 - 1.390 - 1.180 - 1.270 - 1.270 - 2.230 - 1.150 - 1.390 et pour 1 B à 10 B : 800 - 2.020 - 3.470 - 2.160 - 3.820 - 4.750 - 3.360 - 3.240 - 3.620 - 4.730 .

Bkgd = 37.

IV. Phospholipides (mode d'extraction : voir méthodes) — lecture 1 minute

		1	2	3	4	5	6	7
		—	—	—	—	—	—	—
Norm.	1 A	2.551	1.095	2.530	15.180	104.000	95	
	2 A	2.764	1.154	2.743	16.458	140.700	129	
	3 A	2.772	1.178	2.751	16.506	108.600	100	
	4 A	2.519	1.094	2.498	14.988	127.000	116	
Néphr.	5 A	2.713	1.251	2.692	16.152	156.800	144	163
	6 A	2.451	1.128	2.430	14.580	165.700	152	172
	7 A	2.130	889	2.109	12.654	136.000	125	141
	8 A	2.757	1.171	2.736	16.416	149.200	137	155
Norm.	1 B	2.072	831	2.051	12.308	101.000	100	
	2 B	1.893	765	1.872	11.232	87.500	81	
	3 B	1.870	781	1.849	11.094	111.000	102	
	4 B	2.530	1.115	2.509	15.054	107.500	99	
	9 B	5.222	2.215	5.201	31.202	104.000	96	
Néphr.	5 B	3.069	1.302	3.048	16.288	198.800	182	206
	6 B	3.715	1.641	3.694	22.164	219.400	201	227
	7 B	3.673	1.587	3.652	21.912	204.800	188	212
	8 B	4.049	1.647	4.028	24.168	190.300	174	197
	10 B	7.356	3.028	7.335	44.011	200.000	185	209

Colonnes : 1° CPM pour 1 ml (fen. rouge) ;

2° CPM pour 1 ml (fen. verte) ;

3° Net CPM pour 1 ml (fen. rouge) ;

4° Net CPM pour 1 ml \times facteur de dilution $18/15 \times 5 = \mathbf{x6}$;

5° Net CPM par gramme de tissu humide ;

6° Millimicromoles de palmitate incorporées par g de tissu humide ;

7° Idem que 6° après correction par 1,13 pour surhydratation du tissu néphrotique.

V. Radioactivité des triglycérides + FFA

Après avoir prélevé les 9 ml de la solution d'isooctane pour l'extraction de Borgström, on procède sur le restant (± 1 ml) au dosage de la radioactivité du mélange TRI + FFA.

Prise 1 ml/10 \times 18/15 = **x 12**. — Temps de lecture 1 min.

		1	2	3	4	8
		—	—	—	—	—
Normaux	1 A	6.908	3.348	6.887	82.650	82.000
	2 A	7.811	3.442	7.790	93.500	98.500
	3 A	7.604	3.137	7.583	91.000	100.000
	4 A	7.866	3.460	7.845	94.000	93.600

		1	2	3	4	8
		—	—	—	—	—
Néphrot.	5 A	5.033	2.088	5.012	60.100	62.100
	6 A	3.866	1.847	3.845	46.200	54.050
	7 A	5.254	2.470	5.233	62.800	62.800
	8 A	5.064	2.270	5.043	60.500	63.100
Normaux	1 B	8.302	4.118	8.281	99.500	103.600
	2 B	8.800	4.657	8.779	105.300	115.400
	3 B	6.823	3.232	6.802	81.600	85.700
	4 B	8.073	4.113	8.052	95.500	98.300
	9 B	20.523	8.789	20.502	246.000	246.000
Néphrot.	5 B	4.837	2.398	4.816	57.700	61.200
	6 B	5.438	2.763	5.417	65.100	69.400
	7 B	5.391	3.646	5.370	64.400	63.700
	8 B	5.211	2.610	5.190	62.300	68.000
	10 B	11.428	5.306	11.407	137.000	135.750
	Bkgd	50'	1.077	1.383	21	

Colonnes : 1° à 4° (voir IV du même tableau) ;

8° Somme des radioactivités propres des FFA et TRI après séparation (voir plus loin) dans l'échantillon.

VI. Triglycérides (mode d'extraction : voir méthodes).

Prise de 3 ml après séparation de Borgström.

Facteur de dilution = $18/15 \times 10/9 \times 20/3 = 80/9$.

		1	2	3	4	5	6	7
		—	—	—	—	—	—	—
		Milieu A						
Norm.	1 A	4.453	1.987	4.432	39.400	271.000	249	
	2 A	5.472	2.387	5.451	48.500	415.000	381	
	3 A	5.421	2.314	5.400	48.000	316.000	290	
	4 A	5.104	2.399	5.083	45.200	383.000	351	
Néphr.	5 A	2.165	1.005	2.144	19.100	185.500	170	192
	6 A	2.139	1.075	2.018	17.950	204.000	187	211
	7 A	1.799	844	1.778	15.800	170.000	156	176
	8 A	2.651	1.201	2.630	23.400	213.000	195	220
		Milieu B						
Norm.	1 B	4.195	1.835	4.174	37.100	304.000	279	
	2 B	6.485	2.984	6.464	57.400	448.000	411	
	3 B	4.781	2.016	4.760	42.200	422.000	387	
	4 B	5.959	2.521	5.938	52.700	376.000	345	
	9 B	13.015	6.543	12.994	115.500	385.000	357	

	1	2	3	4	5	6	7
5 B	4.355	1.971	4.334	38.500	419.000	384	434
6 B	3.848	1.783	3.827	34.000	337.000	309	349
Néphr. 7 B	3.733	1.540	3.712	33.000	309.000	283	320
8 B	3.927	1.796	3.906	34.600	273.000	250	283
10 B	8.189	3.622	8.168	72.600	330.000	306	346

VII. FFA.

Prise de 1 ml. — Facteur de dilution : $18/15 \times 10/9 \times 10 = 40/3$.

	1	2	3	4	5	6	7
Milieu A							
1 A	3.224	1.606	3.203	42.600	292.000	268	
Norm. 2 A	3.781	1.791	3.760	50.000	427.000	391	
3 A	3.924	1.836	3.906	52.000	342.000	314	
4 A	3.652	1.671	3.631	48.400	346.000	317	
5 A	3.252	1.518	3.231	43.000	417.000	382	432
Néphr. 6 A	2.719	1.327	2.700	36.100	358.000	328	371
7 A	3.550	1.705	3.529	47.000	505.000	463	523
8 A	3.005	1.358	2.984	39.700	361.000	331	374
Milieu B							
1 B	5.020	2.221	5.000	66.500	540.500	500	
2 B	4.408	1.921	4.387	58.000	452.000	415	
Norm. 3 B	3.268	1.389	3.247	43.050	435.000	399	
4 B	3.508	1.536	3.487	45.600	326.000	299	
9 B	9.808	4.016	8.787	130.500	435.000	400	
5 B	1.720	789	1.700	22.700	247.000	227	257
6 B	2.677	1.175	2.656	35.400	350.000	321	363
Néphr. 7 B	2.326	1.066	2.305	30.700	286.000	262	296
8 B	2.525	1.180	2.504	33.400	263.000	241	272
10 B	4.757	2.002	4.736	63.150	287.000	262	297

Pour les triglycérides et les FFA : colonnes 1 à 7 : voir IV. du même tableau.

VIII. Esters (méthode colorimétrique de Rapport et Alonzo : voir méthodes).

Triglyc. Facteur de dilution : $18/15 \times 10/9 \times 20/10 = 40/15$ pour les diaphragmes normaux et $18/15 \times 10/9 \times 20/15 = 16/9$ pour les diaphragmes néphrotiques.

	mg pour la prise	mg dans l'échantillon	poids de l'échantillon en mg	mg de glycéride par g de tissu humide
1 A	0,311	0,830	146	5,68
Norm. 2 A	0,279	0,745	117	6,35

Norm.	3A	0,316	0,845	152	5,55
	4A	0,440	1,180	118	10,00
Néphr.	5A	0,1065	0,190	103	1,84
	6A	0,129	0,230	88	2,62
	7A	0,0945	0,169	93	1,82
	8A	0,160	0,285	110	2,59
Norm.	1B	0,327	0,874	122	7,17
	2B	0,523	1,400	128	10,90
	3B	0,234	0,625	100	6,25
	4B	0,318	0,850	140	6,06
Néphr.	9B	0,800	2,139	300	7,13
	5B	0,160	0,285	92	3,10
	6B	0,189	0,338	101	3,35
	7B	0,115	0,215	107	2,00
	8B	0,138	0,246	127	1,94
	10B	0,308	0,548	220	2,49

IX. Esters des phospholipides

Facteur de dilution : $18/15 \times 5/3 = \times 2$ sauf 9B et 10B : $18/15 \times 5 = \times 6$.

		mg pour la prise	mg dans l'échantillon	Poids de l'échantillon en mg	mg/gm de tissu exprimés en tripalmitine	mg/gm de tissu exprimés en lécithine
Norm.	1A	0,485	0,970	146	6,65	19,09
	2A	0,445	0,891	117	7,62	21,87
	3A	0,389	0,779	152	5,12	14,69
	4A	0,581	1,162	118	9,84	28,24
Néphr.	5A	0,311	0,622	103	6,04	17,33
	6A	0,275	0,550	88	6,25	17,94
	7A	0,260	0,520	93	5,60	16,07
	8A	0,272	0,554	110	5,04	14,46
Norm.	1B	0,482	0,963	122	7,90	22,67
	2B	0,500	1,000	128	7,82	22,44
	3B	0,430	0,860	100	8,60	24,68
	4B	0,600	1,200	140	8,58	24,62
	9B	0,414	2,490	300	8,30	23,82
Néphr.	5B	0,392	0,784	92	8,50	24,40
	6B	0,495	0,991	101	9,81	28,15
	7B	0,461	0,922	107	8,62	24,74
	8B	0,447	0,894	127	7,04	20,20
	10B	0,304	1,830	220	8,32	23,88

5^e colonne : facteur de conversion $\times 2,87$

X. FFA (méthode de Dole : voir méthodes)

Facteur de correction pour extraction et dilution : $\times 18/15 \times 10/9 \times 10/8 = 5/3$
 0,49 = facteur tenant compte du volume correspondant à chaque graduation de la microburette, de la conversion en $\mu\text{Eq/ml}$ et de la prise de 3 ml sur 4 de la solution de FFA dans l'isooctane.

Mode de calcul : (nombre de graduat. — blanc) \times titre de la soude (environ 0,02N) $\times 0,49 \times 5/3$.

		Nbre de graduations à la microburette	Nbre de graduations à la microburette moins le blanc	μEq dans l'échantillon	μEq par gramme de tissu (poids humide)
		1	2	3	4
Norm.	1 A	69	47	0,635	4,35
	2 A	79	57	0,769	6,55
	3 A	67	45	0,606	3,98
	4 A	76	54	0,727	6,16
Néphr.	5 A	63	41	0,553	4,88
	6 A	57	35	0,471	5,35
	7 A	63	41	0,553	5,41
	8 A	55	33	0,445	4,04
Norm.	1 B	80	58	0,782	6,42
	2 B	79	57	0,770	6,00
	3 B	75	53	0,715	7,15
	4 B	75	53	0,715	5,11
	9 B	158	136	1,836	6,13
Néphr.	5 B	65	43	0,580	6,30
	6 B	62	40	0,540	5,34
	7 B	67	45	0,606	5,66
	8 B	58	36	0,486	3,82
	10 B	99	77	1,038	4,71

Blanc (en triple) = 22 graduations.

XI. Activités spécifiques (CPM par mg de substance)

		Phospholipides	Triglycérides	FFA
Norm.	1 A	5.480	47.500	67.000
	2 A	6.410	65.000	65.000
	3 A	7.400	56.800	86.000
	4 A	4.530	38.400	66.600

Néphr.	5 A	9.060	100.000	78.000
	6 A	9.270	78.400	76.500
	7 A	8.500	93.500	85.000
	8 A	10.300	82.100	89.000
Norm.	1 B	4.460	42.500	85.000
	2 B	3.900	41.200	75.500
	3 B	4.490	67.200	61.000
	4 B	4.360	62.000	64.000
	9 B	4.360	54.000	71.000
Néphr.	5 B	8.150	135.000	59.000
	6 B	7.800	101.000	66.000
	7 B	8.300	153.000	51.000
	8 B	9.410	141.000	69.000
	10 B	8.400	133.000	61.000

N.B. — Les activités spécifiques des phospholipides sont calculées à partir des concentrations chimiques exprimées en lécithine.

Le poids des rats et des hémidiaphragmes figure dans la première partie du tableau XVII.

Dans la deuxième partie sont présentés les résultats des mesures de radioactivité d'un échantillon du milieu prélevé après une incubation de 90 minutes des hémidiaphragmes étudiés ou soumis aux mêmes manipulations en l'absence de tissu (MIA).

Dans la troisième partie est exprimée la radioactivité contenue dans les lipides totaux extraits du tissu après incubation. Les résultats sont donnés dans la 4^e colonne en coups nets pour l'extrait.

Dans la 4^e partie, est exprimée la radioactivité de la fraction phospholipidique après séparation de l'extrait sur colonne d'acide silicique. Les résultats sont exprimés comme pour les lipides totaux dans les colonnes 4 et 5. Dans les colonnes 6 et 7, l'incorporation de palmitate est exprimée en millimicromoles par gramme de tissu [colonne 6 : résultat non corrigé pour hémidiaphragmes normaux et colonne 7 : résultat corrigé pour la surhydratation des hémidiaphragmes néphrotiques (facteur 1,13).]

Dans la 5^e partie, sont donnés les résultats des mesures de radioactivité des triglycérides et des FFA réunis, les phospholipides ayant été extraits sur colonne d'acide silicique. Ces mesures ne sont faites qu'à titre de contrôle. Leurs résultats (colonne 4 : coups nets par minute dans l'échantillon) sont comparés à ceux obtenus par la somme des radioactivités mesurées après séparation des triglycérides et FFA (méthode de Borgström (colonne 8) dans l'échantillon).

Dans la 6^e partie, sont calculées par gramme de tissu humide les radioactivités de la fraction contenant les triglycérides (colonne 5). Les résultats sont exprimés en millimicromoles de palmitate incorporé par gramme de tissu dans les colonnes 6 et 7 comme plus haut.

Dans la 7^e partie, figurent les résultats des mesures de radioactivité effectuées sur la fraction contenant les acides gras non estérifiés (FFA) ; ils sont exprimés par gramme de tissu humide (colonne 5) et en millimicromoles de palmitate incorporé par gramme de tissu (colonnes 6 et 7).

Dans les 8^e, 9^e et 10^e parties du tableau figurent les résultats des dosages chimiques effectués sur les mêmes fragments de tissu normal et néphrotique après incubation en milieux A et B, c'est-à-dire sans glycérophosphate et avec glycérophosphate.

Les taux d'esters de triglycérides sont exprimés en mg par gramme de tissu dans la colonne 4 (8^e partie). Ceux des phospholipides (9^e partie) ont été exprimés en mg par gramme de tissu par rapport à un standard de tripalmitine (colonne 4) et en mg par gramme de tissu par rapport à un standard de lécithine dans la colonne 5.

Dans la 10^e partie la teneur en acides gras non estérifiés est exprimée en micro-équivalents par gramme de tissu (colonne 4).

Dans la 11^e partie du tableau XVII, sont calculées les activités spécifiques des trois fractions : triglycérides, phospholipides et FFA, en cpm/mg de substance et par gramme de tissu.

Le tableau XVIII montre, en ce qui concerne l'incorporation de palmitate dans les glycérides, les résultats obtenus dans les différentes expériences de ce type lorsque le milieu était enrichi en glucose ou en glycérophosphate ou était dépourvu en ces deux substrats. L'incorporation y est exprimée en millimicromoles par gramme de tissu.

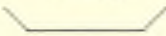
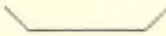
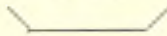
Dans le tableau XIX, sont présentés les résultats des mesures d'activités spécifiques (cpm/mg de substance et par gramme de tissu humide) des mêmes expériences.

Dans les tableaux XX et XXI, sont parallèlement exprimés les taux d'incorporation du palmitate marqué dans la fraction phospholipidique et l'activité spécifique par mg de phospholipides (exprimés en lécithine).

Enfin, dans les tableaux XXII et XXIII les mêmes valeurs sont données pour les acides gras non estérifiés du tissu, les incorporations étant exprimées en millimicromoles par gramme de tissu et les activités spécifiques en cpm/ μ Eq d'acide gras non estérifié.

L'examen statistique des résultats du tableau XVIII fait apparaître une différence significative entre les comportements des hémidiaphragmes provenant de rats néphrotiques et de rats normaux en ce qui concerne

TABLEAU XVIII
Incorporation de palmitate-1-C¹⁴ dans les glycérides
(en μ moles/g de tissu)

Milieu sans glucose ni glycérophosphate		Milieu avec glucose (10 ⁻² M)		Milieu avec glycérophos- phate (10 ⁻² M)	
Normaux	Néphrotiques	Normaux	Néphrotiques	Normaux	Néphrotiques
Série du 26-11-63					
306	281	330	345		
388	263	490	395		
284	277	440	390		
305	208	590	420		
Série du 9-12-63					
252	151	390	300		
278	237	440	484		
352	168	310	436		
284	207	350	272		
Série du 2-6-64					
266	190	345	289		
349	283	420	410		
416	248	475	273		
Série du 20-10-64 (*)			Série du 20-10-64 (*)		
249	192		279	434	
381	211		411	349	
290	176		357	346	
351	220		387	320	
			345	283	
317 ± 14	221 ± 11	416 ± 21	366 ± 22	356 ± 29	346 ± 32
<i>n</i> = 15		<i>n</i> = 11		<i>n</i> = 5	
					
P < 0,001		NS		NS	

(*) Expérience décrite dans le tableau n° XVII.

TABLEAU XIX

Activité spécifique CPM/mg de glycéride
(Incubation en présence de palmitate-1-C¹⁴)


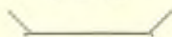
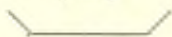
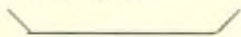

Sans glucose		+ Glucose (10 ⁻² M)		+ Glycérophosphate (10 ⁻² M)	
Normaux	Néphrotiques	Normaux	Néphrotiques	Normaux	Néphrotiques
Série du 26-11-63					
51.000	97.000	45.000	140.000		
61.000	107.000	55.000	153.000		
102.000	142.000	79.000	145.000		
49.000	70.000	57.000	135.000		
Série du 9-12-63					
43.000	112.000	52.000	136.000		
59.000	81.000	47.000	143.000		
64.000	108.000	90.000	213.000		
56.000	110.000	29.000	191.000		
Série du 2-6-64					
64.000	101.000	90.000	114.000		
71.000	97.000	61.000	257.000		
50.000	91.000	66.000	94.000		
Série du 20-10-64				Série du 20-10-64	
77.000	78.000			43.000	135.000
65.000	94.000			41.000	133.000
57.000	82.000			54.000	101.000
38.000	100.000			67.000	153.000
				62.000	141.000
59.000	98.000	61.000	156.000	53.000	133.000
±400	±4.500	±5.700	±14.000	±3.300	±5.600
n = 15		n = 11		n = 5	
					
P < 0,001		P < 0,001		P < 0,001	
					
NS					
					
P < 0,001					

TABLEAU XX

Incorporation de palmitate-1-C¹⁴ dans les phospholipides
(en mμmoles/g de tissu)

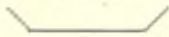
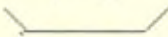
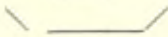
Milieu sans glucose ni glycérophosphate		Milieu avec glucose (10 ⁻² M)		Milieu avec glycéro- phosphate (10 ⁻² M)	
Normaux	Néphrotiques	Normaux	Néphrotiques	Normaux	Néphrotiques
Série du 26-11-63					
92	156	116	133		
93	114	112	182		
99	183	136	185		
61	170	123	213		
Série du 9-12-63					
67	98	50	92		
84	139	89	146		
76	102	91	139		
72	112	83	140		
Série du 2-6-64					
104	175	132	112		
136	174	112	208		
105	164	105	230		
Série du 20-10-64			Série du 20-10-64		
95	163		100	206	
129	172		91	227	
100	141		102	212	
116	155		99	197	
			96	209	
95 ± 6	148 ± 7	104 ± 7	162 ± 12	96 ± 2	210 ± 3
n = 15		n = 11		n = 5	
					
P < 0,001		0,001 < P < 0,01		P < 0,001	

TABLEAU XXI

Activité spécifique CPM/mg de phospholipide exprimé en lécithine
(Incubation en présence de palmitate-1-C¹⁴)

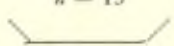
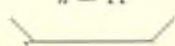
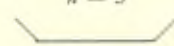
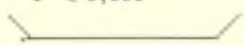

Sans glucose		+ Glucose (10 ⁻² M)		+ Glycérophosphate (10 ⁻² M)	
Normaux	Néphrotiques	Normaux	Néphrotiques	Normaux	Néphrotiques
Série du 26-11-63					
6.060	8.290	6.480	7.700		
5.230	7.040	6.720	10.000		
5.990	9.860	8.360	9.760		
4.950	10.980	7.460	11.600		
Série du 9-12-63					
5.740	13.100	5.190	9.060		
6.030	8.430	7.070	9.340		
5.640	8.330	6.970	9.150		
5.600	8.260	6.130	8.850		
Série du 2-6-64					
5.710	9.160	7.460	9.760		
7.600	8.880	7.140	10.700		
6.690	8.080	6.450	10.800		
Série du 20-10-64			Série du 20-10-64		
7.390	9.090			4.460	8.150
6.410	9.270			4.360	7.800
5.470	8.500			4.360	8.400
4.530	10.130			4.490	8.300
				3.900	9.400
5.940 ± 213	9.170 ± 376	6.860 ± 247	9.740 ± 321	4.310 ± 70	8.410 ± 174
n = 15		n = 11		n = 5	
					
P < 0,001		P < 0,001		P < 0,001	
					
0,005 > P > 0,0025		NS			

TABLEAU XXII

Incorporation de palmitate-1-C¹⁴ dans les acides gras non estérifiés
(en μ moles/g de tissu)

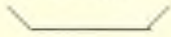
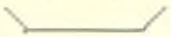

Milieu sans glucose ni glycérophosphate		Milieu avec glucose (10 ⁻² M)		Milieu avec glycérophos- phate (10 ⁻² M)	
Normaux	Néphrotiques	Normaux	Néphrotiques	Normaux	Néphrotiques
Série du 26-11-63					
198	390	202	349		
294	506	269	290		
241	375	260	302		
244	333	289	314		
Série du 9-12-63					
283	195	184	214		
154	278	197	255		
173	231	225	222		
208	203	264	263		
Série du 2-6-63					
359	291	113	320		
175	270	265	316		
244	399	277	290		
Série du 20-10-64			Série du 20-10-64		
268	432		500	257	
391	371		415	363	
314	523		404	297	
317	374		399	296	
			299	272	
258 \pm 20 345 \pm 26		239 \pm 11 285 \pm 13		403 \pm 20 297 \pm 12	
n = 15		n = 11		n = 5	
					
0,001 < P < 0,01		0,05 > P > 0,02		P < 0,001	

TABLEAU XXIII

Activité spécifique CPM/ μ Eq d'acide gras non estérifié
(Incubation en présence de palmitate-1- C^{14})

Sans glucose		Avec glucose (10 ⁻² M)		+ Glycérophosphate (10 ⁻² M)	
Normaux	Néphrotiques	Normaux	Néphrotiques	Normaux	Néphrotiques
Série du 26-11-63					
70.000	137.000	103.000	88.000		
106.000	109.000	96.000	99.000		
91.000	126.000	88.000	84.000		
103.000	91.000	113.000	82.000		
Série du 9-12-63					
70.000	66.000	55.000	61.000		
63.000	63.000	61.000	65.000		
59.000	62.000	65.000	65.000		
74.000	61.000	69.000	64.000		
Série du 2-6-64					
106.000	95.000	62.000	52.000		
39.000	69.000	69.000	70.000		
81.000	81.000	104.000	67.000		
Série du 20-10-64			Série du 20-10-64		
67.000	78.000		71.000	59.000	
65.000	76.000		85.000	61.000	
86.000	85.000		76.000	66.000	
67.000	89.000		61.000	51.000	
			64.000	69.000	
76.000	86.000	80.000	72.000	71.000	61.000
±5.000	±6.000	±6.000	±5.000	±3.000	±2.000
n = 15		n = 11		n = 5	
NS		NS		NS	
0,001 < P < 0,01					

l'incorporation du palmitate-1-C¹⁴ dans les glycérides lorsque le muscle est incubé dans un milieu dépourvu de glucose. La présence de glucose augmente l'incorporation de palmitate dans les glycérides tant chez le normal que chez le néphrotique mais la différence que l'on constate entre néphrotiques et normaux cesse d'être significative. L'addition de glycérophosphate au milieu d'incubation ne modifie pas l'incorporation de palmitate marqué dans les glycérides chez les normaux mais bien chez les néphrotiques dont l'incorporation devient égale à celle observée pour les hémidiaphragmes normaux. L'incorporation de palmitate est donc influencée par la présence de glucose dans le milieu d'incubation non par celle de glycérophosphate lorsque les diaphragmes proviennent d'animaux normaux. Chez les rats néphrotiques, l'addition de glycérophosphate comme celle de glucose élève pratiquement de la même manière le pouvoir d'incorporer du palmitate dans les glycérides.

Il n'est pas surprenant que le glucose favorise la synthèse des glycérides lorsqu'on offre au tissu des acides gras. L'effet moindre du glycérophosphate dans ce cas pourrait s'expliquer par le fait que le glucose à concentration équimolaire (10^{-2} M) libère deux fois plus de glycérophosphate.

On ne peut guère tirer de conclusions des mesures d'activités spécifiques rapportées au tableau XIX, bien qu'elles soient toujours supérieures pour les hémidiaphragmes néphrotiques aux valeurs mesurées pour les hémidiaphragmes normaux. Ce fait ne traduit sans doute que la diminution de la concentration en glycérides du muscle néphrotique par rapport au normal.

L'incorporation de palmitate dans les phospholipides des diaphragmes ne dépend pas, chez le rat normal, de la présence ou de l'absence de glucose ou de glycérophosphate dans le milieu d'incubation (tableau XX). Dans les diaphragmes néphrotiques, l'incorporation est toujours plus élevée que dans les diaphragmes normaux, la différence étant particulièrement nette en présence de glycérophosphate.

Le tableau XXI, qui donne les valeurs de l'activité spécifique dans la fraction phospholipides, reflète les différences observées pour l'incorporation puisque la teneur en phospholipides du muscle n'est pas influencée par la maladie.

La quantité de palmitate radioactif retrouvée dans les acides gras non estérifiés du diaphragme (tableau XXII) n'est pas modifiée par l'addition de glucose au milieu d'incubation lorsqu'il s'agit de diaphragme normal. L'addition de glycérophosphate, au contraire, augmente la quantité de palmitate radioactif maintenue dans la fraction

acides gras. Lorsque le diaphragme provient d'animaux néphrotiques, la présence de glucose diminue la quantité de palmitate marqué retrouvée dans cette fraction. Il en est de même lorsque du glycérophosphate est ajouté au milieu. Les activités spécifiques par μEq d'acide gras non estérifié (tableau XXIII) ne sont pas différentes chez les néphrotiques et chez les normaux et ne sont guère influencées par l'addition de glucose ou de glycérophosphate.

La quantité de palmitate incorporée dans la somme des trois fractions : glycérides, phospholipides et acides gras (FFA) est de 670 millimicromoles pour les diaphragmes normaux et de 714 millimicromoles pour les diaphragmes néphrotiques dans un milieu dépourvu de glucose. Exprimée en % de la dose incorporée par gramme de muscle, la fraction contenue dans les glycérides représente 55 % du total chez le rat normal et 33 % seulement chez le néphrotique. Lorsque le milieu contient du glucose, la somme des millimicromoles de palmitate incorporées dans les trois fractions s'élève à 759 pour les diaphragmes normaux et 813 pour les diaphragmes néphrotiques. 55 % de la dose incorporée le sont dans les glycérides chez le rat normal et 45 % chez le rat néphrotique. On constate donc une augmentation du pourcentage d'incorporation dans les glycérides lorsque du glucose est ajouté au milieu dans lequel sont incubés des diaphragmes néphrotiques.

Si on applique le même raisonnement aux phospholipides, on constate que le pourcentage d'incorporation dans cette fraction est plus élevé pour les diaphragmes néphrotiques que pour les normaux (21,7 % au lieu de 14,3 % dans un milieu sans glucose, et 19,9 % au lieu de 13,7 % dans un milieu qui en contient). Ces chiffres montrent, par contre, que l'addition de glucose ne modifie ni le comportement des diaphragmes normaux ni celui des néphrotiques.

L'addition de glycérophosphate au milieu augmente l'incorporation globale de palmitate tant chez le normal que chez le néphrotique (855 millimicromoles et 853 millimicromoles respectivement).

Si nous considérons la somme des quantités de palmitate incorporées dans les glycérides et les acides gras, nous constatons que l'addition de glycérophosphate au milieu a un effet supérieur à celui du glucose pour les diaphragmes normaux (655 millimicromoles pour le glucose et 759 millimicromoles pour le glycérophosphate). Pour les diaphragmes provenant de rats néphrotiques, la glucose et le glycérophosphate ont le même effet (651 millimicromoles pour le glucose et 643 pour le glycérophosphate).

Cette identité en présence d'une moindre incorporation dans les acides gras indique clairement une participation accrue de ceux-ci à la synthèse des glycérides pour les diaphragmes néphrotiques.

Dans le tableau XXIV, figurent les résultats de fractionnement des glycérides en mono, di- et triglycérides par la technique de séparation en couche mince. Le tableau montre que, incubés dans un milieu sans glucose, le pourcentage de mono- et de diglycérides est plus élevé pour les néphrotiques que pour les normaux. Cette différence tend à disparaître lorsque l'incubation se fait en milieu enrichi en glucose.

Notons qu'il n'y a pas eu de fractionnement en mono- di- et triglycérides dans les expériences avec glycérophosphate.

2. En présence de chylomicrons

Le mode de préparation des chylomicrons a été décrit au chapitre des techniques. Nous n'y reviendrons pas ici. Les fractions de lymphe récoltées dans les 4 heures qui suivent l'ingestion de palmitate marqué sont généralement les plus radioactives. Elles ont été, seules, utilisées pour la purification des chylomicrons destinés à l'expérience. Ceux-ci ont été étudiés à deux points de vue :

- 1) leur activité spécifique (cpm/ μ mole de tripalmitine) et
- 2) la répartition de leur radioactivité totale entre mono-, di- et triglycérides ainsi qu'acides libres non estérifiés.

L'incorporation dans les diaphragmes des chylomicrons marqués au C^{14} a été étudiée après 10, 20, 45 ou 105 minutes d'incubation suivant les expériences.

La radioactivité du milieu d'incubation a été mesurée avant et après l'incubation des diaphragmes de même que sa répartition dans les quatre fractions citées plus haut.

Le tissu lui-même a été analysé comme il a été décrit dans les chapitres précédents ; estimation chimique de la teneur en glycérides, en phospholipides et en acides gras libres, mesures de radioactivité des lipides totaux, des phospholipides, des FFA, des tri-, di- et monoglycérides.

Le tableau XXV donne à titre exemplatif les résultats d'une expérience.

Trente expériences portant sur 15 animaux normaux et 15 animaux néphrotiques ont été réalisées, dans le but de montrer l'influence du temps d'incubation sur l'incorporation du palmitate des chylomicrons dans les phospholipides, les tri-, di- et monoglycérides et les acides gras

TABLEAU XXIV

Incorporation de palmitate-1-C¹⁴(en μ moles/g de tissu)

Pourcentage dans les mono-, di- et triglycérides

Milieu sans glucose		Milieu + glucose (10 ⁻² M)		
Normal	Néphrotique	Normal	Néphrotique	
Mono- glycérides	0,5	3,8	1,6	1,4
	0,3	1,5	1,5	1,7
	0,9	5,1	0,9	1,6
	1,6	2,3	0,8	1,2
	1,0	2,1	2,3	1,4
	0,9	1,8	2,1	1,4
	0,9±0,2 n = 6	2,8±0,6 n = 6	1,5±0,25 n = 6	1,5±0,07 n = 6
Di- glycérides	11,0	12,6	14,3	13,0
	11,6	12,1	11,9	15,7
	10,4	17,1	11,9	9,9
	8,6	15,5	11,1	10,3
	10,6	13,8	10,7	15,6
	10,1	13,6	11,7	15,0
	10,4±0,4 n = 6	14,2±0,8 n = 6	11,9±0,8 n = 6	13,3±1,1 n = 6
Tri- glycérides	88,5	83,6	84,2	85,6
	88,1	86,4	86,4	82,6
	88,7	77,8	87,2	88,5
	89,8	82,2	88,1	88,5
	88,4	84,1	87,0	83,4
	89,0	84,6	86,2	83,6
	88,7±0,25 n = 6	83,0±0,9 n = 6	86,4±0,5 n = 6	85,4±1,1 n = 6

TABLEAU XXV

Expérience d'incorporation des chylomicrons

Milieu d'incubation

19,30 ml de Krebs-Ringer phosphate,
13,10 ml de suspension de chylomicrons marqués au palmitate-1-C¹⁴,
3,60 ml d'une solution de glucose (18 mg/ml).

36,00 ml

2,00 ml de cette solution par flacon.

Rats normaux				Rats néphrotiques			
Poids des rats en g		Poids des hémidiaphragmes en mg		Poids des rats en g		Poids des hémidiaphragmes en mg	
		Série A	Série B			Série A	Série B
1)	230	153	146	5)	185	150	125
2)	225	161	167	6)	200	131	138
3)	230	142	170	7)	220	149	162
4)	225	173	177	8)	200	143	130

Un hémidiaphragme de chaque rat est placé dans un flacon et incubé pendant 20 minutes (série A), l'autre hémidiaphragme est incubé dans un autre flacon pendant 45 minutes (série B).

Radioactivité du milieu (0,1 ml des 2 ml du milieu a été extrait par du chloroforme-méthanol 2 : 1 — mesure sur 1 ml des 18 ml de l'extrait chloroformique) donc facteur $\times 360$.

	CPM	NCPM	CPM par flacon
Milieu A	2.943	2.926	1.054.000

Concentration du milieu en tripalmitine (dosage des liaisons esters).

6,9 mg ou 8,58 μ moles de tripalmitine par flacon.

Coups par minute et par μ mole : $1.054.000 : 8.580 = 123$ cpm/ μ mole.

Composition du milieu (chromatographie en couche mince) :

Triglycérides :	86,5 %
Diglycérides :	3,2 %
Monoglycérides :	2,0 %
FFA :	8,4 %

(*) 1, 2, 3, 4 : rats normaux ; 5, 6, 7, 8 : rats néphrotiques.

A : incubation de 20 minutes ; B : incubation de 45 minutes.

Radioactivité contenue dans les phospholipides du diaphragme (prélèvement de 6 ml de méthanol sur les 10 ml de l'extrait après séparation sur colonne d'acide silicique).

		NCPM	NCPM dans l'échantillon	NCPM/gm	
PL	1 A	338 (*)	563	3.690	
	2 A	363	605	3.710	
	3 A	231	385	2.710	
	4 A	341	568	3.290	
				$M = 3.360 \pm 250$	$\times 1,13$
PL	5 A	398	663		5.010
	6 A	394	657		5.650
	7 A	297	495		3.750
	8 A	326	543		4.290
					4.680 ± 415
PL	1 B	461	768	5.260	
	2 B	508	845	5.070	
	3 B	476	795	4.680	
	4 B	579	965	5.460	
				5.120 ± 165	
PL	5 B	461	768		6.950
	6 B	478	798		6.520
	7 B	462	768		5.370
	8 B	457	762		6.640
					6.370 ± 190

Radioactivité dans la fraction lipides neutres (LN) (glycérides + FFA)

LN	1 A		5.340	34.900
	2 A		5.305	33.050
	3 A		4.350	30.700
	4 A		7.975	46.200
				$M = 36.200 \pm 3.440$
LN	5 A		4.355	32.010
	6 A		5.550	46.750
	7 A		6.550	48.400

8A	4.635	35.640
		40.700 ± 4.065

LN 1B	7.835	53.600
2B	7.165	43.000
3B	7.805	45.900
4B	8.220	46.500
		47.250 ± 2.250

LN 5B	7.250	63.800
6B	8.690	69.300
7B	7.885	52.470
8B	9.815	83.050
		67.155 ± 6.140

Dosage chimique des phospholipides (PL) : liaisons esters
(3 ml des 10 ml de l'extrait) donc à multiplier par 10/3.

	Concentr. en mg dans 3 ml	Concentr. en mg dans l'échantillon	Concentration en mg/Gm (tripalmitine)	Concentr. en mg/Gm (lécithine)
				× 1,13
				× 1,13
PL 1A	4,00	1,333	8,74	25,1
2A	4,30	1,433	8,92	25,6
3A	3,92	1,310	9,23	26,5
4A	3,60	1,20	6,93	19,9
M = 8,45				24,3
PL 5A	3,30	1,10	7,33	8,27
6A	3,30	1,10	8,39	9,46
7A	2,89	1,30	8,72	9,84
8A	3,08	1,03	7,20	8,12
				8,92
				23,8
				27,2
				28,2
				23,3
				25,6
PL 1B	4,66	1,55	10,60	30,4
2B	3,60	1,20	7,20	20,7
3B	4,22	1,41	8,30	23,8
4B	4,82	1,61	9,10	26,1
				25,3
				25,3

PL 5B	3,06	1,02	8,17	9,21	26,5
6B	3,18	1,06	7,69	8,69	24,9
7B	3,96	1,32	8,15	9,20	26,4
8B	2,72	0,91	7,00	7,90	22,7
				8,75	25,2

non estérifiés du muscle. Ces expériences ont toutes été effectuées sur des hémidiaphragmes provenant d'animaux nourris, incubés dans un milieu contenant du glucose.

Quatorze expériences portant sur 7 animaux normaux et 7 animaux néphrotiques avaient pour but d'étudier l'influence de la composition des chylomicrons introduits dans le milieu d'incubation sur l'incorporation du palmitate marqué qu'ils contiennent, dans les mêmes fractions lipidiques du diaphragme.

Un troisième groupe constitué par 7 animaux normaux et 7 animaux néphrotiques a été étudié en vue d'explorer l'influence de l'état de nutrition des animaux, préalablement au prélèvement, sur l'incorporation du palmitate des chylomicrons dans les diverses fractions lipidiques.

Enfin, dans une quatrième série (8 rats normaux et 8 rats néphrotiques), nous avons testé l'influence de l'addition de glucose au milieu d'incubation sur l'incorporation des chylomicrons.

A. INFLUENCE DU TEMPS D'INCUBATION

La figure 2 montre l'incorporation dans les lipides neutres (cpm/g de tissu) pour différents temps d'incubation allant de 10 à 105 minutes en milieu glucosé (10^{-2} M).

La figure 2 montre aussi les pourcentages de radioactivité contenus dans les mono-, les di- et les triglycérides et dans les acides gras non estérifiés.

On constate que la prolongation du temps d'incubation accroît l'incorporation du traceur des chylomicrons dans le tissu musculaire aussi bien chez le rat normal que chez le rat néphrotique. Toutefois, si le diaphragme normal incorpore à un rythme rapide pendant les 20 premières minutes, la vitesse d'incorporation diminue ensuite avec le temps. Au contraire, la quantité incorporée par le diaphragme néphrotique croît presque linéairement dans les limites de temps étudiées.

La répartition de la radioactivité dans les tri-, les di-, les monoglycérides et les acides gras non estérifiés ne permet de décélérer aucune

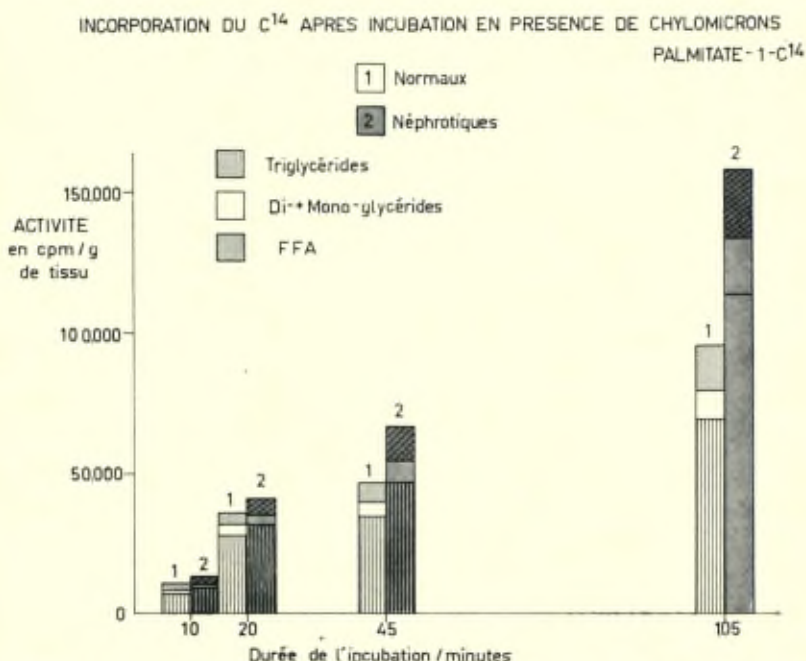


FIG. 2. Evolution de l'incorporation du palmitate-1-C¹⁴ des chylomicrons en fonction du temps.

Répartition de la radioactivité dans les différentes fractions lipidiques à l'exclusion des phospholipides.

différence significative entre les diaphragmes normaux et néphrotiques. Entre 45 et 105 minutes, se manifeste entre diaphragmes normaux et néphrotiques une différence en ce qui concerne l'incorporation du C¹⁴ provenant des chylomicrons. Ce phénomène ne peut être attribué à une différence de captation puisqu'il ne s'observe pas pendant les 20 premières minutes d'incubation. Mais il se pourrait qu'à mesure que l'incubation se prolonge, les chylomicrons incorporés, ou mieux les glycérides qu'ils contiennent, étant hydrolysés, les acides gras ainsi formés soient oxydés ou libérés dans le milieu humoral ou encore réutilisés pour la synthèse des glycérides en présence d'une quantité adéquate de substrat glycérphosphate. Une telle réutilisation pourrait être plus grande chez le rat néphrotique en raison d'une moindre utilisation des acides gras pour les besoins énergétiques.

B. INFLUENCE DE LA COMPOSITION DU MILIEU D'INCUBATION

Le tableau XXVI montre l'influence de la composition des chylomicrons introduits dans le milieu d'incubation sur la vitesse de captation du tissu pendant les 10 premières minutes. Les animaux en expérience sont à jeun et le milieu d'incubation contient du glucose (10^{-2} M).

Le premier échantillon de chylomicrons renferme 91,4 % de la radioactivité dans les triglycérides, 3,6 % dans les diglycérides, 1,7 % dans les monoglycérides et 3,2 % dans les FFA. Le second échantillon est en partie hydrolysé, 39,8 % seulement de la radioactivité se retrouvent dans la fraction triglycéridique ; par contre, 32,4 % sont dans les FFA, 20,6 % dans les diglycérides et 7,3 % dans les monoglycérides. Ces pourcentages ne se modifient pas dans le milieu au cours de l'incubation de 10 minutes en présence de tissu : 93,1 % contre 91,4 % pour les triglycérides dans l'échantillon le plus riche ; 40,1 % contre 39,8 % dans l'échantillon le plus pauvre en triglycérides.

L'incorporation totale n'est pas différente entre muscles néphrotiques et muscles normaux, que les chylomicrons introduits dans le milieu soient ou non partiellement hydrolysés.

Par contre, l'incorporation totale par gramme de muscle est plus élevée en présence de chylomicrons partiellement hydrolysés qu'en présence de chylomicrons intacts. Le rapport est de 4 : 1 pour le muscle normal (55.845 cpm contre 14.110), de 3 : 1 pour le muscle néphrotique (53.610 contre 18.870 cpm/g). Il est normal qu'il en soit ainsi puisque, en présence de l'échantillon partiellement hydrolysé, le milieu contient avant toute incubation une quantité importante d'acides gras libres (32,4 %). Or, l'incorporation du palmitate est normalement beaucoup plus marquée que celle des glycérides (voir chapitre 1).

Le pourcentage de radioactivité incorporée dans les acides gras du muscle est largement supérieur à celui mesuré dans le milieu (fig. 3). Il en est ainsi pour le muscle néphrotique comme pour le muscle normal que les chylomicrons soient primitivement intacts ou partiellement hydrolysés au moment d'être introduits dans le milieu. Ce phénomène ne peut traduire que leur hydrolyse ultérieure dans le tissu. En présence de chylomicrons intacts, cette hydrolyse est un peu plus marquée dans les diaphragmes néphrotiques que dans les diaphragmes normaux. En présence de chylomicrons partiellement hydrolysés, la différence entre muscles néphrotiques et muscles normaux se manifeste beaucoup plus nettement. Le processus d'hydrolyse tissulaire y est notamment beaucoup plus marqué que dans le diaphragme normal. Ainsi en atteste

EFFET DE LA COMPOSITION DU MILIEU

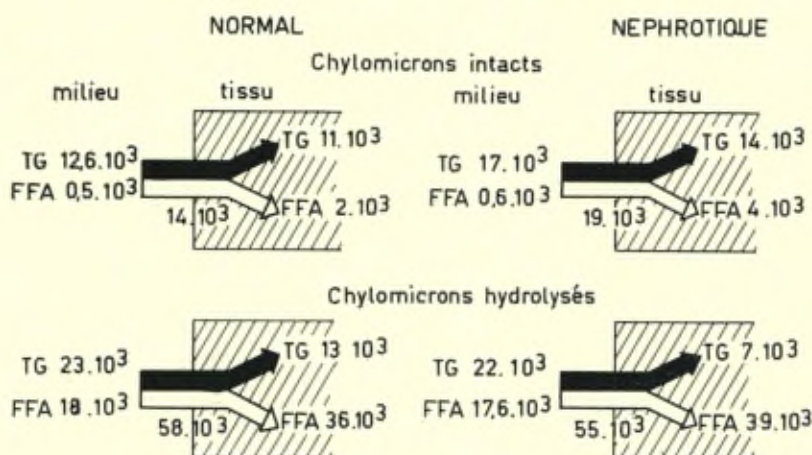


FIG. 3. Effet de la composition des chylomicrons du milieu offert au tissu. A titre de schématisation, seules les valeurs correspondant aux triglycérides et aux FFA ont été notées tant pour le milieu que pour le tissu. Les chiffres indiqués à la limite milieu/tissu comprennent en plus, les di- et monoglycérides.

entre autres la réduction significative de la radioactivité de la fraction triglycéridique au bénéfice de celle fixée dans la fraction des monoglycérides.

C. INFLUENCE DE L'ÉTAT DE NUTRITION DU RAT

Dans le tableau XXVII sont exprimés les résultats de 4 groupes d'expériences mettant en évidence l'effet de l'état de nutrition préalable du rat sur l'incorporation des chylomicrons. Les diaphragmes de 6 rats normaux et de 6 rats néphrotiques ont été étudiés en présence de chylomicrons intacts : 3 rats normaux et 3 rats néphrotiques étaient à jeun depuis 22 heures au moment du prélèvement, les autres étaient nourris normalement pendant la période précédant l'expérience. Seize diaphragmes (8 normaux et 8 néphrotiques) ont été mis en présence de chylomicrons partiellement hydrolysés (4 animaux dans chaque catégorie ont été tenus à jeun, les 4 autres étant nourris normalement). Le temps d'incubation des diaphragmes dans le milieu était de 10 minutes.

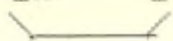

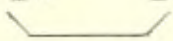
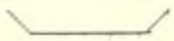


En présence de chylomicrons contenant plus de 90 % de triglycérides, les diaphragmes des animaux à jeûn, tant néphrotiques que normaux,

TABLEAU XXVI

Effet de la composition des chylomicrons du milieu sur l'incorporation tissulaire

(10 minutes d'incubation — rats à jeûn — glucose 10^{-2} M dans le milieu)

Type de glycérides	Chylomicrons intacts				Chylomicrons partiellement hydrolysés					
	% de radioactivité dans différentes fractions des chylomicrons	Incorporation CPM/g de tissu		% des fractions dans tissu		% de radioactivité dans différentes fractions des chylomicrons	Incorporation CPM/g de tissu		% des fractions dans tissu	
		Rats normaux	Rats néphrotiques	Nor-maux	Néphro-tiques		Rats normaux	Rats néphrotiques	Nor-maux	Néphro-tiques
Tri-glycérides	91,4	10.795 *	11.550	80,7	74,6	39,8	10.000	4.870	24,2	11,9
		13.365	14.360				14.200	4.690		
		10.000	17.350				11.550	9.420		
							18.410	7.790		
		11.385	14.420				13.540	6.690		
		±1.245	±1.647				±1.860	±1.144		
		NS					P < 0,01			
Di-glycérides	3,6	550	650	4,1	4,2	20,6	6.770	3.340	8,9	8,2
		680	810				5.225	3.220		
		510	975				4.250	6.440		
							3.680	5.330		

		 $0,1 > P > 0,05$			 NS	
Mono-glycérides	1,7	93 124 115 155 86 176  $0,02 > P > 0,01$	0,7 0,8	7,3	2.360 5.020 1.825 4.830 1.475 5.955 1.285 4.920 1.735 5.180 ±180 ±262  $P < 0,001$	3,1 9,6
F.F.A.	3,2	1.965 3.170 2.435 3.950 1.820 4.760 2.073 3.960 ±225 ±460  $P < 0,01$	14,7 20,5	32,4	26.360 34.530 30.455 33.280 37.450 47.465 48.530 39.220 35.700 38.625 ±4.830 ±3.214  NS	63,8 70,4

(*) Les valeurs réelles mesurées ont été corrigées de manière à rendre égale la radioactivité totale introduite dans le milieu pour les 2 groupes d'expériences (1.000.000 CPM/2 ml du flacon).

TABLEAU XXVII
Effet de l'état de nutrition du rat sur l'incorporation des chylomicrons
(CPM/g de tissu)

Rats normaux				Rats néphrotiques			
Chylomicrons intacts		Chylomicrons hydrolysés		Chylomicrons intacts		Chylomicrons hydrolysés	
A jeûn	Nourris	A jeûn	Nourris	A jeûn	Nourris	A jeûn	Nourris
Triglycérides							
10.795 *	6.950	10.000	15.450	11.550	7.850	4.870	14.450
13.365	7.400	14.200	16.750	14.360	9.160	4.690	18.360
10.000 [80,7]	8.415 [73,9]	18.410 [24,2]	13.840 [37,6]	17.350 [74,6]	10.000 [68,6]	9.420 [11,9]	12.290 [21,2]
		11.550	13.125			7.790	13.430
11.385 ±124	7.590 ±530	13.540 ±1.837	14.790 ±829	14.420 ±1.705	9.000 ±612	6.690 ±1.158	14.630 ±1.329
0,02 > P > 0,01		NS		0,05 > P > 0,025		0,005 > P > 0,0025	
Diglycérides							
550	380	6.770	4.745	650	469	3.340	7.460
680	400	5.225	5.140	810	550	3.220	9.480
510 [4,1]	455 [4,0]	4.250 [8,9]	4.410 [12,1]	975 [4,2]	595 [4,1]	5.339 [8,2]	14.140 [16,6]
		3.680	4.660			6.440	15.460
580 ±60	410 ±30	4.980 ±675	4.740 ±152	810 ±96	538 ±37	4.580 ±794	11.635 ±1.904
0,02 > P > 0,025		NS		0,05 > P > 0,025		0,01 > P > 0,005	

93 115 86 [0,7]	0	2.360 1.825 1.475 [3,1] 1.285	1.350 1.460 1.420 [3,6] 1.500	124 155 176 [0,8]	139 162 176 [1,2]	5.020 4.830 5.955 [9,6] 4.920	2.660 3.380 6.800 [7,2] 7.425
99 ±11		1.735 ±235	1.430 ±32	152 ±15	159 ±11	5.180 ±262	5.065 ±1.183
		NS		NS		NS	
Acides gras non estérifiés							
1.965 2.435 1.820 [14,7]	2.070 2.205 2.510 [22,0]	26.360 30.455 48.530 [63,8] 37.450	16.880 18.290 18.470 [46,6] 19.475	3.170 3.950 4.760 [20,5]	3.060 3.580 3.890 [26,7]	34.530 33.220 47.465 [70,4] 39.220	34.765 44.170 35.690 [55,4] 39.040
2.073 ±225	2.260 ±157	35.700 ±5.000	18.280 ±536	3.960 ±460	3.510 ±242	38.625 ±3.213	38.415 ±2.127
NS		0,01 > P > 0,005		NS		NS	

(*) Les valeurs réelles mesurées ont été corrigées de manière à rendre égale la radioactivité totale introduite dans le milieu pour toutes les expériences (1.000.000 CPM/2 ml du flacon).

(**) Exprimé en % de radioactivité (encadré).

contiennent davantage de radioactivité que ceux des animaux nourris pendant la période précédant l'expérience (fig. 4). La différence d'activité résulte essentiellement d'un moindre marquage des triglycérides chez les animaux nourris. En pourcentage, on observe une réduction de la radioactivité dans la fraction triglycérides et une augmentation de celle-ci dans les acides gras.

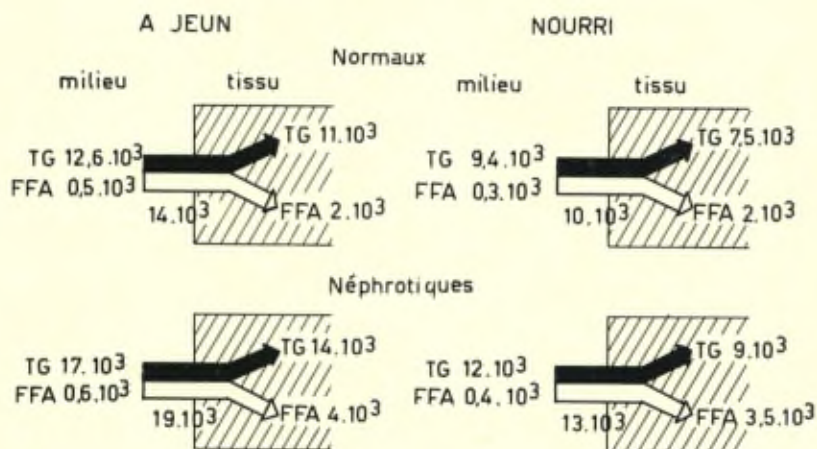
En présence de chylomicrons ne contenant que 40 % de triglycérides, la radioactivité incorporée est beaucoup plus marquée qu'en présence de chylomicrons intacts dans toutes les fractions à l'exception des triglycérides, que les animaux soient à jeun ou nourris, néphrotiques ou normaux (fig. 4). Cependant, chez les animaux normaux l'incorporation dans les acides gras est relativement diminuée par l'apport alimentaire préalable au prélèvement. C'est ainsi que 46,6 % de la radioactivité se retrouvent dans les acides gras des animaux nourris, contre 63,8 % dans les diaphragmes d'animaux à jeun. Il en résulte une augmentation relative de la radioactivité incorporée dans les triglycérides chez les animaux nourris (37,6 % contre 24,2 % à jeun). Chez les animaux néphrotiques, la comparaison entre animaux à jeun et animaux nourris fait ressortir une incorporation accrue (en valeur absolue et en pourcentage) sous l'effet des apports alimentaires mais il est à noter que chez le néphrotique à jeun l'incorporation dans les triglycérides était moindre que chez l'animal normal. L'incorporation dans les monoglycérides n'est pas modifiée par l'état de nutrition mais elle est beaucoup plus élevée chez les néphrotiques que chez les normaux. Ce phénomène témoigne également d'une accentuation du processus d'hydrolyse chez le rat néphrotique. L'incorporation dans les diglycérides est augmentée par l'apport alimentaire ; celle des acides gras n'est pas modifiée en valeur absolue chez les animaux néphrotiques alors qu'elle était diminuée par la persistance d'un apport alimentaire chez l'animal normal.

Deux réactions se produisent quand des chylomicrons sont captés par un tissu : la première est une hydrolyse enzymatique des triglycérides qu'ils contiennent, aboutissant à la formation de glycérol et d'acides gras libres non estérifiés (réaction probablement sous le contrôle exclusif de la lipoprotéine-lipase tissulaire) ; la seconde est une synthèse effectuée à partir des produits de cette hydrolyse (du moins à partir des acides gras qui en résultent) ; elle tend, en présence de glycérophosphate, à la formation de triglycérides.

L'alimentation des rats durant les heures qui précèdent l'expérience, de même que l'addition de glucose au milieu d'incubation doivent nécessairement favoriser le processus de synthèse.

EFFET DE L'ÉTAT DE NUTRITION

CHYLOMICRONS INTACTS



CHYLOMICRONS HYDROLYSES

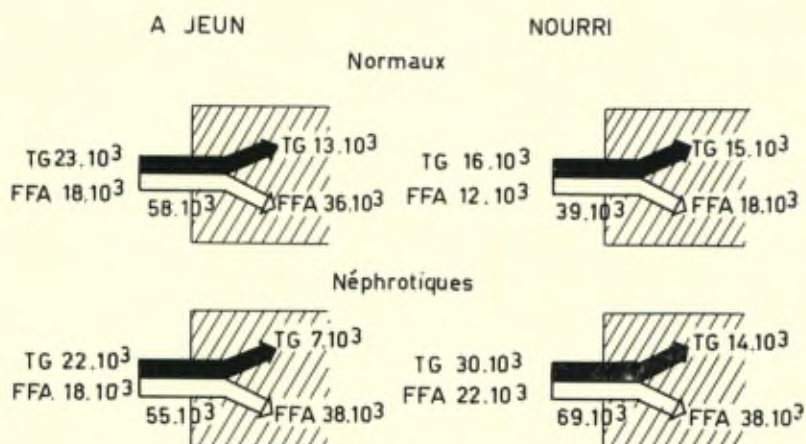


FIG. 4. Effet de l'état de nutrition sur l'incorporation des chylomicrons dans le tissu.

Même remarque que pour la figure 3.

Or, l'expérience démontre qu'en présence de chylomicrons intacts :

- 1) la captation globale est plus faible chez les animaux nourris (néphrotiques ou normaux) que chez les animaux à jeun ;
- 2) la fraction de la radioactivité incorporée dans les acides gras est plus élevée chez les animaux nourris (normaux et néphrotiques) qu'à jeun et le pourcentage d'incorporation dans les acides gras tissulaires est plus élevé qu'il ne l'est dans le milieu d'incubation : ceci témoigne indiscutablement d'une hydrolyse intense.

Dans les expériences utilisant des chylomicrons partiellement hydrolysés, l'état de nutrition fait apparaître une différence de comportement entre diaphragmes normaux et néphrotiques. Dans le muscle normal, l'incorporation globale est moindre pour les diaphragmes provenant d'animaux nourris que pour ceux prélevés chez des animaux à jeun. L'incorporation dans les triglycérides est identique en valeur absolue dans les deux groupes mais celle des FFA est beaucoup moindre chez les animaux nourris. Il en résulte une augmentation évidente du pourcentage d'incorporation dans la fraction triglycéridique des animaux nourris (37,6 % contre 24,2 %). Cette augmentation traduit un phénomène de synthèse se faisant aux dépens des acides gras produits par l'hydrolyse. Dans le muscle néphrotique, la captation globale est plus élevée lorsque le diaphragme provient d'animaux nourris que d'animaux à jeun ; cet accroissement se fait au bénéfice des tri- et des diglycérides. Ce phénomène traduit chez l'animal nourri une réutilisation, plus marquée chez le néphrotique que chez le normal, des acides gras en vue de la synthèse des triglycérides. En comparant entre eux animaux néphrotiques et animaux normaux, on constate sous l'effet des apports alimentaires une incorporation accrue de la radioactivité en valeur absolue dans la fraction triglycéridique chez l'animal néphrotique, accroissement qui ne s'observait qu'en valeur relative chez l'animal normal. Cette observation est à rapprocher de l'effet stimulant observé lorsque du glucose était ajouté au milieu dans les expériences étudiant l'incorporation du palmitate dans les triglycérides du diaphragme néphrotique.

D. INFLUENCE DU GLUCOSE

Le tableau XXVIII montre l'effet de l'addition de glucose au milieu d'incubation en présence de chylomicrons hydrolysés et en présence de chylomicrons intacts. Dans le premier cas le temps d'incubation était de 10 minutes, dans le second, de 105 minutes.

L'addition de glucose (10^{-2} M) diminue légèrement la quantité de radioactivité contenue dans les diaphragmes de rats normaux. Le

phénomène est moins net en présence de chylomicrons partiellement hydrolysés que de chylomicrons intacts. On n'observe par contre aucun changement significatif dans la répartition de l'activité dans les fractions lipidiques.

Dans les diaphragmes néphrotiques, l'addition de glucose au milieu ne provoque qu'une légère augmentation de la radioactivité totale captée. Cette augmentation est manifeste en présence de chylomicrons partiellement hydrolysés et s'observe alors dans la fraction triglycéridique. Pour les expériences effectuées en présence de chylomicrons intacts, le glucose n'a qu'un effet non significatif sur l'activité totale captée et est sans effet sur la répartition de cette radioactivité dans les différentes fractions.

Les minimales différences observées entre rats normaux et rats néphrotiques, en ce qui concerne l'effet du glucose sur l'incorporation des chylomicrons partiellement hydrolysés, pourraient correspondre au fait que le glucose fournissant une quantité non négligeable de glycéro-phosphate, favoriserait chez le néphrotique une synthèse des glycérides aux dépens des acides gras libres disponibles.

Conclusions

Trois conclusions paraissent devoir être tirées de ces observations effectuées en présence de chylomicrons marqués dans leur palmitate.

- 1) La répartition de la radioactivité dans les différentes fractions lipidiques du diaphragme tant chez le rat normal que chez le rat néphrotique, est directement fonction de la répartition préalable de la radioactivité dans les fractions lipidiques des chylomicrons offerts au tissu.
- 2) Deux phénomènes interviennent et renforcent leurs effets respectifs au cours du temps : le processus d'hydrolyse des chylomicrons et le processus de resynthèse des triglycérides à partir de certains produits de cette hydrolyse.
- 3) D'une manière générale les processus d'hydrolyse et de resynthèse paraissent plus marqués dans le diaphragme néphrotique. L'influence de l'état de nutrition préalable du rat et celle de l'addition du glucose au milieu d'incubation apparaissent plus nettement dans le diaphragme des rats néphrotiques que chez les normaux.

3. En présence de glycérol

La mesure de l'incorporation de glycérol dans les phospholipides et les glycérides a été effectuée après 30 et après 90 minutes d'incubation.

TABLEAU XXVIII

Effet de l'addition de glucose ($10^{-3}M$) au milieu d'incubation sur l'incorporation des chylomicrons

Rats normaux				Rats néphrotiques			
Chylomicrons intacts		Chylomicrons hydrolysés		Chylomicrons intacts		Chylomicrons hydrolysés	
Incubation 105 minutes		Incubation 10 minutes		Incubation 105 minutes		Incubation 10 minutes	
0 glucose	+ glucose	0 glucose	+ glucose	0 glucose	+ glucose	0 glucose	+ glucose
Triglycérides							
100.800 *	77.740	14.490	15.450	107.280	156.060	15.100	14.450
75.700	61.050	15.820	16.750	135.120	110.290	9.710	18.360
96.300 [73,9]	76.000 [73,3]	16.910 [32,7]	13.125 [37,6]	90.260 [70,7]	105.190 [72,0]	10.280 [18,1]	12.290 [21,2]
78.820	66.140	17.915	13.840	91.930	85.510	8.780	13.430
87.890 ±5.950	70.430 ±4.093	16.280 ±731	14.790 ±829	106.150 ±10.380	114.260 ±14.850	10.970 ±1.409	14.630 ±1.329
0,05 > P > 0,02		NS		NS		0,1 > P > 0,05	
Diglycérides							
12.170	7.420	7.120	4.745	15.640	16.065	12.880	7.460
9.140	5.830	7.770	5.140	19.710	11.350	8.280	9.480

7.160 [7,2] 5.860	9.800 [8,1] 8.450	5.680 [10,9] 3.900	4.410 [12,1] 4.660	7.130 [8,5] 7.250	11.600 [7,6] 19.440	5.810 [12,9] 4.960	14.140 [16,6] 15.460
8.590 ±1.350	7.875 ±849	5.620 ±1.064	4.740 ±151	12.430 ±3.131	12.110 ±1.419	7.980 ±1.754	11.635 ±1.884
NS		NS		NS		NS	
Monoglycérides							
8.770 6.590 4.400 [4,9] 3.620	1.900 1.490 5.750 [3,7] 4.960	2.240 2.450 480 [2,7] 480	1.350 1.460 1.420 [3,6] 1.500	6.500 8.185 2.580 [3,3] 2.630	14.340 10.140 4.970 [5,2] 4.040	8.240 5.300 3.540 [8,1] 3.015	2.660 3.380 6.800 [7,2] 7.425
5.840 ±1.160	3.525 ±1.085	1.410 ±541	1.430 ±32	4.975 ±1.414	8.370 ±2.377	5.020 ±1.176	5.065 ±1.185
NS		NS		NS		NS	
Acides gras non estérifiés							
18.630 20.110 16.250 [14,0] 11.360	12.870 17.420 12.215 [14,9] 15.020	28.460 31.080 23.320 [53,7] 25.190	16.880 18.290 18.470 [46,6] 19.475	19.250 35.350 19.950 [17,7] 31.550	26.160 22.550 23.830 [15,1] 23.240	45.700 29.390 37.760 [61,0] 32.270	34.765 44.170 35.690 [55,4] 39.040
16.600 ±229	14.380 ±1.170	27.010 ±1.730	18.280 ±536	26.590 ±4.075	23.945 ±789	36.280 ±3.602	38.415 ±2.121
NS		0,002 < P < 0,005		NS		NS	

(*) Toutes les valeurs ont été corrigées de manière à rendre égale la radioactivité totale introduite dans le milieu pour toutes les expériences (1.000.000 CPM/2ml de flacon).
Encadré : exprimé en % de radioactivité.

Le choix de deux temps différents devait permettre de voir si la prolongation de l'expérience allait ou non faire apparaître une différence entre diaphragme de rats normaux et de rats néphrotiques (différence qui pourrait n'être pas bien décelée après 30 minutes d'incubation). Ces expériences ont été effectuées dans un milieu sans glucose. Dans une autre série, l'incorporation de glycérol-1-C¹⁴ a été étudiée en milieu glucosé mais après 90 minutes seulement.

Le tableau XXIX montre la quantité de glycérol (en millimicro-moles par gramme de tissu) incorporée dans les glycérides. On constate qu'en l'absence de glucose, après 30 minutes d'incubation, 6 millimicro-moles de glycérol sont incorporés par gramme de tissu ; il n'y a pas de différence entre diaphragmes normaux et néphrotiques. L'incorporation est deux fois et demie plus importante après 90 minutes pour les diaphragmes normaux ; elle est à peine plus faible (1,9 fois) pour les diaphragmes néphrotiques. La différence n'est pas significative.

L'addition de glucose au milieu d'incubation ne modifie pas l'incorporation dans les glycérides de diaphragmes normaux mais la diminue significativement pour les diaphragmes néphrotiques. Ce phénomène pourrait résulter de trois causes :

- 1) ou bien la transformation du glycérol en glycérophosphate utilisable pour la synthèse des glycérides est en partie inhibée chez le rat néphrotique : cette hypothèse est toutefois peu vraisemblable puisque, dans un milieu non enrichi en glucose, l'incorporation est analogue pour les diaphragmes normaux et néphrotiques ;
- 2) ou bien l'inhibition de l'incorporation du glycérol en présence de glucose résulte chez le rat néphrotique d'une compétition entre le glycérol marqué et le glycérophosphate formé à partir du glucose, ce dernier, constituant le substrat naturel de cette synthèse, étant utilisé préférentiellement ;
- 3) ou bien la diminution d'incorporation de glycérol-1-C¹⁴ résulte seulement de la dilution du glycérophosphate marqué par le glycérophosphate froid provenant de la transformation du glucose. Cet effet de dilution serait plus apparent chez le rat néphrotique que chez le normal s'il existait chez le premier une déficience préalable en substrat glycérophosphate.

Dans le tableau XXX sont données les activités spécifiques des glycérides en cpm/mg de glycéride. Ces activités spécifiques sont au moins deux fois plus élevées pour les diaphragmes néphrotiques que pour les normaux. Ce phénomène peut entièrement s'expliquer comme nous

TABLEAU XXIX

Incorporation de glycérol-1-C¹⁴ dans les glycérides
(millimicromoles par gramme de tissu humide)

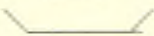
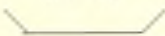
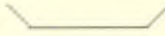
Milieu d'incubation sans glucose		Milieu d'incubation avec glucose
30 minutes	90 minutes	90 minutes
normaux néphrotiques	normaux néphrotiques	normaux néphrotiques
<p>Série du 9-11-63 5,70 6,30 (pool 2 rats) (pool 2 rats)</p> <p>6,50 6,40 (pool 2 rats) (pool 2 rats)</p> <p>4,80 7,90</p> <p>M = 5,80 M = 6,70 ±0,31 ±0,31 n = 5</p> <p align="center">  NS </p>	<p>Série du 28-10-63 13,5 15,5 12,8 18,0 10,1 8,0 14,6 14,6 13,3 (*) 7,5 10,8 10,4 13,9 6,0 14,9 6,8</p> <p>Série du 20-5-64 17,1 16,0 (pool 2 rats) (pool 2 rats)</p> <p>15,9 16,2 (pool 2 rats) (pool 2 rats)</p> <p>Série du 2-6-64 17,6 14,3 16,9 (pool 3 rats) (pool 2 rats)</p> <p>M = 14,7 M = 12,8 ±0,6 ±1,0 n = 15</p> <p align="center">  NS </p>	<p>Série du 9-11-63 12,6 10,2 13,7 7,7 15,9 12,0</p> <p>Série du 13-11-63 16,3 10,9 (pool 3 rats) (pool 3 rats)</p> <p>Série du 25-3-64 14,6 6,3 (pool 2 rats) (pool 2 rats)</p> <p>Série du 20-5-64 12,8 9,7 (pool 2 rats) (pool 2 rats) 14,5 12,0 (pool 2 rats) (pool 2 rats)</p> <p>Série du 2-6-64 17,4 10,8 16,2 (pool 3 rats) (pool 2 rats)</p> <p>M = 15,0 M = 10,0 ±0,4 ±0,3 n = 15</p> <p>Série du 23-10-64 13,5 7,8 (pool 10 rats) (pool 20 rats)</p> <p>M.G. 14,4 M.G. 8,8 n = 25 n = 35</p> <p align="center">  P < 0,01 </p>

TABLEAU XXX
 Activité spécifique CPM/mg de glycérine
 (glycérol-1-C¹⁴)

Milieu d'incubation sans glucose		Milieu d'incubation avec glucose (10 ⁻² M)
30 minutes	90 minutes	90 minutes
normaux néphrotiques	normaux néphrotiques	normaux néphrotiques
<p align="center">Série du 9-11-63</p> <p>865 3.900 (pool 2 rats) (pool 2 rats)</p> <p>805 3.410 (pool 2 rats) (pool 2 rats)</p> <p>687 3.100</p> <hr/> <p>M = 805 M = 3.540 ±32 ±156 n = 5</p> <p align="center">~~~~~</p> <p align="center">P < 0,001</p>	<p align="center">Série du 28-10-63</p> <p>2.075 3.370 1.960 3.780 2.050 2.110 1.560 6.030 2.240 2.860 1.650 4.160 2.280 3.520 2.120 4.200</p> <p align="center">Série du 20-5-64</p> <p>2.450 4.440 (pool 2 rats) (pool 2 rats)</p> <p>2.640 4.460 (pool 2 rats) (pool 2 rats)</p> <p align="center">Série du 2-6-64</p> <p>2.330 7.720 (pool 3 rats)</p> <p>2.550 (pool 2 rats)</p> <hr/> <p>M = 2.240 M = 4.700 ±87 ±460 n = 15</p> <p align="center">~~~~~</p> <p align="center">P < 0,001</p>	<p align="center">Série du 9-11-63</p> <p>2.265 4.300 1.550 4.160 1.590 5.610</p> <p align="center">Série du 13-11-63</p> <p>1.760 3.480 (pool 3 rats) (pool 3 rats)</p> <p align="center">Série du 20-5-64</p> <p>2.360 2.610 (pool 2 rats) (pool 2 rats)</p> <p>1.580 3.060 (pool 2 rats) (pool 2 rats)</p> <p align="center">Série du 2-6-64</p> <p>1.975 5.360 (pool 3 rats)</p> <p>3.160 (pool 2 rats)</p> <hr/> <p>M = 2.120 M = 4.000 ±160 ±450 n = 13</p> <p align="center">~~~~~</p> <p align="center">P < 0,001</p>

l'avons vu pour l'incorporation du palmitate, par la différence significative observée entre les taux de glycérides des diaphragmes normaux et néphrotiques.

Dans le tableau XXXI est étudié le taux d'incorporation du glycérol dans les phospholipides. Il est exprimé en millimicromoles par gramme de tissu. Il n'y a pas de différence d'incorporation entre diaphragmes normaux et néphrotiques, en l'absence de glucose dans le milieu, tant après 90 qu'après 30 minutes d'incubation. Par contre, après 90 minutes, l'incorporation est 2,5 fois plus importante pour les muscles normaux et 2,8 fois plus grande pour les muscles néphrotiques qu'après 30 minutes. En milieu glucosé, on constate une incorporation plus faible du glycérol dans les phospholipides des diaphragmes néphrotiques que dans ceux des normaux. Le phénomène avait été observé pour la fraction glycéridique des muscles avec une beaucoup plus grande netteté que pour les phospholipides. L'interprétation des deux observations est sans doute la même.

Le tableau XXXII donne les activités spécifiques (cpm/mg) des phospholipides dans ces expériences.

Le tableau XXXIII montre les taux d'incorporation du glycérol dans les différentes fractions glycéridiques : mono-, di- et triglycérides. Ils sont exprimés en pourcentage de l'incorporation mesurée dans les glycérides totaux. Aucune différence n'apparaît dans la répartition de la radioactivité entre les fractions glycéridiques des diaphragmes normaux et néphrotiques en l'absence de glucose. En milieu glucosé, l'incorporation dans les trois fractions n'est pas modifiée pour les diaphragmes normaux. Au contraire, de petites différences, mais significatives, apparaissent chez les néphrotiques ; la fraction des monoglycérides est significativement plus élevée que chez les normaux, cela aux dépens de la fraction triglycéridique.

Cette différence observée par la technique de séparation en couche mince ne se retrouve pas lors de la séparation des trois fractions sur colonne d'acide silicique selon la méthode de Barron et Hanahan (tableau XXXIV). La chromatographie sur couche mince surestime habituellement le pourcentage de radioactivité fixée aux monoglycérides tout en ne modifiant pas celui lié à la fraction des diglycérides. Pour cette raison, nous n'avons pas cru pouvoir retenir cette observation et en tirer une quelconque conclusion.

TABLEAU XXXI

Incorporation de glycérol-1-C¹⁴ dans les phospholipides
(millimicromoles par gramme de tissu humide)

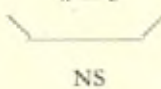
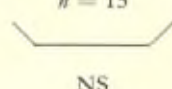

Milieu d'incubation sans glucose		Milieu d'incubation avec glucose (10 ⁻² M)
30 minutes	90 minutes	90 minutes
normaux néphrotiques	normaux néphrotiques	normaux néphrotiques
<p align="center">Série du 9-11-63</p> <p>3,5 3,3 (pool 2 rats) (pool 2 rats)</p> <p>3,0 3,7 (pool 2 rats) (pool 2 rats)</p> <p>5,6 6,1</p> <p>M = 3,7 M = 4,0 ±0,48 ±0,53 n = 5</p> <p align="center"> NS</p>	<p align="center">Série du 28-10-63</p> <p>7,8 10,5 10,3 12,1 8,4 6,8 7,4 7,2 5,5 7,3 6,9 6,6 5,8 9,0 7,0 7,9</p> <p align="center">Série du 20-5-64</p> <p>9,0 17,3 (pool 2 rats) (pool 2 rats)</p> <p>12,4 17,9 (pool 2 rats) (pool 2 rats)</p> <p align="center">Série du 2-6-64</p> <p>10,1 10,0 (pool 3 rats)</p> <p>13,3 (pool 2 rats)</p> <p>M = 9,2 M = 11,2 ±0,60 ±1,10 n = 15</p> <p align="center"> NS</p>	<p align="center">Série du 9-11-63</p> <p>9,5 6,5 7,9 6,4 4,9 4,9</p> <p align="center">Série du 13-11-63</p> <p>11,4 14,0 (pool 2 rats) (pool 2 rats)</p> <p>10,0 9,6 (pool 2 rats) (pool 2 rats)</p> <p>8,4 6,7 (pool 2 rats) (pool 2 rats)</p> <p align="center">Série du 25-3-64</p> <p>7,7 6,6 (pool 2 rats) (pool 2 rats)</p> <p align="center">Série du 20-5-64</p> <p>12,6 10,4 (pool 2 rats) (pool 2 rats)</p> <p>7,9 7,9</p> <p align="center">Série du 2-6-64</p> <p>10,9 8,0 14,0 (pool 3 rats) (pool 2 rats)</p> <p>M = 10,0 M = 8,5 ±0,54 ±0,63 n = 17</p> <p align="center">Série du 23-10-64</p> <p>7,3 5,7 (pool 10 rats) (pool 20 rats)</p> <p>M.G. 9,0 M.G. 7,0 n = 27 n = 37</p> <p align="center"></p>

TABLEAU XXXII

Activité spécifique CPM/mg de phospholipide
(glycérol-1-C¹⁴)

Milieu d'incubation sans glucose		Milieu d'incubation avec glucose (10 ⁻² M)
30 minutes	90 minutes	90 minutes
normaux néphrotiques	normaux néphrotiques	normaux néphrotiques
<p>Série du 9-11-63</p> <p>253 215 (pool 2 rats) (pool 2 rats)</p> <p>201 226 (pool 2 rats) (pool 2 rats)</p> <p>200 188</p> <p>M = 222 M = 214 ±13 ±7 n = 5</p> <p>NS</p>	<p>Série du 28-10-63</p> <p>418 568 453 366 296 394 314 488 554 655 401 383 373 355 380 425</p> <p>Série du 20-5-64</p> <p>551 843 (pool 2 rats) (pool 2 rats)</p> <p>655 962 (pool 2 rats) (pool 2 rats)</p> <p>Série du 2-6-64</p> <p>488 589 (pool 2 rats) (pool 3 rats)</p> <p>631</p> <p>M = 491 M = 599 ±32 ±55 n = 15</p> <p>0,05 > P > 0,025</p>	<p>Série du 9-11-63</p> <p>258 254 321 188 296 216</p> <p>Série du 13-11-63</p> <p>530 693 (pool 2 rats) (pool 2 rats)</p> <p>707 561 (pool 2 rats) (pool 2 rats)</p> <p>491 436 (pool 2 rats) (pool 2 rats)</p> <p>Série du 20-5-64</p> <p>808 362 (pool 2 rats) (pool 2 rats)</p> <p>456 540 (pool 2 rats) (pool 2 rats)</p> <p>Série du 2-6-64</p> <p>481 470 (pool 3 rats)</p> <p>653 (pool 2 rats)</p> <p>547 ± 45 460 ± 40 n = 15</p> <p>331 293 (pool 10 rats) (pool 20 rats)</p> <p>M = 460 M = 364</p> <p>0,01 < P < 0,05</p>

TABLEAU XXXIII

Incorporation de glycérol-1-C¹⁴ dans le muscle
(en %) (technique de la couche mince)

Milieu d'incubation
sans glucose

Milieu d'incubation avec
glucose (10⁻² M)

	Normaux	Néphrotiques	Normaux	Néphrotiques
Mono- glycérides	Série du 20-5-64			
	3,4 (pool 2 rats)	7,1 (pool 2 rats)	3,3 (pool 2 rats)	10,1 (pool 2 rats)
	4,6 (pool 2 rats)	3,3 (pool 2 rats)	4,3 (pool 2 rats)	8,3 (pool 2 rats)
	Série du 2-6-64			
	5,5 (pool 2 rats)	4,4 (pool 3 rats)	2,4 (pool 2 rats)	8,0 (pool 3 rats)
	3,3		9,2	
Di- glycérides	4,3 ± 0,37	4,9 ± 0,61	-4,2 ± 0,89	8,7 ± 0,37
	Série du 20-5-64			
	16,6 (pool 2 rats)	18,7 (pool 2 rats)	14,2 (pool 2 rats)	17,5 (pool 2 rats)
	13,3 (pool 2 rats)	16,9 (pool 2 rats)	14,0 (pool 2 rats)	23,0 (pool 2 rats)
	Série du 2-6-64			
	23,7 (pool 2 rats)	21,4 (pool 3 rats)	12,2 (pool 2 rats)	18,7 (pool 3 rats)
Tri- glycérides	16,9 ± 1,3	19,3 ± 0,78	15,4 ± 1,13	19,6 ± 0,9
	Série du 20-5-64			
	80,1 (pool 2 rats)	74,0 (pool 2 rats)	82,5 (pool 2 rats)	72,4 (pool 2 rats)
	82,1 (pool 2 rats)	82,0 (pool 2 rats)	81,8 (pool 2 rats)	68,6 (pool 2 rats)
	Série du 2-6-64			
	73,0 (pool 2 rats)	74,3 (pool 3 rats)	81,5 (pool 2 rats)	73,3 (pool 3 rats)
	77,2		78,0	
	78,8 ± 1,23	76,4 ± 1,44	80,9 ± 0,75	71,7 ± 0,81

TABLEAU XXXIV

Expériences d'incorporation du glycérol-1-C¹⁴ dans le muscle

Séparation de la radioactivité de trois fractions glycériques (par la technique de séparation sur colonne d'acide silicique) (en %)		
	Normaux (10 rats)	Néphrotiques (20 rats)
Tri.	80,5 %	82,9 %
Di.	18,5 %	15,4 %
Mono.	1,32 %	2,0 %
Pourcentage de trois fractions glycéridiques (en esters de tripalmitine)		
	Normaux	Néphrotiques
Tri.	83,0 %	77,6 %
Di.	10,4 %	12,7 %
Mono.	6,2 %	9,9 %

4. En présence de glucose

Dans des expériences préalables non reprises dans cette étude nous avons observé : que la quantité de radioactivité incorporée dans les glycérides et les phospholipides du tissu musculaire était inversement proportionnelle à la concentration du milieu d'incubation en glucose. Le rapport radioactivité incorporée/concentration de glucose du milieu était le plus élevé à la concentration de 1 μ mole par flacon contenant 3 ml. C'est cette concentration qui a été choisie pour les expériences ultérieures. Nous avons aussi noté que la radioactivité se retrouvait intégralement dans la fraction glycérol des phospholipides et des triglycérides et qu'elle était pratiquement nulle dans les FFA (couche mince de Silicagel).

Dix hémidiaphragmes de rats normaux et 20 hémidiaphragmes de rats néphrotiques ont été incubés séparément en présence de glucose-1- C^{14} (1 μ mole par flacon) pendant 90 minutes. La radioactivité du C^{14} a été déterminée dans les protéines séparées par précipitations et lavages successifs (voir chapitre méthodes), dans les phospholipides après deux lavages par la technique de Folch. L'extrait glycéridique contenu dans la phase chloroformique provenant de la première chromatographie sur colonne d'acide silicique (selon Borgström) a été évaporé et repris dans 2 ml d'hexane. Cet échantillon a été versé sur une nouvelle colonne d'acide silicique selon la méthode de Barron et Hanahan, la colonne étant reliée à un manomètre à mercure, de manière à exercer sur elle une pression d'azote de 12 à 28 cm de Hg. Les solvants suivants ont été appliqués successivement : hexane, benzène-hexane, éther 5 % dans hexane, éther 15 % dans hexane, éther 30 % dans hexane et éther 50 % dans hexane et enfin éther éthylique pur. Des fractions de 15 ml sont séparées à l'aide d'une fractionneuse.

La figure 5 montre la répartition de la radioactivité dans les différents tubes lorsque l'extrait d'un pool de diaphragmes normaux et celui d'un pool de diaphragmes néphrotiques sont soumis à ce fractionnement. L'étude des courbes d'élution montre une similitude dans le délai d'apparition des pics, dans leur localisation et dans leur amplitude. Le tableau XXXV montre le pourcentage de la radioactivité dans les tri-, di- et monoglycérides et le pourcentage en esters présent dans les 3 fractions.

Le tableau XXXVI montre la répartition de la radioactivité dans les phospholipides, les protéines et les mono-, di- et triglycérides exprimée en % de la quantité introduite dans le flacon ou dose (cpm/g/dose). Il n'existe aucune différence entre les valeurs obtenues pour le pool de 10 diaphragmes normaux et celui de 20 diaphragmes néphrotiques. Dans les deux cas, le pourcentage de la dose incorporée dans toutes les fractions investiguées est très faible.

5. En présence de leucine (Tableaux XXXVII à XXXIX)

L'incubation en présence d'un acide aminé, la leucine- C^{14} (U), a été effectuée pour 32 hémidiaphragmes de rats normaux et 32 hémidiaphragmes de rats néphrotiques à jeûn et pour 14 hémidiaphragmes de rats normaux et 14 de rats néphrotiques nourris pendant la période précédant l'expérience. Dans chaque hémidiaphragme, on a mesuré la radioactivité contenue dans les glycérides. La faible incorporation dans



FIG. 5 : Chromatographie sur colonne d'acide silicique, des lipides neutres du diaphragme de rat

Les déterminations radio-actives sont faites sur un aliquot de chaque tube du collecteur de fractions. Fraction 5% éther-hexane : triglycérides
Fraction 15% éther-hexane , diglycérides. Fraction 30% éther-hexane : monoglycérides.

les lipides en général n'a pas rendu possible la répartition de la radio-activité entre les divers types de glycérides. L'incorporation dans les phospholipides n'a été pratiquée valablement que dans les dernières expériences car pour obtenir une valeur stable il a fallu pratiquer 3 lavages de type Folch sur la phase méthanolique renfermant les phospholipides. La mesure de la radioactivité dans d'autres constituants tissulaires que les lipides, notamment les protéines musculaires a été déterminée dans 15 expériences de rats à jeun et 12 expériences de rats normaux.

Nous n'avons pas cru pouvoir parler de μ moles de leucine incorporés car, dans les fractions lipidiques notamment, il ne s'agit pas d'incorporation de leucine mais bien de C¹⁴ provenant de la transformation métabolique de cette leucine.

La majeure partie de la radioactivité (en % de la dose) se retrouve dans la fraction protéique (de 3 à 4 %). Que l'animal ait été à jeun ou

TABLEAU XXXV

Expériences d'incorporation du glucose-1-C¹⁴ dans le diaphragme incubé

Séparation de la radioactivité de trois fractions glycéridiques (après passage sur colonne d'acide silicique selon Barron et Hanahan) (en %)		
	Rats normaux (10 rats)	Rats néphrotiques (20 rats)
Tri.	80,8	81,5
Di.	17,7	16,6
Mono.	1,73	1,93
Pourcentage de trois fractions (en esters de tripalmitine)		
	Rats normaux (Pool)	Rats néphrotiques (Pool)
Tri.	86,0	83,1
Di.	9,6	10,6
Mono.	4,4	6,4

TABLEAU XXXVI

Incorporation de glucose-1-C¹⁴ en pourcentage de la dose

$$\left[\frac{\text{CPM/G}}{\text{Dose}} \right]$$

	Tri- glycérides	Di- glycérides	Mono- glycérides	Phospho- lipides	Protéines
Rats normaux (10 valeurs)	0,170	0,037	0,004	0,038	0,64
	0,211				
Rats néphrotiques (20 valeurs)	0,183	0,037	0,005	0,040	0,65
	0,225				

nourri, pendant les 20 heures qui précèdent l'expérience, ne modifie pas l'incorporation protéique (tableau XXXVII). De même, le diaphragme néphrotique ne contient ni plus ni moins de radioactivité dans les protéines que le diaphragme normal (3,49 contre 3,19 % chez les animaux à jeun et 4,02 contre 3,43 % lorsque les diaphragmes proviennent d'animaux nourris). Le pourcentage de la dose de radioactivité

TABLEAU XXXVII

Incorporation du C^{14} provenant de la leucine (U) C^{14} dans les protéines
exprimés en cpm/g de tissu soit en % de la dose.

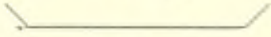
dose			
Rats à jeûn		Rats nourris	
Normaux	Néphrotiques	Normaux	Néphrotiques
Expérience du 14-8-63		Expérience du 8-12-63	
3,48	2,15	3,53	3,20
2,69	2,80	2,75	1,96
2,46	2,41	3,09	4,82
3,12	2,91	2,86	4,42
3,37	3,13	3,31	3,95
3,00	2,35	3,13	2,60
2,56	2,08	4,87	3,62
		3,10	3,79
Expérience du 27-1-64		Expérience du 27-1-64	
3,65	2,59	5,70	3,77
3,13	3,12	6,34	3,65
3,10	3,29	5,00	2,96
2,96	2,26	4,66	2,45
Expérience du 25-2-64			
4,85	4,56		
5,50	4,68		
4,72	4,88		
3,88	4,69		
<div style="display: flex; justify-content: space-between; align-items: center;"> <div style="text-align: center;"> <hr style="width: 100px; border: 0.5px solid black;"/> M. 3,49±0,23 </div> <div style="text-align: center;"> <hr style="width: 100px; border: 0.5px solid black;"/> 3,19±0,17 </div> </div> <div style="text-align: center; margin-top: 5px;"> $n = 15$ </div> <div style="text-align: center; margin-top: 10px;"> NS </div>		<div style="display: flex; justify-content: space-between; align-items: center;"> <div style="text-align: center;"> <hr style="width: 100px; border: 0.5px solid black;"/> M. 4,02±0,35 </div> <div style="text-align: center;"> <hr style="width: 100px; border: 0.5px solid black;"/> 3,43±0,24 </div> </div> <div style="text-align: center; margin-top: 5px;"> $n = 12$ </div> <div style="text-align: center; margin-top: 10px;"> NS </div>	

TABLEAU XXXVIII

Incorporation du C^{14} provenant de la leucine (U) C^{14} dans les glycérides
$$\left[\frac{\text{en cpm/g}}{\text{dose}} \text{ soit en } \% \text{ de la dose} \right]$$

Rats à jeûn		Rats nourris	
Normaux	Néphrotiques	Normaux	Néphrotiques
Série du 14-8-63		Série du 18-12-63	
0,50	0,65	2,07	0,47
0,50	0,62	0,95	0,34
0,70	0,57	0,97	0,46
0,50	0,45	1,31	0,96
0,60	0,25	1,27	0,85
0,46	0,70	2,02	0,54
0,49	0,95	2,50	0,59
		2,58	0,27
Série du 1-7-63		Série du 27-1-64	
0,66	0,87	1,20	1,97
0,52	0,37	1,73	1,45
1,00	0,17	1,75	1,45
1,05	1,22	1,75	1,40
1,00	0,96		
0,77	0,66		
Série du 23-7-63		Série du 4-5-64	
0,79	0,43	1,40	0,98
0,70	0,44	1,42	0,85
0,80	0,38		
0,67	0,57		
1,32	0,45		
0,98	0,33		
1,32	0,40		
1,40	0,45		
Série du 27-1-64		$M. 1,63 \pm 0,14 \quad 0,90 \pm 0,16$ $n = 14$ $0,001 < P < 0,005$	
0,64	0,31		
0,97	0,43		
1,59	0,40		
0,78	0,35		

TABLEAU XXXVIII (Suite)

Rats à jeûn		Rats nourris	
Normaux	Néphrotiques	Normaux	Néphrotiques
Série du 25-2-64 0,57 0,36 0,38 0,24 0,55 0,31 0,52 0,49			
Série du 15-4-64 0,49 0,25 0,57 (pool 3 rats) 0,57			
<hr/> M. 0,77 ± 0,06 0,52 ± 0,05 n = 32 <hr/>			
<div style="text-align: center;">  </div> 0,001 < P < 0,005			

incorporée dans les phospholipides est très faible et il n'a pas été possible de noter une différence entre rats normaux et rats néphrotiques pour les 12 hémidiaphragmes étudiés (tableau XXXIX). Par contre, une différence significative d'incorporation existe pour les glycérides entre rats à jeûn et rats nourris (tableau XXXVIII) aussi bien chez le rat normal que chez le néphrotique ; il en existe également une entre rats normaux et rats néphrotiques, aussi bien à jeûn que chez les animaux nourris.

La présence ou l'absence de glucose dans le milieu d'incubation n'a eu aucun effet sur l'incorporation de la leucine dans le tissu. Ce fait avait déjà été mentionné par Kosryo (1959) pour l'incorporation de la DL-leucine dans les protéines de diaphragmes de rats normaux.

Dans le diaphragme normal, l'incorporation de C^{14} (provenant de la leucine- C^{14}) dans les glycérides est plus faible chez l'animal à jeûn que chez le nourri. Quand l'animal est nourri, une quantité plus grande d'acétyl CoA provenant de la transformation métabolique de la leucine

TABLEAU XXXIX

Incorporation du C^{14} provenant de la leucine (U) C^{14} dans les phospholipides
$$\left[\begin{array}{c} \text{cpm/g} \\ \text{en } \frac{\quad}{\text{dose}} \text{ soit en } \% \text{ de la dose} \end{array} \right]$$

Rats normaux		Rats néphrotiques
Série du 27-1-64		
0,33		0,67
0,40		0,44
0,47		0,59
0,52		0,50
Série du 25-2-64		
0,50		0,40
0,43		0,59
0,41		0,56
0,43		0,35
Série du 4-5-64		
0,52		0,35
0,43		0,42
0,43		0,42
0,45		0,35
Moy. $0,44 \pm 0,02$		$0,48 \pm 0,04$
N.S.		

peut être disponible pour son utilisation vers la voie métabolique lipidique. Chez le rat à jeun, une fraction plus importante peut être utilisée comme source d'énergie. Chez le rat néphrotique, la réduction des sources d'énergie disponibles ou la conversion accrue vers les hydrates de carbone pourrait expliquer l'incorporation plus faible dans les glycérides par rapport au rat normal.

CHAPITRE 4

MESURE DE L'OXYDATION « IN VITRO »

1. Quantité de CO_2 produite

MODE DE DÉTERMINATION DU QCO_2

La description des fioles de Dixon-Keilin et la préparation des milieux d'incubation a été faite dans le chapitre traitant des méthodes.

Après une période de thermoéquilibration de 15 minutes le niveau du liquide dans les 2 branches du manomètre est ramené à une valeur de référence de 150 mm. Au temps 0 de l'expérience la dénivellation est quasi nulle. Après 60 minutes d'incubation du tissu, on mesure une dénivellation dans le bras ouvert du manomètre. Celle-ci correspond à la différence entre la quantité d'oxygène consommé (qui est plus importante) et la quantité de CO_2 libérée. Quinze minutes après l'addition d'HCl on mesure à nouveau la dénivellation du manomètre, l'acide ayant libéré le CO_2 dissous dans la solution. On met ensuite la cupule du robinet inférieur en contact avec l'intérieur de la fiole afin de permettre la captation du CO_2 par la soude qui s'y trouve et on mesure la dénivellation finale qui en résulte.

CALCUL DE CONSTANCE DE LA FIOLE : k

Suivant la formule de UMBREIT (1957)

$$k = \frac{V_g \frac{273}{T} + \alpha V_f}{P_0}$$

où V_g = volume du gaz dans le flacon ;

T = température en degrés absolus ;

V_f = volume du liquide dans la fiole ;

α = solubilité dans le liquide de réaction du gaz utilisé (pour le $\text{CO}_2 = 0,567$) ;

P_0 = pression standard 760 mm Hg ou 10.000 mm de liquide de Brodie.

DÉTERMINATION DU QCO_2

$$k \times d = X$$

où k = constante de la fiole ;

d = dénivellation entre le niveau lu après addition d'acide et le niveau atteint après captation de tout le CO_2 par la soude.

Le résultat X est exprimée en μl .

La valeur transformée en $\mu moles$ est donnée par la formule :

$$\frac{X}{22,4 \times 0,79}$$

où 22,4 est le facteur de transformation de μl en $\mu moles$;

0,79 étant le facteur de correction pour la rétention d'acide dans le milieu.

Le QCO_2 exprimé en $\mu moles$ doit être multiplié par 20 pour l'obtenir par gramme de tissu et par heure.

La quantité de CO_2 (QCO_2 en $\mu moles/g \times h$) formé par le diaphragme en présence de divers substrats a été déterminée chez 60 rats normaux, 69 rats néphrotiques et 16 rats isonourris.

Que le substrat soit du palmitate-1- C^{14} ou du glycérol-1- C^{14} , le QCO_2 des diaphragmes de 22 rats normaux mis dans un milieu sans glucose est égal à celui mesuré sur les diaphragmes de 22 rats néphrotiques (tableau XL). L'addition de glucose non marqué (à la concentra-

TABLEAU XL

QCO_2 ($\mu moles/g \times heure$) en présence de palmitate ou de glycérol
(à doses traceuses)

Rats normaux	Rats néphrotiques
MILIEU SANS GLUCOSE	
Série du 13-7-64	
38,6	56,4
61,2	

TABLEAU XL (suite)

Rats normaux		Rats néphrotiques
	Série du 31-7-64	
60,0		45,2
	Série du 3-8-64	
46,2		47,4
49,6		43,0
	Série du 19-8-64	
62,0		72,0
54,2		85,8
54,0		63,6
	Série du 26-8-64	
72,6		38,5
		51,0
	Série du 29-9-64	
33,0		52,0
56,6		50,6
60,2		33,4
	Série du 6-10-64	
47,0		54,4
58,8		48,8
		48,4
	Série du 9-11-64	
54,4		46,0
53,4		44,0
47,0		56,6
42,2		
	Série du 17-11-64	
56,0		59,0
66,0		40,2
56,6		62,8
60,2		52,6
Moy. 54,1 ± 2,0		52,3 ± 2,5
	$n = 22$	

TABLEAU XL (suite)

Rats normaux		Rats néphrotique
MILIEU AVEC GLUCOSE (10^{-2} M)		
	Série du 22-6-64	
58,0		54,2
65,6		47,2
66,0		56,4
56,2		65,2
	Série du 24-6-64	
55,0		55,7
40,2		47,2
47,0		46,5
	Série du 26-6-64	
53,4		60,2
54,6		46,4
63,6		45,2
	Série du 30-6-64	
64,2		52,2
57,6		58,4
44,2		48,5
	Série du 21-8-64	
53,0		64,0
54,2		30,0
50,0		37,6
		56,0
	Série du 24-8-64	
54,2		63,6
58,8		56,0
49,8		54,0
62,0		68,0
	Série du 26-8-64	
84,0		
65,4		49,4
Moy. $57,1 \pm 2,0$	$n = 22$	$53,2 \pm 2,0$

tion 1×10^{-2} M) au milieu contenant déjà le palmitate ou le glycérol marqué est sans effet sur le dégagement du CO_2 (22 rats normaux et 22 rats néphrotiques).

Lorsque le substrat est du glucose-1- C^{14} (à la concentration de $1,5 \times 10^{-6}$ Mole/flacon) (tableau XLI), le dégagement de CO_2 est en moyenne de 50,0 $\mu\text{moles/g/heure}$ pour les diaphragmes de 16 rats normaux et de 44,0 μmoles pour les diaphragmes de 25 rats néphrotiques. Il est de 56,2 μmoles pour les diaphragmes de 16 rats isonourris.

L'analyse de la variance (tableau XLII) montre, lorsqu'on étudie les QCO_2 des expériences pratiquées en présence de palmitate ou de glycérol marqué, qu'on n'observe aucune différence significative, ni par l'effet de la néphrose, ni par l'addition de glucose au milieu d'incubation.

Lorsqu'on compare les QCO_2 libérées par les diaphragmes des trois groupes d'animaux (normaux, néphrotiques et isonourris), en présence de glucose marqué (à doses traçantes), il existe une différence significative entre les groupes ($0,01 < P < 0,05$) mais celle-ci ne se manifeste que lorsqu'on compare les rats néphrotiques au groupe des rats isonourris ($P < 0,01$) (tableau XLIII).

Le quotient respiratoire des diaphragmes en présence de palmitate n'a pu être valablement déterminé en raison de l'importance du dégagement gazeux provenant de l'action de l'HCl sur le milieu.

Dans les autres conditions expérimentales étudiées, c'est-à-dire en présence de glycérol ou de glucose marqué, la mesure est possible. Les valeurs obtenues sont de 0,74, 0,70 et 0,79 pour les diaphragmes normaux selon les différents milieux expérimentaux (valeurs comparables à celles fournies par TUERKISCHER et WERTHEIMER, 1948 ; SUSHEELA et GEORGE, 1963), et de 0,78, 0,77 et 0,75 pour les diaphragmes néphrotiques. Comme on le voit, l'addition de glucose à forte concentration (10^{-2} M) n'affecte pas significativement la valeur. Ces QR relativement bas s'expliquent probablement comme l'ont suggéré NEPTUNE, SUD-DUTH, FASH et FOREMAN (1959) par une utilisation préférentielle des acides gras lorsque le diaphragme respire « *in vitro* » sans insuline. Ces moyennes suggérées ne sont pas significativement différentes entre diaphragmes normaux et diaphragmes néphrotiques. Ces mesures montrent toutefois une assez large dispersion, tant dans le groupe des témoins que dans le groupe des néphrotiques (tableau XLIV).

TABLEAU XLI
QCO₂ en présence de glucose-1-C¹⁴

Rats normaux	Rats néphrotiques	Rats isonourris
Série du 2-5-64		
45,6	44,6	
51,6	67,2	
52,6		
Série du 2-7-64		
44,0	31,8	
40,6	71,4	
Série du 6-7-64		
49,8	52,2	
66,6	40,2	
42,2	38,2	
57,0	56,2	
Série du 8-7-64		
44,2	37,8	
75,6	57,6	
70,0	54,4	
44,0	36,4	
	Série du 22-6-65	
	31,2	68,8
	24,0	86,0
	29,0	63,4
	53,0	44,0
	37,4	36,0
Série du 28-6-65		Série du 28-6-65
45,2		49,0
41,4		60,0
30,0		31,2
	Série du 30-6-65	
	44,4	62,0
	33,4	79,6
	52,4	68,0
	43,6	66,6
		64,0
	Série du 22-7-65	
	40,0	45,2
	41,4	50,2
	41,6	26,0
	41,4	
Moy. 50,0 ± 3,4 n = 16	44,0 ± 2,3 n = 25	56,2 ± 4,3 n = 16

TABLEAU XLII

QCO₂ en présence de palmitate et de glycérol

Sources de variation	DL	S. carrés	Carrés moyens	F	P
Glucose	1	84,82	84,82	1,283	NS
Néphrose	1	175,29	175,29	2,653	NS
Interaction	1	26,17	26,17	0,390	NS
Erreur	84	5.549	66,06		
Totale	87	5.835,30			

TABLEAU XLIII

QCO₂ en présence de glucose-1-C¹⁴

Sources de variation	DL	S. carrés	Carrés moyens	F	P
Groupes (NOR, NEP, ISO)	2	1.466	733	4,084	0,01 < P < 0,05
NOR/NEP, ISO	1	17	17	< 1	NS
NEP/ISO	1	1.449	1.449	8,073	< 0,01
Erreur	54	9.692	179,48		
Totale	56	11.158			

TABLEAU XLIV

Quotient respiratoire des diaphragmes de rats normaux et néphrotiques

Type	En présence de glycérol-1-C ¹⁴		En présence de glucose-1-C ¹⁴
	Milieu sans glucose	Milieu avec glucose	
Normaux	0,74 ±0,04 n = 13	0,70 ±0,03 n = 14	0,79 ±0,05 n = 12
Néphrotiques	0,78 ±0,04 n = 10	0,77 ±0,05 n = 12	0,75 ±0,03 n = 21

2. Oxydation du palmitate-1-C¹⁴

Dans un milieu d'incubation ne contenant pas de glucose, les diaphragmes de 14 rats normaux oxydent une quantité importante du palmitate marqué : en moyenne 146 mμmoles/g/heure, ce qui représente 19 % de la dose introduite dans le milieu (tableau XLV) ; les diaphragmes de 14 rats néphrotiques en oxydent une quantité identique : 139 mμmoles, soit 18 % de la dose.

L'addition de glucose à forte concentration (1×10^{-2} M) au milieu d'incubation ne diminue pas de manière importante la quantité de palmitate oxydée par les diaphragmes de rats normaux (123 mμmoles contre 146) mais elle diminue nettement la quantité oxydée par les diaphragmes de rats néphrotiques (83 contre 139 mμmoles). Nous n'avons donc pas pu montrer un effet d'épargne du glucose sur l'oxydation du palmitate par les diaphragmes normaux. Cependant, un examen plus détaillé des résultats du tableau XLV montre que des 10 valeurs mesurées en milieu glucosé, l'une d'elles (221) s'écarte considérablement de la moyenne des 9 autres (112 ± 10). La différence entre diaphragmes normaux en présence ou en absence de glucose, serait significative si on éliminait ce résultat aberrant. L'effet d'épargne existe donc probablement aussi pour le diaphragme de rat normal mais est peu important. SCHWARTZMAN et BROWN (1960) ont démontré sur des diaphragmes

TABLEAU XLV

Oxydation du palmitate-1-C¹⁴ en C¹⁴O₂ (*)
 par les diaphragmes de rats normaux et néphrotiques
 (en mμmoles oxydés par gramme et par heure)

Milieu d'incubation	Rats normaux	Rats néphrotiques
	Série du 13-7-64	
	159	136
	164	139
	176	143
Dépourvu	Série du 31-7-64	
	121	135
	173	126
de	Série du 3-8-64	
	139	101
	126	144
glucose	Série du 12-8-64	
	148	136
	122	133
	188	170
	147	159
	Série du 19-8-64	
	127	148
	108	164
	141	118
	Moy. 146 ± 6	139 ± 5
	n = 14	
	Série du 21-8-64	
	147	90
Contenant	135	100
	103	74
du	137	69
	Série du 24-8-64	
glucose	111	89
	135	73
(10 ⁻² M)	63	66
	99	98
	Série du 26-8-64	
	221	102
	78	71
	123 ± 14	83 ± 5
	n = 10	

(*) Concentration du palmitate : 0,60 μmoles/flacon.

normaux que l'effet d'épargne n'est manifeste que lorsque la concentration en glucose dépasse 200 mg/ml. Par contre, cet effet du glucose est déjà évident pour le diaphragme de rat néphrotique aux concentrations utilisées dans nos expériences (180 mg/ml). L'effet de concentrations plus basses n'a pas été étudié.

L'analyse de la variance (tableau XLVI) montre, en effet, une différence significative ($0,05 > P > 0,01$) entre rats normaux et néphrotiques ; elle devient hautement significative ($P < 0,001$) si l'on considère l'effet du glucose

3. Oxydation du glycérol-1-C¹⁴

Comme le montre le tableau XLVII, les fragments des diaphragmes de 17 rats normaux oxydent une quantité appréciable de glycérol : 471 m μ moles/g/heure, soit en moyenne 6,55 % de la dose. L'importance de cette oxydation témoigne de la présence d'une quantité non négligeable de glycérokinase dans le muscle. HOLZER et HOLLDOERF (1957) en avaient déjà montré la présence dans ce tissu. La quantité de glycérol oxydée par les diaphragmes de 17 rats néphrotiques n'est en moyenne pas significativement différente de celle des rats normaux : 537 m μ moles \pm 28 ou 7,45 % de la dose.

TABLEAU XLVI
Oxydation du palmitate-1-C¹⁴

Sources de variation	DL	S. carrés	Carrés moyens	F	P
Groupe NOR/NEP	1	4.831	4.881	6,973	$0,01 < P < 0,05$
Glucose	1	18.190	18.190	25,986	$< 0,001$
Interaction	1	3.271	3.271	4,676	$0,01 < P < 0,05$
Erreur	44	30.777	699,5		
Totale	47	57.119			

TABLEAU XLVII

Oxydation du glycérol-1-C¹⁴ en C¹⁴O₂ (*)
 par les diaphragmes normaux et néphrotiques
 (en mμmoles oxydés par gramme de tissu et par heure)

Milieu d'incubation	Rats normaux	Rats néphrotiques
	Série du 29-9-64	
	351	402
	250	490
	269	415
	347	395
Dépourvu	Série du 6-10-64	
	372	780
	428	611
en	434	412
	532	351
	378	564
glucose	Série du 9-11-64	
	722	564
	731	672
	545	669
	428	676
	Série du 17-11-64	
	592	593
	576	565
	447	460
	608	518
	471 ± 38 (6,55 %)	537 ± 28 (7,45 %)
	$n = 17$	
	Série du 22-6-64	
	616	522
	548	472
	405	600
	476	780

TABLEAU XLVII (Suite)

Milieu d'incubation	Rats normaux	Rats néphrotiques
Contenant	Série du 24-6-64	
	591	378
	415	324
	517	286
	448	
du	Série du 26-6-64	
	436	430
	358	578
	233	346
glucose		526
(10 ⁻² M)	Série du 30-6-64	
	605	316
	636	314
	513	538
	273	126
	471 ± 20 (6,55 %)	436 ± 42 (6,06 %)
	n = 15	

(*) Concentration en glycérol : 7,2 μ moles/flacon.

L'addition de glucose non marqué (10⁻² M) au milieu d'incubation ne modifie pas la quantité oxydée par le diaphragme normal (471 et 471 μ moles respectivement) ni celle oxydée par le diaphragme néphrotique (436 ± 42 contre 537 ± 28 μ moles). L'analyse de la variance (tableau XLVIII) ne montre aucune différence significative entre groupes (rats normaux et néphrotiques), ni de différence amenée par la présence de glucose dans le milieu.

4. Oxydation du glucose-1-C¹⁴

Le glucose comme le palmitate constitue naturellement un excellent substrat pour l'oxydation. Le diaphragme de rat normalement nourri oxyde en moyenne 367 μ moles de glucose par g/heure, ce qui représente 25 % de la dose (ou 4 fois plus que la quantité de glycérol oxydée (tableau XLIX).

TABLEAU XLVIII
Oxydation du glycérol-1-C¹⁴

Sources de variation	DL	S. carrés	Carrés moyens	F	P
Groupes NOR/NEP	1	5.494	5.494	0,289	NS
Glucose	1	41.112	41.112	2,168	NS
Interaction	1	41.367	41.367	2,182	NS
Erreur	60	1.137.411	18.956		
Totale	63	1.225.384			

Le diaphragme d'un rat isonourri oxyde une part encore plus importante de la dose : 32 % ou 485 μ moles/g/heure. La quantité de glucose oxydée par le diaphragme de rat néphrotique est de 481 μ moles/g/heure, c'est-à-dire identique à celle des rats normaux isonourris.

L'analyse de la variance (tableau L) montre qu'il existe une différence significative ($0,02 > P > 0,01$) entre rats normaux nourris *ad libitum*, d'une part, et rats néphrotiques ou isonourris, d'autre part. Par contre, aucune différence n'existe entre rats normaux isonourris et rats néphrotiques. L'alimentation jouerait donc un rôle primordial dans l'importance de cette oxydation.

5. Rapport du CO₂ marqué au CO₂ total expiré

Le tableau LI permet de comparer les rapports entre le CO₂ marqué et le CO₂ total en fonction du substrat. Il en résulte trois faits intéressants :

1) L'addition de glucose au milieu diminue considérablement la part du palmitate marqué intervenant dans la respiration du diaphragme isolé prélevé chez le rat néphrotique (0,155 contre 0,243 %) ($P < 0,01$) alors qu'elle est moins efficace chez le rat normal (0,262 % sans glucose et 0,215 % avec glucose) (tableau XLI et LII).

TABLEAU XLIX

Oxydation du glucose-1-C¹⁴ en C¹⁴O₂ (*)
 par les diaphragmes normaux, néphrotiques et isonourris
 (en mμmoles oxydés par gramme de tissu et par heure)

Rats normaux	Rats néphrotiques	Rats isonourris
Série du 2-7-64		
310	649	
322	864	
283	370	
Série du 6-7-64		
310	429	
441	353	
294	364	
278	554	
Série du 8-7-64		
397	585	
461	595	
Série du 22-6-65		
	586	392
	410	521
	222	400
	365	700
	782	
Série du 28-6-65		Série du 28-6-65
590		416
333		556
391		445
Série du 30-6-65		
	458	405
	422	332
	264	314
	645	629
		566

TABEAU XLIX (Suite)

Rats normaux	Rats néphrotiques	Rats isonourris
Série du 22-7-65		
	350	640
	466	481
	504	500
	346	471
Moy. 367 ± 27 $n = 12$	481 ± 35 $n = 22$	485 ± 28 $n = 16$
P < 0,01		NS

(*) Concentration en glucose : 1,50 μ mole/flacon.

TABEAU L
Oxydation de glucose-1-C¹⁴

Sources de variation	DL	S. carrés	Carrés moyens	F	P
Groupes	2	121.681	60.840	3,438	NS
NOR/NEP + ISON	1	121.497	121.497	6,866	0,01 < P < 0,02
NEP/ISON.	1	184	184	< 1	NS
Erreur	47	831.632	17.694		
Totale	49	953.313			

TABLEAU LI
 $C^{14}O_2/CO_2 \times 100$ (*)

	Palmitate		Glycérol		Glucose
	sans glucose	avec glucose	sans glucose	avec glucose	
Normal	(**) 0,262 ±0,012 (8)	NS 0,215 ±0,022 (8)	0,89 ±0,04 (13)	NS 0,84 ±0,035 (13)	0,76 ± 0,05 (12)
Normal « iso-nourri »	NS		NS		NS 0,83 ± 0,05 (14)
Néphro- tique	0,243 ±0,014 (8)	0,155 ±0,013 (8)	1,07 ±0,048 (13)	0,85 ±0,034 (13)	1,11 ± 0,07 (21)
	P < 0,01		P < 0,01		P < 0,01

(*) Ce rapport n'a été établi que chez les animaux pour lesquels on avait simultanément mesuré le QCO_2 et la quantité de glucose $-1-C^{14}$ oxydée.

(**) Valeurs ± standards de la moyenne.

NS Statistiquement non significatif.

(—) Nombre de rats étudiés.

TABLEAU LII
Rapport $C^{14}O_2/CO_2 \times 100$

Sources de variation	DL	S. carrés	Carrés moyens	F	P
Palmitate-1- C^{14}					
NOR/NEP	1	12.364	12.364	4,231	= 0,05
Glucose	1	36.924	36.924	12,636	< 0,01
Interaction	1	3.633	3.633	1,243	NS
Erreur	28	81.820	2.922		
Totale	31	134.741			
Glycérol-1- C^{14}					
NOR/NEP	1	1.270	1.270	2,439	NS
Glucose	1	2.396	2.396	4,601	0,01 < P < 0,05
Interaction	1	950	950	1,824	NS
Erreur	48	24.997	520,77		
Totale	51	29.613			
Glucose-1- C^{14}					
Groupes	2	11.516	5.758	9,339	< 0,01
NEP/NOR + ISO	1	11.234	11.234	18,221	< 0,01
NOR/ISON.	1	278	278	< 1	NS
Erreur	44	27.128	616,54		
Totale	46	38.644			

2) Le même effet s'observe en présence de glycérol marqué (tableau LII). Ceci n'est pas étonnant si l'on se rappelle que le glucose est le principal précurseur du glycérophosphate. L'effet du glucose à forte concentration pourrait s'expliquer par une inhibition en sa présence de la phosphorylation du glycérol, mais dans ce cas pourquoi cet effet se limiterait-il au diaphragme néphrotique. Ne résulte-t-il pas plutôt d'une différence dans les pools disponibles de glycérophosphate, celui du diaphragme néphrotique étant plus petit que celui du diaphragme normal. L'effet de dilution du glycérophosphate marqué (venant du glycérol-1-C¹⁴) par le glycérophosphate non marqué (provenant du glucose) serait alors plus apparent pour le diaphragme provenant d'animaux néphrotiques.

3) La participation, dans le processus respiratoire, du glucose marqué introduit à dose traçante, est beaucoup plus importante chez le rat néphrotique que chez le rat normal ou isonourri (*) (1,10 contre 0,76 et 0,83 % respectivement) ($P < 0,01$) (tableau LII).

(*) On remarquera dans le rapport que le numérateur (quantité de glucose marqué oxydée) est identique et que toute la différence provient de la variation du dénominateur (QCO_2).

DEUXIÈME PARTIE



EXPÉRIENCES IN VIVO

CHAPITRE 1

IMPORTANCE DE L'ALIMENTATION DIFFÉRENCE ENTRE RATS NORMAUX, ISONOURRIS ET NÉPHROTQUES

DRABKIN et MARSH (1955), bien que ne précisant pas la quantité de nourriture consommée par leurs rats normaux et néphrotiques, notaient que ces derniers « avaient un appétit excellent » et que « leur polyphagie apparente restait inexpliquée ». Par contre, GUTMAN et SHAFRIR (1963) observaient une réduction modérée de l'alimentation chez les rats néphrotiques.

Dans nos expériences, l'ingestion alimentaire des rats néphrotiques est nettement plus faible que celle des rats normaux : respectivement 12,5 g/jour contre 25 g/jour(*) (moyenne pour les 6 jours d'observation précédant l'expérience).

Les rats normaux « isonourris » recevaient chaque jour la même ration que celle consommée par les rats néphrotiques.

Si l'on compare ces deux groupes d'animaux, on observe d'importantes différences :

1) La glycémie des rats isonourris est comparable à celle des rats nourris *ad libitum* mais nettement supérieure à celle des rats néphrotiques. Chez des rats à alimentation réduite, HALMI et SPIRTOS (1956) notaient même une glycémie à jeûn plus élevée que celle des rats nourris *ad libitum*.

2) La teneur du muscle en glycogène (avant toute incubation) des rats isonourris est légèrement supérieure à celle des rats normaux (différence cependant non significative) mais beaucoup plus élevée que celle des rats néphrotiques ($P < 0,001$) (voir 1^{re} partie, chapitre 2).

3) La teneur en glycogène du foie est diminuée chez les rats néphrotiques (MARSH et DRABKIN, 1955) ; elle est, par contre, nettement accrue

(*) Aliment « Protector ».

chez les rats dont l'alimentation a été réduite (HALMI et SPIRTOS, 1956 ; TEPPERMAN et TEPPERMAN, 1958 ; STEVENSON, FELEKI, SZLAVKO et BEATON, 1964).

4) Lors d'études tissulaires *in vitro* (*), nous avons montré que les diaphragmes des rats isonourris incorporent la plus grande partie du palmitate marqué présent dans le milieu dans la fraction triglycéridique du tissu (83 % de la dose incorporée contre 55 % de celle-ci pour les diaphragmes normaux et 33 % seulement pour les diaphragmes néphrotiques (voir I^{re} partie, chapitre 3). Ce résultat traduisait au niveau du tissu musculaire des animaux soumis à une restriction alimentaire une lipogénèse nettement accrue. La lipogénèse du tissu adipeux *in vitro* est également fortement augmentée chez les rats dont l'alimentation a été donnée en 2 heures (sur les 24 h.) et consommant (comme nos rats néphrotiques) la moitié de la ration journalière normale (STEVENSON, FELEKI, SZLAVKO et BEATON, 1964).

5) Quoique les diaphragmes des rats isonourris (étudiés *in vitro*) oxydassent la même quantité de glucose marqué que les diaphragmes provenant des animaux néphrotiques, leur rapport $C^{14}O_2/CO_2$ était identique à celui des diaphragmes provenant de rats normaux, nourris *ad libitum* et nettement plus bas que celui observé chez les animaux néphrotiques (voir I^{re} partie, chapitre 4). Ces animaux étaient métaboliquement « hyperactifs », numérateur et dénominateur du rapport évoluant parallèlement ; le glucose intervient dans l'oxydation pour un pourcentage comparable à celui observé sur le diaphragme normal.

En conclusion, même si l'on admet le rôle important de la réduction de l'apport alimentaire chez le rat néphrotique, celle-ci ne peut en aucun cas expliquer les différences métaboliques observées.

(*) Résultats non exposés dans le présent travail.

CHAPITRE 2

QUOTIENT RESPIRATOIRE ET MÉTABOLISME BASAL DES RATS NORMAUX ET NÉPHROTQUES






AU COURS d'études antérieures, nous avons mesuré l'élimination de CO_2 par la respiration chez le rat normal et chez le rat néphrotique. Ce dernier se caractérise par une nette diminution du CO_2 total expiré. Une telle observation nous a conduit à déterminer le quotient respiratoire (QR) et le métabolisme basal (MB) de l'animal *in toto*.

Le QR du rat néphrotique ne diffère pas de celui du rat normal placé dans les mêmes conditions, que l'animal soit à jeûn ou qu'il soit nourri. Le fait que l'animal néphrotique s'alimente moins que le rat normal ne retentit pas sur la valeur du QR. Le QR conserve aussi la même valeur chez un rat normal dont l'apport alimentaire a été réduit à la consommation de l'animal néphrotique (rat « isonourri »).

Il n'en va pas de même pour le MB. Celui-ci est réduit par le jeûne chez le rat normal (tableau LIII). Chez le rat néphrotique et chez le rat normal « isonourri » la valeur du métabolisme basal est faible et comparable à celle du rat normal à jeûn. La même observation a été faite chez des patients atteints de syndrome néphrotique (RECANT, 1952 ; RASMUSSEN, 1956).

TABLEAU LIII

Métabolisme basal (MB) du rat normal, isonourri et néphrotique
« in toto »
(en calories)

Normal			Néphrotique	
A jeûn	Nourri	Isonourri	A jeûn	Nourri
40,7	42,2	35,2	23,1	27,1
44,8	54,3	34,9	38,9	41,6
40,7	66,4	22,5	53,2	51,3
46,8	65,8	48,0	31,7	20,2
46,7	66,0	57,1	33,5	32,7
46,9	52,6	41,7	22,2	42,6
49,2	59,5	47,2	33,8	52,0
	71,6	38,6		38,9
	34,0			33,1
<hr/>			<hr/>	
45,1 ± 1,2	56,9 ± 4,7	40,7 ± 3,6	33,8 ± 4,0	37,7 ± 3,5
n = 7	n = 9	n = 8	n = 7	n = 9
				
P < 0,01			NS (*)	
				
			NS	
				
			P < 0,01	
				
P < 0,01				

(*) NS = P > 0,05.

CHAPITRE 3

ÉTUDE DU MÉTABOLISME OXYDATIF DU RAT NÉPHROTIQUE

Introduction

Les substances utilisées pour l'étude du métabolisme oxydatif ont été le palmitate-1-C¹⁴, le glucose-1-C¹⁴, le glucose-6-C¹⁴ et le bicarbonate-C¹⁴.

Les processus expérimentaux, les méthodes de dosage chimique, les mesures de radioactivité et les bases de l'analyse mathématique ont été décrits au chapitre « Méthodes ». Tous les rats normaux et néphrotiques sont à jeun depuis 22 heures au moment où l'on injecte le traceur.

1. Détermination de l'erreur sur les données expérimentales

Dans trois expériences, nous avons à 13 reprises prélevé 5 échantillons pour mesure du CO₂ et 5 échantillons pour mesure de la radioactivité. L'erreur moyenne sur les déterminations du CO₂ expiré était de 1,15 %. L'erreur moyenne sur les mesures de radioactivité était de 2,52 %.

2. Détermination du CO₂ éliminé par minute (débit mesuré)

Nous avons mesuré chez 23 rats normaux et chez 28 rats néphrotiques la quantité de CO₂ éliminée dans des temps compris entre 2 et 420 minutes. Nous donnons dans le tableau LIV les résultats de ces mesures — exprimés en μ moles/min — dans les expériences où l'on a injecté du palmitate ou du glucose marqués. La quantité de CO₂ excrétée est plus importante au début de l'expérience (5 premières minutes), en raison de l'agitation du rat. Dans toutes les circonstances, les rats néphrotiques excrètent moins de CO₂ que les rats normaux (en moyenne 109 μ moles (23 déterminations) contre 153 μ moles par minute (28 déter-

TABLEAU LIV
Quantités totales de CO₂ excrétées
(en μmoles/minute)

Traceur	Rats normaux		Rats néphrotiques		
	injecté	Poids de l'animal en grammes	CO ₂ μmoles/minute	Poids de l'animal en grammes	CO ₂ μmoles/minute
Palmitate- 1-C ¹⁴		205	110	175	98
		215	137	195	71
		216	126	140	75
		175	152	178	47
		185	187	183	47
		195	136	171	91
		190	133	182	30
		200	148	185	106
		215	161	195	80
		180	176	175	60
<i>m</i> ± <i>s_m</i>	197 ± 5	146 ± 7	178 ± 6	70 ± 7	
	<i>n</i> = 10		<i>n</i> = 10		
Glucose- 1-C ¹⁴		165	167	180	115
		185	167	165	142
		168	139	205	125
		160	154	180	81
		160	126	200	104
		150	113	175	90
		165	135	175	87
				160	90
				170	45
				175	46
				225	101
				220	132
	<i>m</i> ± <i>s_m</i>	165 ± 4	142 ± 7	186 ± 6	96 ± 8
	<i>n</i> = 7		<i>n</i> = 12		
Glucose- 6-C ¹⁴		200	168	210	137
		195	168	185	90
		210	191	175	106
		230	162	160	86
		190	193	185	130
		175	180	170	118
<i>m</i> ± <i>s_m</i>	200 ± 8	176 ± 7	181 ± 7	111 ± 9	
	<i>n</i> = 6		<i>n</i> = 6		

minations) ; $P < 0,001$). Il faut remarquer toutefois que les groupes de rats normaux laissent apparaître entre eux des différences de débit imputables en grande partie certainement aux différences de poids (voir tableau LIV). On observera que les débits calculés d'après l'élimination du $C^{14}O_2$ sont de 5 à 17 % plus bas (tableau LV) que les débits mesurés par le dosage chimique du CO_2 . Cette différence permet d'estimer la précision des calculs basés sur des mesures de radioactivité.

3. Excrétion de $C^{14}O_2$ après injection de palmitate-1- C^{14}

a) VITESSE D'EXCRÉTION DE $C^{14}O_2$ PAR MINUTE

La figure 6 montre les quantités de $C^{14}O_2$ excrétées par minute, exprimées en pour cent de la dose injectée. Comme on le voit, la quantité

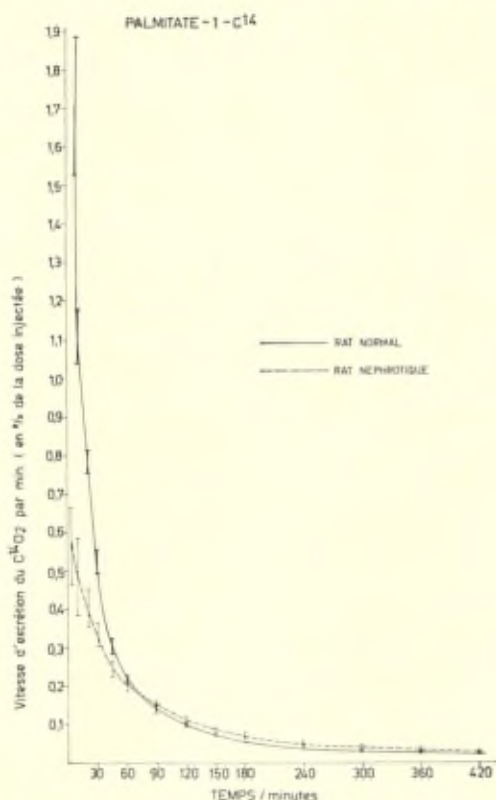


FIG. 6. Vitesse d'excrétion du $C^{14}O_2$ (en % de la dose injectée) en fonction du temps.

Valeurs moyennes de 10 rats normaux et de 10 rats néphrotiques.

$$I = \text{erreur standard de la moyenne} = \frac{\sigma}{\sqrt{n}}$$

TABLEAU LV

Type de traceur	Rats	Débit mesuré (*) (μ moles/min.)	Débit calculé (**)	Temps transit moyen en min.	Masse calculée en μ moles	Excrétion cumulative en %
Glucose-6-C ¹⁴	Normaux	176 \pm 7	161	203 \pm 15	30,500	34,0
	Néphrotiques	111 \pm 9	92	284 \pm 32	29,100	51,4
Glucose-1-C ¹⁴	Normaux	142 \pm 7	124	157 \pm 13	18,970	35,4
	Néphrotiques	96 \pm 8	80	283 \pm 59	23,400	56,5
Palmitate-1-C ¹⁴	Normaux	146 \pm 7	138	136 \pm 20	18,080	54,0
	Néphrotiques	70 \pm 7	60	379 \pm 45	22,890	56,0

(*) A partir de l'élimination du CO₂ non radioactif.

(**) A partir des courbes d'élimination du C¹⁴O₂ (voir chap. : Méthodes).

excrétée est très réduite chez le rat néphrotique pendant les 30 premières minutes suivant l'injection intraveineuse du traceur. Au delà de 150 minutes, au contraire, la quantité excrétée par le rat néphrotique est constamment et significativement supérieure à celle observée chez le rat normal.

b) EXCRÉTION CUMULATIVE DE $C^{14}O_2$

La figure 7 montre les courbes d'excrétion cumulative du $C^{14}O_2$ au cours du temps et les limites de confiance. Dès la première récolte

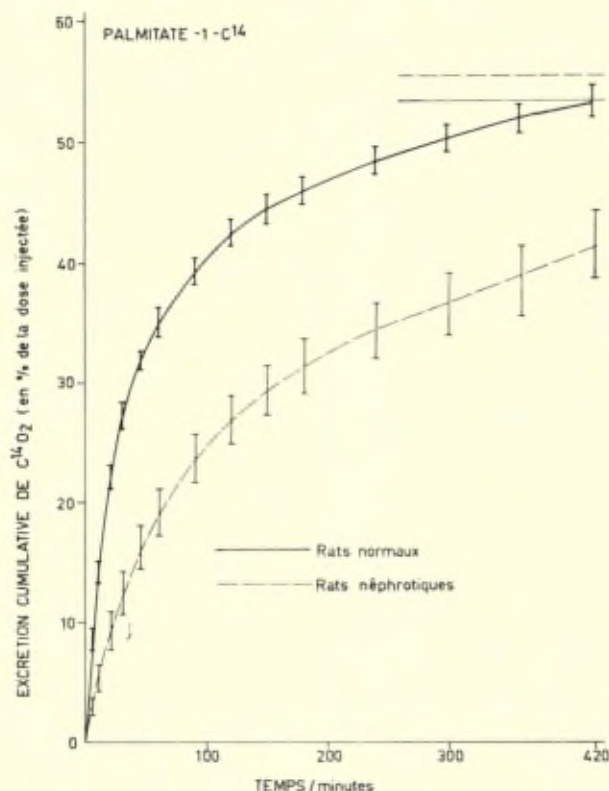


FIG. 7. Excrétion cumulative de $C^{14}O_2$ (en % de la dose injectée) en fonction du temps.

Valeurs moyennes \pm erreur standard de la moyenne. L'extrapolation est réalisée par l'ajustement au sens des moindres carrés (sans pondération) d'une fonction ayant la forme générale

$$y = \sum A_i (1 - e^{-\lambda_i t}) \quad i = 1, 2$$

Rats normaux : $y = 27.4(1 - e^{-0.67t}) + 26.6(1 - e^{-6.11t})$

Rats néphrotiques : $y = 36.2(1 - e^{-0.21t}) + 19.76(1 - e^{-2.38t})$

Les lignes horizontales dans la partie supérieure droite de la figure représentent les plateaux obtenus après extrapolation des courbes.

(5 minutes après l'injection) la courbe cumulative du rat néphrotique se situe en dessous de celle du rat normal. La différence entre les 2 courbes tend cependant à s'effacer après la 120^e minute.

L'excrétion du $C^{14}O_2$ après l'injection de palmitate étant indubitablement retardée chez les rats néphrotiques, il importait de déterminer si ce phénomène dépendait uniquement de la diminution globale du métabolisme que nous avons constatée chez ceux-ci. Pour cela, il fallait rapporter la quantité de $C^{14}O_2$ formée au CO_2 total excrété, c'est-à-dire calculer l'activité spécifique.

c) ACTIVITÉS SPÉCIFIQUES ($C^{14}O_2/CO_2$)

Le tableau LVI nous montre les activités spécifiques mesurées au cours de 10 expériences chez des rats normaux et de 10 expériences chez des rats néphrotiques. Les figures 8 et 9 montrent les courbes moyennes des activités spécifiques. On note que le sommet de la courbe

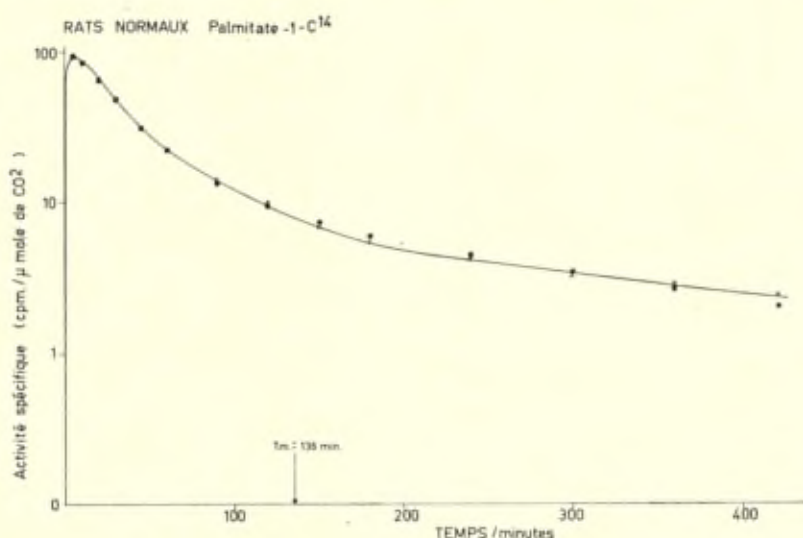


FIG. 8. Activité spécifique (en cpm/μmole de CO_2) en fonction du temps après injection de palmitate-1- C^{14} .

x = valeurs expérimentales

T_m = temps moyen de transit.

. = valeurs calculées.

Ajustement de la courbe par 4 exponentielles.

$$\text{Rats normaux : } y = 11.95 e^{-0.42t} + 44.7 e^{-2.63t} + 132.1 e^{-5.85t} + 90.5 e^{-9.84t}$$

TABLEAU LVI
 Activité spécifique du $C^{14}O_2$ (CPM/ μ mole) après injection de palmitate-1- C^{14}

Temps en minutes après l'injection	5	10	20	30	45	60	90	120	150	180	240	300	360	420
Rats normaux														
Rat 1	122	81	72	55	37	28	28	13,0	7,0	6,5	5,5	4,4	3,5	2,8
2	113	95	72	45	27	19	14	9,0	6,5	6,0	4,3	3,3	2,5	2,2
3	98	82	53	36	23	18	13	9,0	8,0	6,5	5,3	4,5	3,5	3,2
4	110	98	74	54	36	21	13	11,0	6,8	4,8	4,0	2,9	2,8	2,0
5	88	87	74	52	35	23	11	7,5	5,6	4,9	3,3	2,8	2,4	2,0
6	116	107	86	60	30	23	14	10,0	7,1	5,9	4,2	3,1	3,0	2,2
7	82	85	85	75	43	26	15	11,0	7,6	5,8	4,2	3,3	2,9	2,4
8	73	69	57	38	29	21	14	11,0	7,8	6,0	4,5	3,7	2,9	2,8
9	59	57	47	31	22	17	11	8,8	6,4	5,0	3,8	2,9	2,6	2,5
10	82	72	54	36	25	20	10	7,4	5,1	3,9	3,1	2,5	1,8	1,5
Moyenne	94 ± 6	83 ± 7	67 ± 4	48 ± 4	31 ± 2	22 ± 1	14 ± 2	9,8 $\pm 0,6$	6,8 $\pm 0,3$	5,4 $\pm 0,3$	4,2 $\pm 0,2$	3,3 $\pm 0,2$	2,8 $\pm 0,2$	2,4 $\pm 0,2$
N° des récoltes	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14

TABLEAU LVI (Suite)

Temps en minutes après l'injection		5	10	20	30	45	60	90	120	150	180	240	300	360	420
Rats néphrotiques															
Rat	1	78	75	63	46	33	23	15	14	11	8,4	7,7	5,3	4,9	3,4
	2	84	100	98	65	48	42	18	15	11,5	8,9	8,5	6,6	5,3	5,0
	3	65	83	94	77	48	36	25	21	19	14,8	11,5	9,3	7,0	6,0
	4	37	102	111	85	71	61	44	24	18	13	10,5	7,3	5,5	5,0
	5	58	80	98	101	74	65	52	39	31	26	20	16	14	9,4
	6	62	58	73	39	44	35	30	21	15	13	9,0	7,0	5,5	5,0
	7	68	79	80	64	56	50	47	38	34	26	16	15	12	—
	8	102	98	83	62	49	25	24	17	14	11	9,8	7,5	5,2	3,8
	9	84	78	65	54	48	36	28	17	17	14,5	10,0	9,5	8,1	7,7
	10	152	134	103	77	60	60	45	35	35	28	16	14	10,5	10,4
Moyenne		79 ±10	89 ±7	87 ±6	67 ±6	53 ±4	43 ±5	33 ±4	24 ±3	21 ±3	16 ±2	12 ±1,0	9,7 ±1,2	8,4 ±1,3	6,1 ±0,8
N° des récoltes		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14

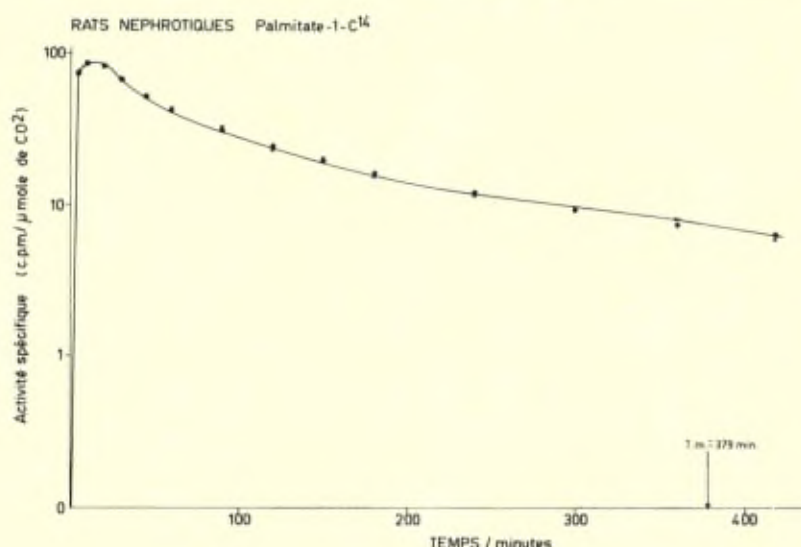


FIG. 9. Mêmes commentaires que figure 8.

$$\text{Rats néphrotiques : } y = 11.8 e^{-0.16t} + 56.7 e^{-1.09t} + 190.4 e^{-6.97t} - 220.4 e^{-11.96t}$$

est plus tardif chez le rat néphrotique que chez le rat normal et que la courbe des néphrotiques s'inscrit nettement au-dessus de celle des rats normaux à partir de la 20^e minute.

d) ANALYSE MATHÉMATIQUE DES RÉSULTATS

L'extrapolation des courbes d'excrétion cumulative jusqu'à l'atteinte d'un plateau (voir fig. 7) permet de déterminer mathématiquement le pourcentage de l'isotope empruntant une voie d'oxydation relativement rapide : il est de 54 % chez le rat normal et n'est guère différent chez le rat néphrotique (56 %). Cependant, l'excrétion cumulative à la 420^e minute est de 52,8 % de la dose injectée chez le rat normal et de 41,5 % chez le rat néphrotique : au moment où nous terminons notre expérience, le rat normal a déjà éliminé 97 % du $C^{14}O_2$ qui sera formé par la voie d'oxydation relativement rapide tandis que le rat néphrotique n'en a excrété que 73 %. Le pourcentage restant de la dose (différence entre 54 et 100 %) ne s'éliminera que très lentement (c'est-à-dire pendant un temps infiniment long par rapport à la durée de l'expérience) par suite de la participation du traceur à des processus métaboliques plus complexes (synthèse glycéridique, phospholipidique...).

Les courbes d'activité spécifique au cours du temps (fig. 8 et 9) ont été ajustées au mieux par 4 exponentielles (voir Méthodes). La correspondance entre les points expérimentaux et les points théoriques donnés par l'ajustement mathématique est alors excellente.

Le temps moyen de transit du palmitate-1- C^{14} (chapitre Méthodes, paragraphe 14), entre son injection intraveineuse et l'excrétion de $C^{14}O_2$ dans l'air expiré est de 131 minutes chez le rat normal et de 379 minutes chez le rat néphrotique (tableau LV).

Le débit de CO_2 calculé grâce au traceur (chapitre Méthodes, paragraphe 14) est, chez le rat normal, de 138 μ moles/minute et chez le rat néphrotique de 60,4 μ moles/minute, résultats très comparables aux débits mesurés (respectivement 146 et 70 μ moles/minute).

Les deux paramètres précédents (débit et temps de transit) permettent de calculer la masse de CO_2 concernée par les transformations métaboliques rapides (voir Méthodes). Cette masse serait de 18.080 μ moles chez le rat normal et de 22.890 μ moles chez le rat néphrotique (tableau LV).

En conclusion

Nos observations démontrent que le métabolisme du palmitate est particulièrement ralenti chez le rat néphrotique ; la faible vitesse d'excrétion du $C^{14}O_2$ après injection de palmitate marqué ne traduit pas seulement la diminution globale du métabolisme, ainsi que le montre l'évolution des courbes d'activité spécifique au cours du temps.

4. Excrétion de $C^{14}O_2$ après injection de glucose-1- C^{14} et de glucose-6- C^{14}

Afin de mettre en évidence une altération éventuelle des processus oxydatifs par la voie du cycle d'Embden-Meyerhoff ou par la voie du shunt pentose-phosphate, l'excrétion de $C^{14}O_2$ a été étudiée en utilisant comme traceurs le glucose marqué en C^1 d'une part, celui marqué en C^6 de l'autre.

La différence des vitesses d'excrétion du $C^{14}O_2$ en présence de ces 2 traceurs permet en principe d'apprécier la fraction du glucose qui s'oxyde selon chacune de ces voies métaboliques (BLOOM et STETTEN 1953).

a) VITESSE D'EXCRÉTION PAR MINUTE

Les figures 10 et 11 montrent l'évolution au cours du temps de la quantité de $C^{14}O_2$ formée par minute (en % de la dose injectée) après injection de glucose-1- C^{14} ou de glucose-6- C^{14} .

Chez le rat normal la vitesse d'excrétion du $C^{14}O_2$ après injection de glucose-1- C^{14} est significativement plus élevée que celle obtenue après injection de glucose-6- C^{14} dans les mesures effectuées 30 et 45 minutes après l'injection. Après cette période les courbes suivent une évolution strictement identique. Pour le rat néphrotique cette différence n'apparaît que plus tardivement ; elle est significative 60 et 75 minutes après l'injection du traceur. Après cette période les deux courbes évoluent identiquement.

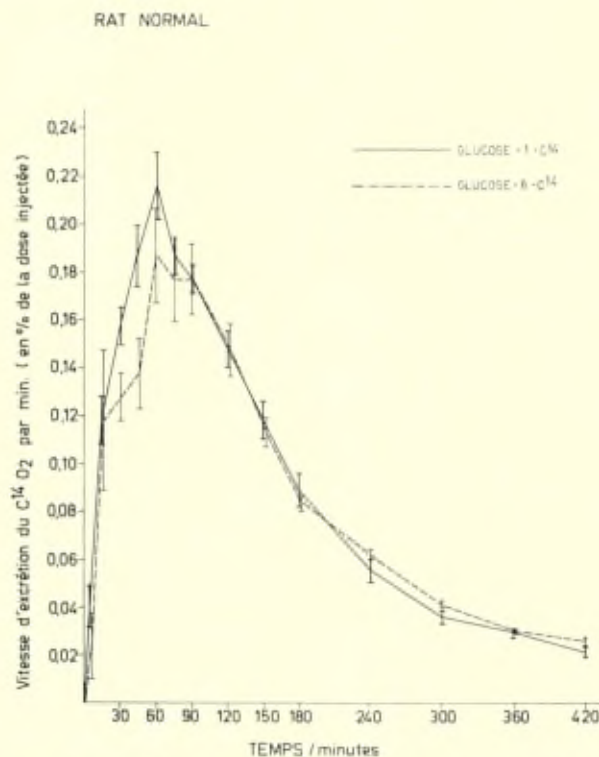


FIG. 10. Vitesse d'excrétion du $C^{14}O_2$ (en % de la dose injectée) en fonction du temps chez le rat normal.

Valeurs moyennes \pm erreur standard de la moyenne de 6 animaux (après injection de glucose-6- C^{14}) et de 7 animaux (après injection de glucose-1- C^{14}).

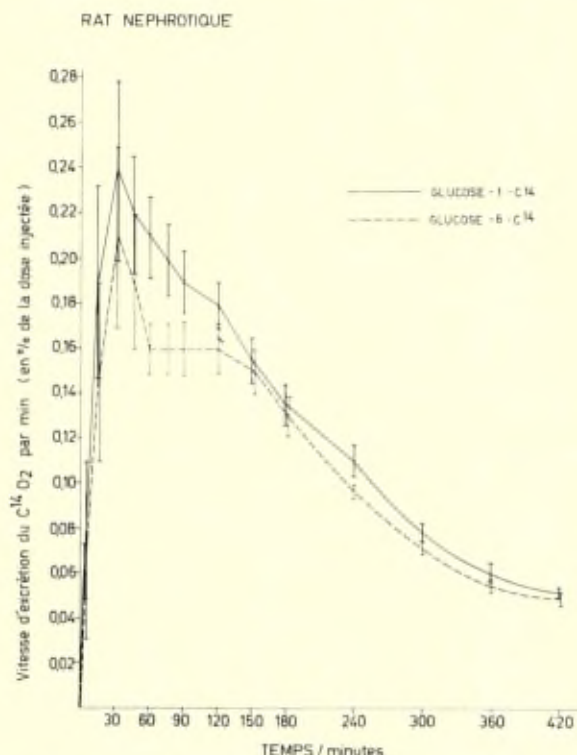


FIG. 11. Vitesse d'excrétion du $C^{14}O_2$ (en % de la dose injectée) en fonction du temps chez le rat néphrotique.

Valeurs moyennes $\pm s_m$ de 6 animaux (après glucose-6- C^{14}) et de 12 animaux (après glucose-1- C^{14}).

La comparaison des figures 10 et 11 montre qu'aussi bien après l'injection de glucose marqué en C1 ou en C6 la production de $C^{14}O_2$ est significativement plus élevée chez les rats néphrotiques que chez les rats normaux à partir de la 120^e minute ; ce phénomène persiste à la 420^e minute, moment où l'expérience est interrompue.

b) POURCENTAGES CUMULATIFS

1) Après injection de glucose-6- C^{14}

L'étude du tableau LVII donnant pour chaque récolte l'activité cumulative de $C^{14}O_2$ de 6 rats normaux et de 6 rats néphrotiques et celle de la figure 12 montrent que si les courbes moyennes sont diffé-

TABLEAU LVII
 Pourcentage cumulatif de $C^{14}O_2$ après injection de glucose-6- C^{14}

TEMPS DES RECOLTES													
5	15	30	45	60	75	90	120	150	180	240	300	360	420
Rats normaux													
0,01	0,5	2,5	5,2	8,8	12,4	16,1	21,8	25,8	28,0	32,0	34,7	36,7	38,0
0,03	1,2	3,3	5,3	8,4	11,1	13,8	18,3	21,8	24,3	28,0	30,2	31,9	33,3
0,16	2,6	4,7	7,0	9,6	13,1	16,0	19,7	23,6	25,7	29,1	31,6	33,3	34,9
0,05	0,9	2,5	4,3	5,9	7,8	10,2	13,7	16,7	19,3	23,0	25,4	27,1	28,7
0,46	2,1	4,6	7,3	10,8	13,3	15,5	20,0	23,1	25,5	29,5	31,8	33,7	35,5
0,01	0,5	1,8	3,2	5,7	8,0	10,2	14,6	17,5	20,2	24,1	26,8	28,5	30,0
0,12	1,3	3,2	5,4	8,2	10,9	13,6	18,0	21,4	23,8	27,6	30,1	31,9	33,5
$\pm 0,03$	$\pm 0,35$	$\pm 0,48$	$\pm 0,65$	$\pm 0,8$	$\pm 1,0$	$\pm 1,1$	$\pm 1,2$	$\pm 1,5$	$\pm 1,4$	$\pm 1,4$	$\pm 1,4$	$\pm 1,4$	$\pm 1,5$
Nombre des récoltes													
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14

TABLEAU LVII (Suite)

TEMPS DES RECOLTES													
5	15	30	45	60	75	90	120	150	180	240	300	360	420
Rats néphrotiques													
1,37	4,9	10,0	14,8	17,3	19,7	22,4	27,8	32,9	37,3	43,5	48,0	51,2	53,4
0,3	1,9	6,9	10,6	13,3	15,8	17,9	21,9	25,6	28,9	34,2	38,5	42,1	45,0
0,07	0,8	2,7	4,7	6,7	8,4	10,1	13,9	17,7	21,2	26,7	30,7	33,7	36,5
0,09	0,9	2,8	4,7	6,7	8,9	11,1	16,0	20,6	24,1	29,8	34,0	37,4	40,8
0,1	1,6	4,1	6,4	9,1	12,0	15,0	20,5	26,0	30,7	37,1	41,9	45,5	49,2
0,3	1,5	3,8	6,4	9,2	11,8	14,2	19,7	24,5	28,4	34,0	37,7	40,4	42,5
0,37	1,9	5,1	8,0	10,4	12,8	15,1	20,0	24,5	28,4	34,2	38,5	41,7	44,6
$\pm 0,02$	$\pm 0,7$	$\pm 1,2$	$\pm 1,6$	$\pm 1,7$	$\pm 1,8$	$\pm 1,5$	$\pm 2,0$	$\pm 2,1$	$\pm 2,3$	$\pm 2,4$	$\pm 2,5$	$\pm 2,5$	$\pm 2,4$
Numéro des récoltes													
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14

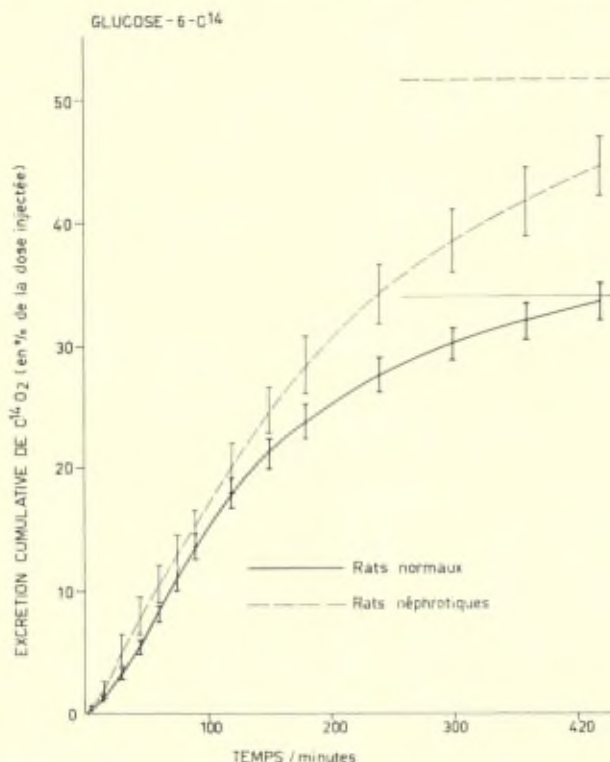


FIG. 12. Excrétion cumulative du $C^{14}O_2$ (en % de la dose injectée) en fonction du temps.

Valeurs moyennes $\pm s_m$. L'extrapolation est réalisée par l'ajustement au sens des moindres carrés d'une fonction générale ayant la forme :

$$y = A_1(1 - e^{-t}) + A_2(1 - e^{-kt}) \quad i = 1, 2$$

La forme des courbes d'excrétion cumulative après injection de glucose marqué en C1 ou en C6 nous a imposé de choisir A_2 négatif.

Rats normaux : $y = 49.96(1 - e^{-0.89t}) - 15.91(1 - e^{-2.50t})$

Rats néphrotiques : $y = 57.73(1 - e^{-0.50t}) - 6.28(1 - e^{-2.33t})$

Les lignes horizontales dans le coin droit de la figure représentent les plateaux obtenus après extrapolation de la courbe.

rentes dès la 5^e minute il y a recoupement des limites de confiance jusqu'à la 120^e minute après l'injection. Après cette période la quantité de radioactivité éliminée sous forme de $C^{14}O_2$ par le rat néphrotique est constamment et significativement plus grande que celle excrétée par le rat normal. Nous n'avons pas suivi nos animaux au delà de la 7^e heure.

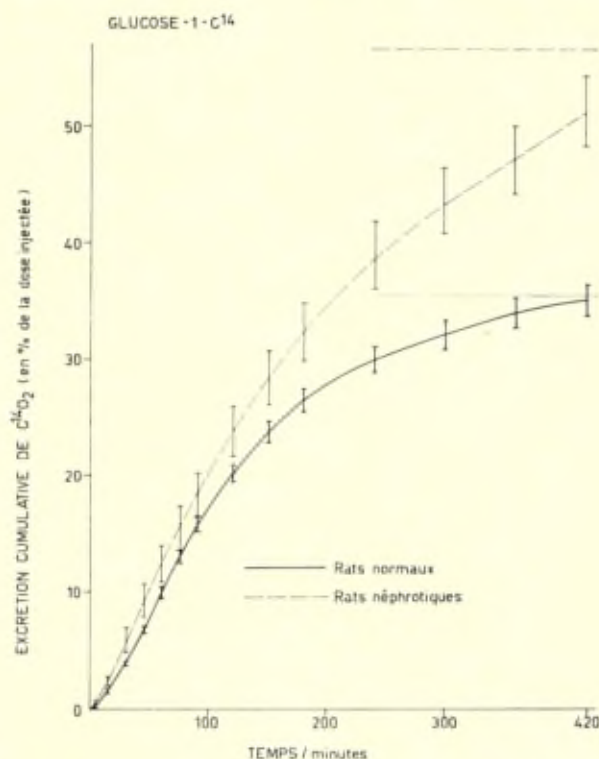


FIG. 13. Mêmes commentaires que figure 12 mais pour le glucose -1- C^{14} .

Rats normaux : $y = 48.13(1 - e^{-0.981t}) - 12.69(1 - e^{-0.211t})$.

Rats néphrotiques : $y = 72.63(1 - e^{-0.581t}) - 16.1(1 - e^{-1.981t})$.

2) Après injection de glucose-1- C^{14}

Le tableau LVIII et la figure 13 donnent les résultats des expériences effectuées chez 7 rats normaux et 12 rats néphrotiques après injection de glucose-1- C^{14} . Les conclusions que l'on peut en tirer sont très comparables à celles déduites des expériences utilisant le glucose-6- C^{14} . C'est également à partir de la 120^e minute que l'activité cumulative du $C^{14}O_2$ en % de la dose injectée est significativement plus élevée chez les rats néphrotiques que chez les témoins.

En présence de glucose marqué en C1 ou en C6 la dispersion des résultats obtenus chez les rats néphrotiques est toujours double de celle observée chez les rats normaux. Cela se conçoit puisque tous les rats néphrotiques ne sont pas également atteints. Les rats physiquement les

TABLEAU LVIII
 Pourcentage cumulé de $C^{14}O_2$ après injection de glucose-1- C^{14}

TEMPS DES RECOLTES													
5	15	30	45	60	75	90	120	150	180	240	300	360	420
Rats normaux													
0,1	0,9	3,2	5,8	8,7	11,7	14,7	19,2	22,6	25,5	29,6	32,0	33,7	35,0
0,02	1,1	3,7	6,2	9,1	11,8	14,8	19,1	22,3	24,7	27,9	29,9	32,0	33,1
0,25	1,5	4,5	8,3	11,5	14,9	18,4	23,6	27,3	30,2	33,3	35,4	37,0	38,1
0,3	1,7	4,1	7,5	11,1	13,8	16,3	19,6	22,4	24,2	26,2	27,5	28,8	29,8
0,25	1,3	3,4	6,1	9,2	12,0	14,7	19,4	23,5	26,6	30,2	32,5	33,9	35,0
0,25	1,2	3,6	6,0	8,8	11,4	14,0	18,1	21,5	23,9	27,4	29,8	31,7	33,2
0,3	1,9	4,1	6,8	11,2	14,3	17,3	21,7	26,5	22,8	33,9	36,6	38,7	40,6
0,21 ±0,03	1,4 ±0,1	3,8 ±0,2	6,7 ±0,3	9,9 ±0,5	12,9 ±0,5	15,7 ±0,6	20,1 ±0,7	23,7 ±0,9	26,4 ±1,0	29,9 ±1,1	32,0 ±1,2	33,9 ±1,3	35,0 ±1,4
Numéro des récoltes													
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14

TABLEAU LVIII (Suite)

TEMPS DES RECOLTES													
5	15	30	45	60	75	90	120	150	180	240	300	360	420
Rats néphrotiques													
0,8	6,5	15,4	22,7	27,5	31,6	35,2	42,4	48,2	53,6	61,4	65,7	68,9	71,4
0,6	4,8	11,6	16,2	21,1	26,0	28,9	34,5	40,2	45,0	52,8	57,3	60,5	63,4
0,2	1,4	3,8	6,6	9,8	12,9	15,9	21,8	27,2	31,3	37,6	43,9	47,7	50,8
0,4	1,8	4,8	7,1	9,8	12,1	15,4	20,3	24,8	28,7	36,4	41,8	46,3	49,8
0,3	1,1	3,1	6,0	8,0	10,3	13,3	19,1	23,6	28,1	34,7	39,0	42,4	45,3
0,2	1,1	3,6	6,4	8,5	10,8	13,4	17,9	22,3	25,9	32,0	36,9	40,7	44,1
0,2	2,3	5,1	8,5	11,5	14,9	16,5	20,6	24,7	28,0	33,5	38,0	42,1	45,5
0,2	1,7	4,5	7,4	10,3	13,3	16,3	21,6	26,9	31,4	37,4	41,9	45,1	48,1
0,1	0,9	3,4	6,6	9,1	11,9	14,4	18,6	21,7	24,9	29,0	32,9	34,9	—
0,2	1,6	5,5	8,7	11,6	14,3	16,5	20,2	23,1	25,4	29,9	32,9	35,6	38,2
0,4	1,9	4,4	6,8	10,1	13,8	18,2	25,6	31,5	36,6	44,6	50,6	55,6	59,5
0,3	1,6	4,1	7,0	10,1	12,7	15,3	20,7	25,3	28,9	34,8	39,5	43,2	46,2
0,32 ±0,06	2,2 ±0,45	5,8 ±1,1	9,2 ±1,4	12,3 ±1,6	15,4 ±1,9	18,3 ±1,9	23,7 ±2,1	28,3 ±2,3	32,3 ±2,5	38,7 ±2,8	43,4 ±2,8	47,0 ±2,9	51,1 ±3,0
Numéro des récoltes													
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14

plus néphrotiques (ascite, infiltration dermique...) sont ceux dont les valeurs s'écartent le plus de la normale.

c) ACTIVITÉS SPÉCIFIQUES

1) *Après injection de glucose-6-C¹⁴*

Le tableau LIX donne pour chaque récolte et pour chaque animal l'activité spécifique du C¹⁴O₂ et leurs moyennes calculées pour les rats néphrotiques et pour les rats normaux. Dès la 5^e minute (1^{re} récolte) ces valeurs sont plus élevées chez les animaux néphrotiques.

Chaque courbe d'activité spécifique chez le rat normal montre un seul sommet apparaissant selon l'expérience entre 60 et 90 minutes après l'injection intraveineuse du traceur. Toutes les courbes d'activité spécifique des rats néphrotiques montrent un premier sommet entre 30 et 60 minutes, soit plus précocement que chez les rats normaux et un second sommet aux environs de la 120^e minute. Ce deuxième sommet représente bien un phénomène biologique car on observe une augmentation significative ($P < 0,05$) de l'activité spécifique entre la 90^e et la 120^e minute. La figure 14 démontre clairement l'existence des deux

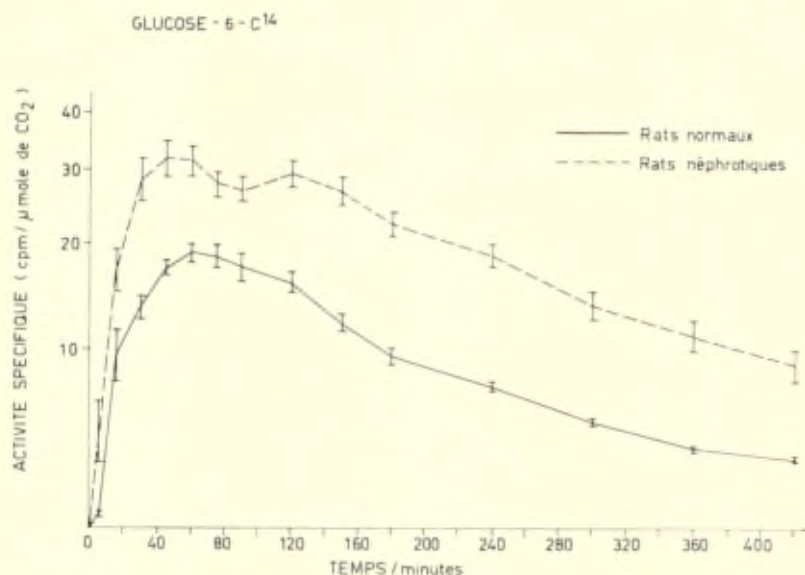


FIG. 14. Activité spécifique (cpm/μmole de CO₂) en fonction du temps de 6 rats normaux et de 6 rats néphrotiques \pm erreur standard de la moyenne.

TABLEAU LIX
 Activité spécifique du $C^{14}O_2$ (CPM/ μ mole) après injection de glucose-6- C^{14}

TEMPS DES RECOLTES													
5	15	30	45	60	75	90	120	150	180	240	300	360	420
Rats normaux													
1,4	14,1	15,9	18,4	18,8	16,5	15,4	15,0	10,6	8,4	6,8	4,9	3,3	3,0
0,5	6,5	10,5	14,5	14,4	14,6	15,5	15,2	13,7	10,7	8,1	5,6	4,0	3,2
0,5	16,0	17,5	18,2	19,0	16,8	14,4	14,3	11,3	7,7	6,8	4,7	3,5	3,3
0,1	9,1	11,2	15,8	19,1	21,0	16,2	15,4	10,8	9,3	6,9	5,0	3,5	3,0
0,5	7,7	13,5	18,1	20,3	20,6	20,9	17,1	13,9	9,4	7,7	5,0	3,5	3,0
0,2	4,0	13,0	20,1	22,4	22,4	22,3	19,0	13,1	11,4	7,9	5,7	4,2	3,2
0,5 $\pm 0,05$	9,6 $\pm 1,9$	13,6 $\pm 1,05$	17,5 $\pm 0,85$	19,0 $\pm 1,0$	18,6 $\pm 1,15$	17,5 $\pm 1,35$	16,0 $\pm 0,85$	12,2 $\pm 0,6$	9,5 $\pm 0,6$	7,4 $\pm 0,3$	5,2 $\pm 0,15$	3,7 $\pm 0,1$	3,1 $\pm 0,05$
Numéro des récoltes													
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14

TABLEAU LIX (Suite)

TEMPS DES RECOLTES													
5	15	30	45	60	75	90	120	150	180	240	300	360	420
Rats néphrotiques													
12,5	28,7	36,7	32,1	27,8	24,0	22,6	24,0	19,9	19,8	17,2	13,0	9,5	7,3
5,5	22,0	41,1	46,0	38,4	34,0	30,5	31,8	28,9	25,2	22,5	17,8	14,8	12,3
1,3	10,1	19,8	27,8	26,1	23,5	25,8	26,2	24,3	21,2	16,9	12,5	11,1	8,0
1,9	12,2	24,2	28,5	39,4	31,3	33,8	37,5	33,4	27,0	23,7	17,8	15,2	12,5
4,8	15,3	25,4	28,6	27,0	25,5	21,4	27,5	24,5	20,5	15,8	10,7	7,8	6,4
1,6	14,7	24,0	27,2	30,2	28,3	27,0	29,6	29,6	21,4	17,5	11,1	8,5	7,0
4,6	17,2	28,5	31,7	31,5	27,8	26,9	29,4	26,8	22,5	18,9	13,8	11,2	8,9
±1,7	±2,2	±3,3	±3,0	±1,8	±1,8	±2,0	±2,0	±2,0	±1,3	±1,3	±1,3	±1,25	±1,2
Numéro des récoltes													
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14

sommets ; ceux-ci sont cependant légèrement estompés sur la courbe d'activité spécifique moyenne parce que leur moment d'apparition se présente à des temps différents d'un animal néphrotique à l'autre. La figure 15 montre à titre exemplatif l'aspect de 4 courbes individuelles.

2) Après injection de glucose-1- C^{14}

Le tableau LX donne les activités spécifiques de CO_2 pour toutes les récoltes effectuées chez 7 rats normaux et 12 rats néphrotiques. Comme dans les expériences avec le glucose-6- C^{14} l'activité spécifique moyenne est plus élevée chez le rat néphrotique dès la première récolte mais la différence entre normaux et néphrotiques ne devient significative qu'à partir de la 15^e minute.

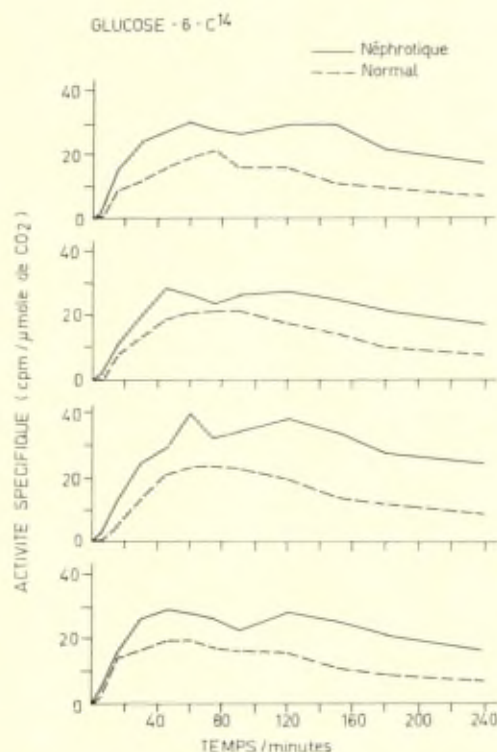


FIG. 15. Aspect de 8 courbes individuelles d'activité spécifique en fonction du temps après injection de glucose-6- C^{14} . (4 rats normaux et 4 rats néphrotiques).

TABLEAU LX
 Activité spécifique du $C^{14}O_2$ (CPM/ μ mole) après injection de glucose-1- C^{14}

TEMPS DES RECOLTES													
5	15	30	45	60	75	90	120	150	180	240	300	360	420
Rats normaux													
2,7	13,2	22,0	26,6	28,6	26,5	23,5	19,5	14,4	11,6	8,0	5,0	3,5	2,5
2,6	11,7	19,7	25,5	23,2	24,1	22,2	17,5	14,0	10,6	7,0	4,5	4,4	2,4
5,5	18,3	28,3	33,0	36,5	36,4	30,1	26,9	20,4	14,2	7,8	5,0	4,2	2,6
4,3	14,5	21,5	27,4	37,4	24,3	20,3	16,4	12,7	8,6	4,8	3,9	3,0	2,6
4,9	16,3	30,8	40,4	35,6	33,0	31,0	29,0	21,0	15,5	10,2	6,1	3,9	3,1
6,6	17,3	28,9	34,5	30,3	32,8	28,7	27,4	21,6	14,0	10,7	7,2	5,0	4,3
6,0	17,3	29,5	40,3	36,1	31,2	28,3	22,8	21,5	16,5	10,3	6,3	5,0	4,3
4,6 $\pm 0,6$	15,6 $\pm 0,95$	25,8 $\pm 1,75$	32,5 $\pm 2,4$	32,5 $\pm 1,6$	29,8 $\pm 1,8$	26,3 $\pm 1,6$	22,8 $\pm 1,95$	17,9 $\pm 1,5$	13,0 $\pm 1,05$	8,4 $\pm 0,8$	5,4 $\pm 0,5$	4,2 $\pm 0,25$	3,1 $\pm 0,3$
Numéro des récoltes													
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14

TABLEAU LX (Suite)

TEMPS DES RECOLTES													
5	15	30	45	60	75	90	120	150	180	240	300	360	420
Rats néphrotiques													
19,6	72,8	87,7	84,2	60,2	54,4	46,5	41,9	36,2	31,3	24,9	13,8	10,4	7,5
9,3	41,2	52,5	57,0	46,0	42,7	40,0	33,8	28,7	23,5	19,3	11,5	8,5	7,1
3,1	14,0	24,7	34,3	34,3	36,0	31,0	32,2	29,6	25,5	19,2	18,7	10,8	8,8
3,0	23,5	29,1	51,0	44,3	39,6	45,0	45,6	41,2	35,7	32,5	25,8	21,4	15,6
5,8	10,6	20,5	31,0	31,0	30,5	33,7	36,7	28,8	23,8	23,7	17,1	13,3	13,3
3,0	14,2	27,9	40,4	34,3	38,1	34,5	38,3	36,0	29,4	28,1	19,7	15,5	13,3
5,6	25,2	40,8	50,6	40,6	40,0	34,5	37,9	36,0	31,9	26,3	21,0	16,8	12,4
5,4	21,0	37,1	47,8	42,2	43,2	43,0	39,8	40,6	37,0	26,5	19,6	13,4	11,1
3,1	21,4	49,6	72,3	55,6	59,0	55,0	52,7	53,5	44,8	29,7	20,5	15,8	11,6
6,3	32,0	66,4	64,4	58,5	58,8	53,0	47,0	42,0	37,5	36,4	27,8	23,8	21,6
6,1	15,8	26,9	34,5	32,0	32,0	37,3	36,1	30,8	28,6	26,1	19,6	14,5	11,0
1,8	11,8	20,5	28,6	26,4	29,3	27,6	28,8	23,7	21,3	17,2	13,8	10,3	8,6
6,4	25,3	41,2	49,7	43,8	41,8	42,6	39,2	35,6	30,9	25,8	19,0	14,5	11,8
±4,2	±5,0	±5,8	±4,6	±3,1	±2,8	±2,6	±1,9	±2,3	±2,0	±1,8	±1,5	±1,5	±1,25
Numéro des récoltes													
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14

Le sommet de la courbe d'activité spécifique des 7 rats normaux se situe entre 45 et 60 minutes après l'injection. Le premier sommet des courbes de rats néphrotiques apparaît plus précocement, soit entre 30 et 45 minutes. La courbe de décroissance est ensuite interrompue par un accident (ou second sommet) situé entre 90 et 150 minutes, qui a été observé chez 10 des 12 rats néphrotiques étudiés. La courbe d'activité moyenne (fig. 16) estompe en partie cette perturbation qui est plus apparente sur les courbes individuelles d'activité spécifique des rats néphrotiques. A titre d'exemple, nous avons reproduit quatre de ces courbes dans la figure 17.

En comparant les courbes d'activité spécifique des expériences de glucose-1-C¹⁴ et de glucose-6-C¹⁴, on observe une activité toujours supérieure pour le glucose marqué en C1 aussi bien chez le rat néphrotique que chez le rat normal.

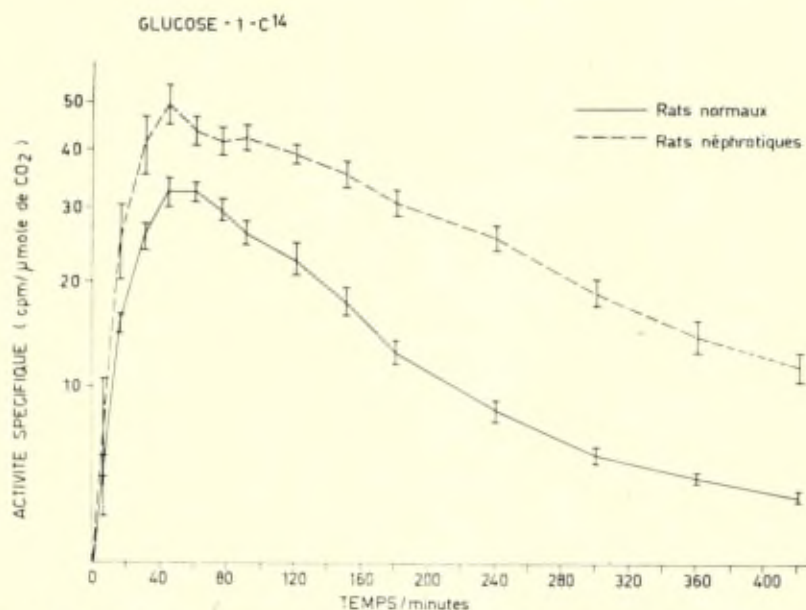


FIG. 16. Activité spécifique (cpm/μmole de CO₂) en fonction du temps de 7 rats normaux et de 12 rats néphrotiques.

Valeurs moyennes \pm erreur standard de la moyenne.

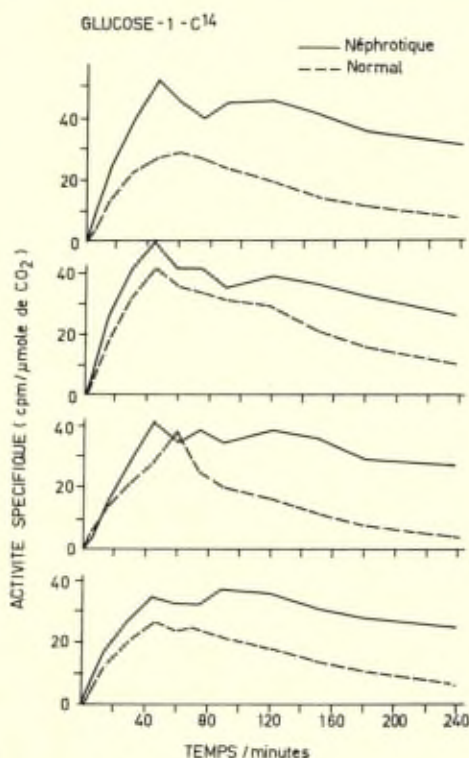


FIG. 17. Aspect de 8 courbes individuelles d'activité spécifique après injection de glucose-1-C¹⁴ (4 rats normaux et 4 rats néphrotiques).

d) ANALYSE MATHÉMATIQUE DES RÉSULTATS

Les courbes d'activité spécifique du glucose-6-C¹⁴ ont été ajustées par 2 exponentielles : celles du glucose-1-C¹⁴ ont été ajustées par 2 ou 4 exponentielles (voir Méthodes). Les figures 18 à 21 montrent que la concordance entre les points expérimentaux et les points théoriques déterminés par l'ajustement mathématique est très bonne aussi bien avec deux qu'avec quatre exponentielles ; c'est pourquoi nous estimons que, dans le cas du glucose, deux exponentielles suffisent à rendre compte des résultats observés. La détermination mathématique a été faite en ne tenant pas compte de l'existence de la perturbation (second sommet) dans la courbe d'activité spécifique du rat néphrotique (tant pour le glucose marqué en C1 qu'en C6). Les tentatives de simuler au calculateur analogique une telle perturbation par un phénomène de recyclage ont

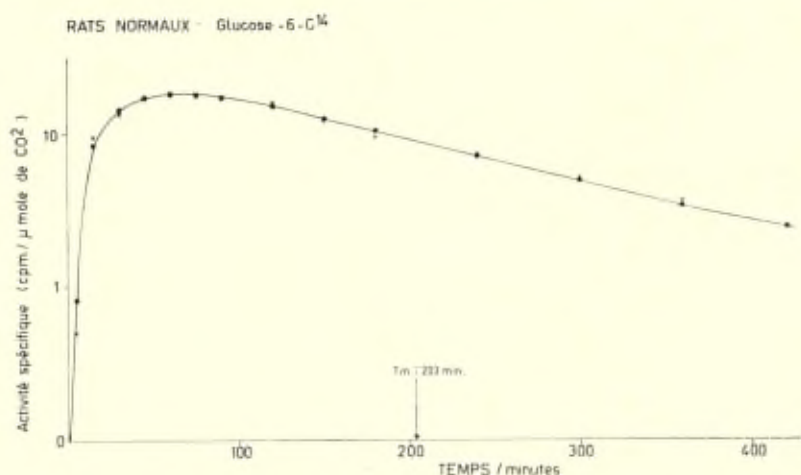


FIG. 18. Activité spécifique du $C^{14}O_2$ après injection de glucose-6- C^{14} .

Rats normaux : x = points expérimentaux

+ = points d'ajustement de la courbe par 2 exponentielles ;

$$y = 33.17 e^{-0.631} - 37.52 e^{-3.631}$$

T_m = temps de transit moyen.

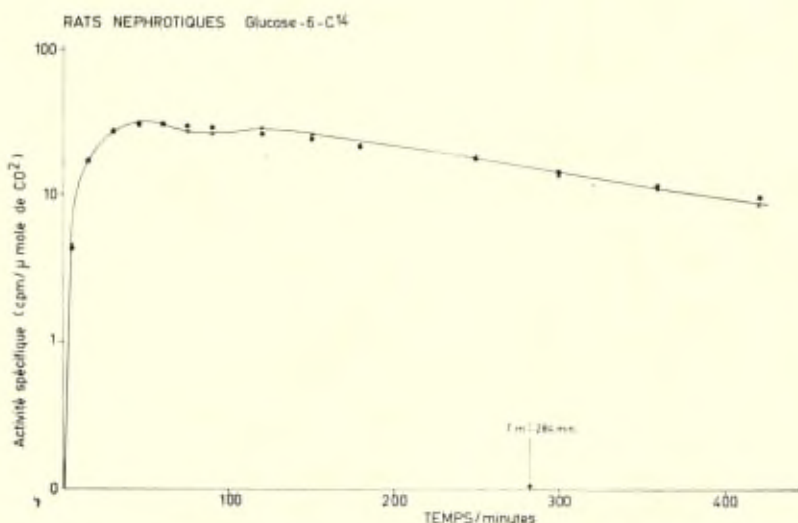


FIG. 19. Mêmes commentaires que figure 18 mais il s'agit ici de rats néphrotiques.

$$y = 40.50 e^{-0.3381} - 46.55 e^{-5.471}$$

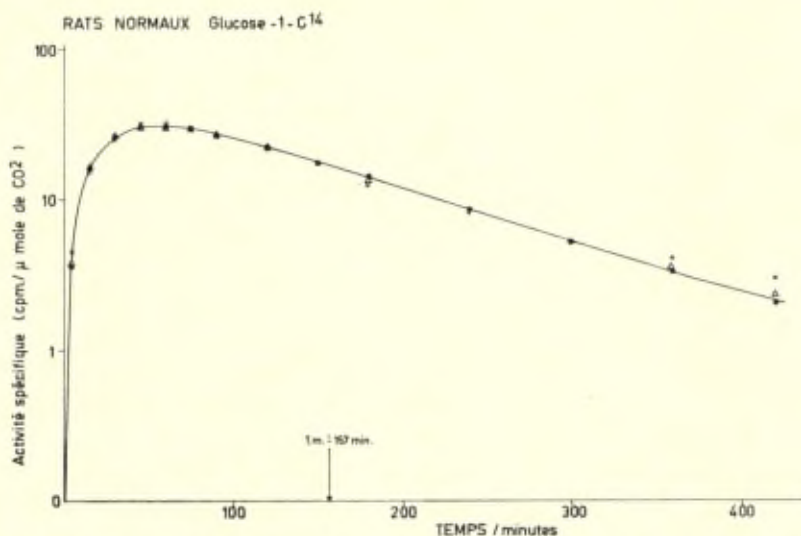


FIG. 20. **Activité spécifique après injection de glucose-1-C¹⁴.**
Rats normaux : ajustement de la courbe par 2 exponentielles

$$y = 59.94 e^{-0.797t} - 65.64 e^{-3.970t}$$

ou par 4 exponentielles (Δ = valeurs calculées par 4 exponentielles)

$$y = 52.37 e^{-1.495t} + 30.82 e^{-0.618t} - 35.84 e^{-3.29t} - 52.43 e^{-3.331t}$$

Les 3 dernières exponentielles n'ont pas de coefficients caractéristiques significativement différents (3.29 et 3.31). Toute se passe comme si la courbe n'était décomposable qu'en 3 exponentielles.

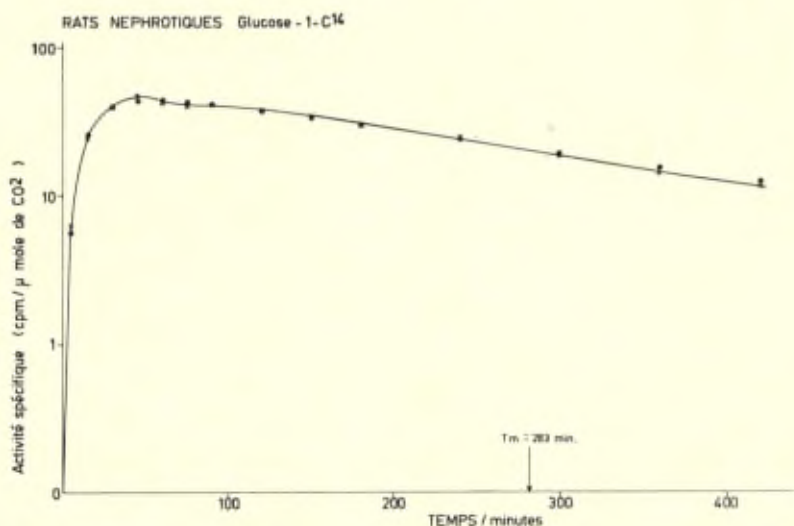


FIG. 21. **Mêmes commentaires que figure 20.**

Rats néphrotiques : ajustement seulement par 2 exponentielles.

$$y = 60.8 e^{-0.38t} - 71.3 e^{-5.64t}$$

échoué. Par contre, l'addition pondérée de deux voies d'excrétion de vitesses différentes peut très facilement l'expliquer (fig. 22). Physiologiquement, ce second sommet chez le rat néphrotique pourrait correspondre à un phénomène d'addition de deux voies métaboliques d'oxydation de vitesses différentes (fig. 22).

Après injection de glucose-1- C^{14}

La quantité de traceur éliminée par le rat normal en 420 minutes est égale à 97 % de la quantité rapidement excrétable (obtenue par extrapolation de la courbe cumulative) : cette quantité représente 35,4 % de la dose ; la somme des fractions éliminées correspond donc à $0,97 \times 35,4$ %, soit 34,3 % de la dose injectée.

Chez le rat néphrotique, la quantité rapidement excrétable représente 56,5 % de la dose injectée ; après 420 minutes, 88,8 % de cette quantité ont été réellement éliminés, soit 50,2 % de la dose administrée.

Après injection de glucose-6- C^{14}

L'extrapolation mathématique de la courbe d'excrétion cumulative permet de calculer la quantité de glucose rapidement oxydée ; celle-ci est égale à 34 % de la dose chez le rat normal et à 51,4 % chez le rat néphrotique ; la quantité excrétée après 420 minutes représente respectivement 97 % de cette quantité chez le rat normal, soit 32,6 % de la

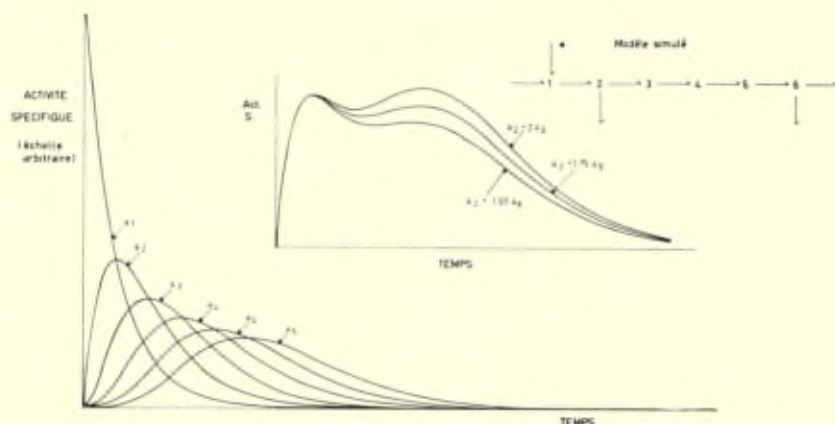


FIG. 22. Illustration d'un modèle expliquant l'aspect d'une courbe d'activité spécifique à deux sommets par la participation de deux voies d'excrétion différentes en quantités déterminées.

Les courbes a_1, a_2, a_3, \dots , représentent les activités spécifiques dans les différents compartiments de la chaîne de transformation 1, 2, 3 ...

dose et 86,3 % de la quantité chez le rat néphrotique, soit 44,3 % de la dose. Il est donc indiscutable que la quantité de glucose oxydée est beaucoup plus importante chez le rat néphrotique que chez le rat normal.

Le temps moyen de transit du glucose-1-C¹⁴ (1) (tableau LV) dans l'organisme est de 153 minutes pour le rat normal et de 293 minutes pour le rat néphrotique (en raison du caractère bifide de la courbe d'activité spécifique). Le temps moyen de transit du glucose-6-C¹⁴ est de 190 minutes chez le rat normal et de 315 minutes chez le rat néphrotique.

Le débit de CO₂ calculé d'après l'élimination du C¹⁴O₂ est légèrement inférieur au débit mesuré chimiquement mais évolue parallèlement à ce dernier (tableau LV). Il est de 124 µmoles/min. pour le glucose-1-C¹⁴ et de 161 µmoles/min. pour le glucose-6-C¹⁴ chez le rat normal ; chez le rat néphrotique ces valeurs sont significativement plus basses (80 µmoles/min. pour le glucose marqué en C1 et 92 µmoles/min. pour le glucose marqué en C6).

La masse calculée (temps moyen de transit × débit de CO₂ (tableau LV) pour le glucose-1-C¹⁴ est de 18.900 µmoles pour le rat normal et de 23.400 µmoles pour le rat néphrotique ; dans les expériences utilisant le glucose-6-C¹⁴, elle est de 30.500 µmoles chez le rat normal et de 29.100 µmoles chez le rat néphrotique.

La différence entre les masses calculées après injection de glucose-1-C¹⁴ ou glucose-6-C¹⁴ s'explique par le nombre différent ou la durée inégale des transformations biochimiques conduisant à l'élimination de CO₂.

Comme c'est le cas pour le palmitate, une fraction du glucose a pénétré dans des voies métaboliques beaucoup plus lentes (synthèse des acides aminés, du glycogène, des glycérides...) ; elle ne sera oxydée que tardivement, ce qui explique qu'un pourcentage important du traceur n'est pas éliminé pendant les 24 premières heures de l'expérience.

5. Excrétion de C¹⁴O₂ après injection de bicarbonate-C¹⁴

Les mesures d'activité spécifique du C¹⁴O₂ après injection intraveineuse de bicarbonate-C¹⁴, reflètent exactement les activités spécifiques du bicarbonate du sang et permettent d'en estimer le « pool » (KORNBERG et PRICER, 1952 ; VAN BRUGGEN, 1956 ; ROBINSON et COXON, 1957 ; COXON et ROBINSON, 1959).

L'élimination du C¹⁴O₂ dans l'air expiré est très rapide après l'injection (SHIPLEY, BAKER, INCEFY et CLARK, 1959), c'est pourquoi il a paru

nécessaire d'injecter les rats dans leur cage métabolique et d'augmenter le nombre des récoltes précoces pour obtenir une courbe d'activité spécifique plus précise.

Le tableau LXI montre les activités spécifiques du $C^{14}O_2$ dans 7 expériences effectuées chez des rats normaux et dans 7 expériences réalisées chez des rats néphrotiques.

Les figures 23 et 24 montrent les courbes d'activité spécifique moyenne du rat normal et du rat néphrotique. La comparaison des deux figures ne montre aucune différence significative entre les deux courbes d'activité.

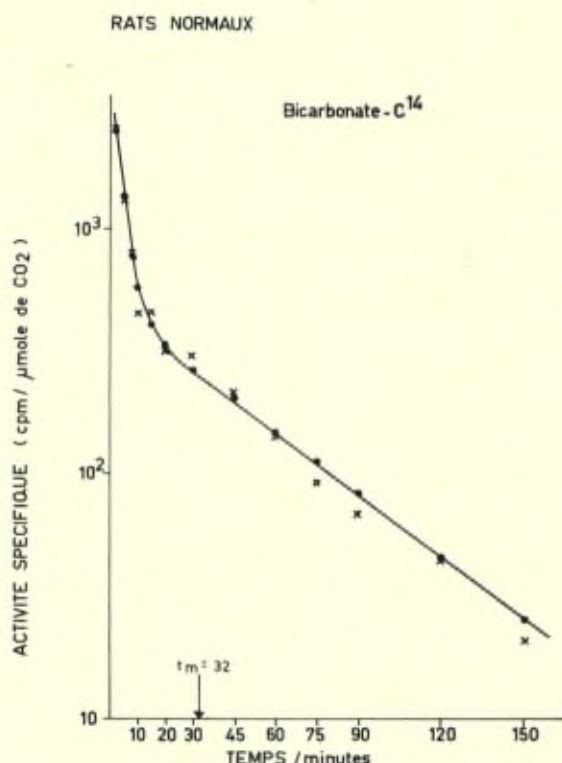


FIG. 23. Activité spécifique du $C^{14}O_2$ en fonction du temps après injection de bicarbonate- C^{14} .

Rats normaux : \cdot = points calculés ;

\times = points expérimentaux.

Ajustement par 2 exponentielles.

$$y = 479,8 e^{-1,94t} + 3,734 e^{-29,7t}$$

TABLEAU LXI
 Activité spécifique du $C^{14}O_2$ (CPM/ μ mole) après injection de bicarbonate-1- C^{14}

Temps en minutes après l'injection	2	5	8	10	15	20	30	45	60	75	90	120	150
Rats normaux													
Rat 1	1566	1377	725	405	482	332	354	331	230	167	133	93	47
2	2550	977	418	325	319	214	265	199	162	105	55	37	20
3	3917	1658	1025	691	629	374	341	234	143	106	96	58	—
4	3373	1700	1038	564	544	382	310	208	106	66	46	27	13
5	3619	1402	754	342	439	274	292	199	119	59	44	34	15
6	2392	1148	837	494	377	360	297	162	105	70	49	28	8
7	2174	1027	710	356	464	331	278	189	131	80	60	35	21
Moyenne	2513 ± 341	1327 ± 109	787 ± 80	454 ± 50	465 ± 38	324 ± 23	305 ± 12	217 ± 21	143 ± 16	93 ± 14	69 ± 13	45 ± 9	21 $\pm 5,6$
Numéro des récoltes	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13

TABLEAU LXI (Suite)

temps en minutes après l'injection	2	5	8	10	15	20	30	45	60	75	90	120	150
Rats néphrotiques													
Rat 1	2895	1643	908	396	622	448	247	280	219	145	98	88	52
2	3916	1588	701	542	749	341	300	207	114	80	75	66	34
3	4802	1863	934	619	584	408	322	278	231	156	115	76	46
4	2264	1052	714	444	569	515	344	246	152	106	77	45	21
5	4929	2009	1030	535	524	322	258	223	119	98	65	54	28
6	2780	1982	1214	752	779	423	406	304	205	114	77	47	24
7	4177	2003	1227	780	690	493	375	255	170	113	80	58	41
Moyenne	3680 ±389	1734 ±131	961 ±81	581 ±55	645 ±37	421 ±27	322 ±22	256 ±13	173 ±18	116 ±10	84 ±6	62 ±6	35 ±4,4
Numéro des récoltes	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13

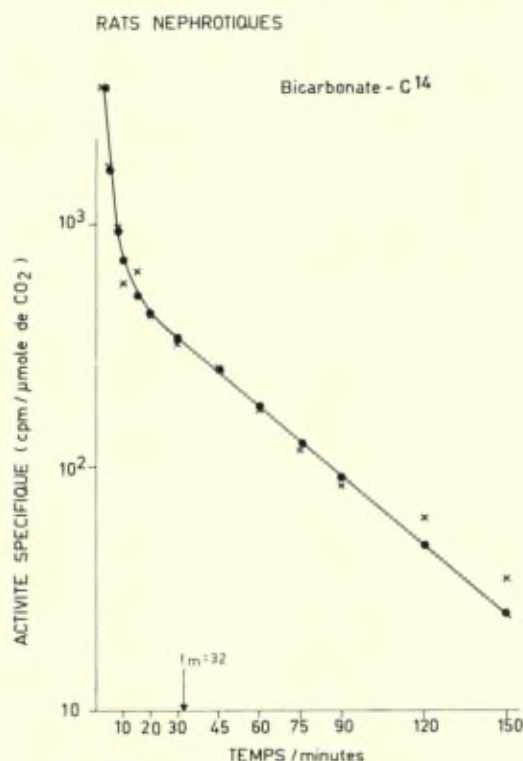


FIG. 24. Mêmes commentaires que figure 23.

Rats néphrotiques : ajustement par 2 exponentielles.

$$y = 658.3 e^{-2.18t} + 6051 e^{-0.411t}$$

L'analyse mathématique des résultats a permis d'ajuster la courbe par 2 exponentielles. La corrélation entre les points expérimentaux et les points théoriques est très bonne.

A la fin de l'expérience, soit 150 minutes après l'injection, l'excrétion cumulative atteint plus de 90 % de la dose injectée (soit la même valeur que l'excrétion calculée). Cela indique une participation rapide et directe du bicarbonate à la formation du CO₂ expiré.

Le temps moyen de transit est de 32 minutes pour le rat normal et de 32 minutes pour le rat néphrotique (différence non significative $P > 0,05$). Il est légitime de soustraire le temps de transit du bicarbonate du temps de transit de toute substance se trouvant en amont dans les chaînes métaboliques aboutissant à l'oxydation (par exemple le palmitate et le glucose).

Si on effectue cette opération sur les données calculées précédemment, les écarts entre les temps de transit moyen obtenus chez les rats normaux et chez les rats néphrotiques deviennent encore plus manifestes.

On peut donc conclure de ces expériences que les différences observées entre rats normaux et rats néphrotiques doivent être dues à une altération de métabolisme du glucose jusqu'à son stade bicarbonate et non à une différence dans les transformations métaboliques du bicarbonate.

CHAPITRE 4

ETUDE DE LA DECROISSANCE SANGUINE DE L'ACTIVITE DU GLUCOSE-1-C¹⁴ AU COURS DU TEMPS DETERMINATION D'UN ESPACE GLUCOSE ET DE LA VITESSE DE RENOUVELLEMENT

L'INVESTIGATION a porté sur 10 rats normaux et 13 rats néphrotiques. Nous avons déterminé dans 82 échantillons de sang total (34 normaux et 48 néphrotiques) la radioactivité totale due au glucose et à ses métabolites. Pour apprécier la radioactivité due au glucose seul, les mesures ont été effectuées sur du sang déprotéiné et passé sur résine Dowex. Cette analyse a porté sur 79 déprotéinats sanguins (40 normaux et 39 néphrotiques). Les prélèvements de sang artériel ont été effectués de 4 minutes à 40 minutes, après l'injection du traceur. Sur les échantillons recueillis jusqu'à la 11^e minute, seule la radioactivité du sang total a été mesurée, parce que pendant cette période la part de radioactivité qui revient aux métabolites peut être considérée comme négligeable (BAKER, SHIPLEY, CLARK et INCEFY, 1959). Les mesures de radioactivité ont donc porté sur les échantillons suivants :

- a) sang total prélevé entre 4 et 11 minutes ;
- b) sang total recueilli entre 10 et 40 minutes ;
- c) déprotéinat de sang prélevé entre 10 et 40 minutes et traité par Dowex.

Conformément à BAKER et coll. (1959), nous avons arbitrairement séparé les points correspondants aux mesures de la première et de la seconde période.

L'extrapolation de la portion de la courbe entre 4 et 11 minutes nous a permis d'établir une première approximation du volume de distribution de ce pool à équilibration rapide. Cet « espace glucose » était en moyenne de 31 % du poids corporel pour le rat normal et de

33,4 % pour le rat néphrotique. Ces valeurs ne diffèrent pas significativement l'une de l'autre ($P > 0,05$) ; elles sont très comparables à celles obtenues par BAKER et al. (1959) : 29 %. Elles se rapprochent de celles obtenues à l'aide d'autres traceurs qui se distribuent dans le liquide extracellulaire.

Le calcul de la vitesse de renouvellement (turnover) du glucose-1- C^{14} a été effectué sur le segment compris entre 10 et 40 minutes en assimilant

TABLEAU LXII
Vitesse de renouvellement du glucose-1- C^{14} chez les rats
normaux et néphrotiques
(exprimée en mg/100 g/minute)

	Pool en mg	Glycémie mg/ml	Poids corp. en g	k (*)	Vitesse de renou- vellement
Normaux	58,2	1,08	170	$1,97 \times 10^{-2}$	1,2
	72,2	1,36	170	1,73	1,2
	65,8	1,38	160	1,89	1,2
	79,7	1,38	195	1,13	0,9
	59,2	1,15	200	1,26	0,7
	49,1	1,07	220	2,11	1,0
	59,2	1,34	195	1,55	0,9
	63,1	1,38	180	1,96	1,2
	55,3	1,24	170	2,40	1,3
Moyenne :	61,4	1,26	184	$1,78 \times 10^{-2}$	$1,1 \pm 0,2$
Néphrot.	49,9	0,92	180	1,60	0,8
	46,5	0,80	185	1,64	0,8
	66,4	1,08	185	1,25	0,8
	77,2	1,15	185	1,33	1,0
	52,3	1,04	195	1,67	0,9
	47,7	0,96	185	2,24	1,1
	52,2	0,87	175	1,21	0,6
	68,9	1,24	175	1,21	0,8
	76,2	1,01	180	0,86	0,7
Moyenne :	55,2	1,01	183	1,45	$0,85 \pm 0,15$

(*) Constante représentant la fraction du pool renouvelée par unité de temps.

la décroissance à une exponentielle simple (FELLER, STRISOWER et CHAIKOFF, 1950 ; OOMS, FRANCKSON et CONARD, 1961). Cette simplification de la courbe n'introduit pas de distorsion importante du phénomène. En effet, en extrapolant au temps 0 la courbe exponentielle pour estimer le pool de glucose, on surestime ce dernier (CONARD, FRANCKSON, OOMS, MALAISSE et RASIO, 1965) mais l'erreur ainsi commise est compensée dans le calcul de la vitesse de renouvellement par une sous-estimation de la constante de renouvellement (NOSSLIN, 1966).

Le turnover (exprimé en mg/100 g/minute) n'est pas significativement différent entre rats normaux et rats néphrotiques ($P > 0,05$) : respectivement $1,1 \pm 0,2$ mg et $0,85 \pm 0,15$ mg en moyenne (tableau LXII).

L'aspect des courbes de décroissance (fig. 25) illustre en tous cas le fait que les vitesses de disparition du glucose sanguin ne sont pas différentes entre les deux groupes de rats. La pénétration du glucose dans les tissus a donc dû être sensiblement identique dans les deux groupes. Les différences observées dans notre étude du métabolisme oxydatif proviennent donc d'une utilisation différente du glucose après sa pénétration dans les tissus.

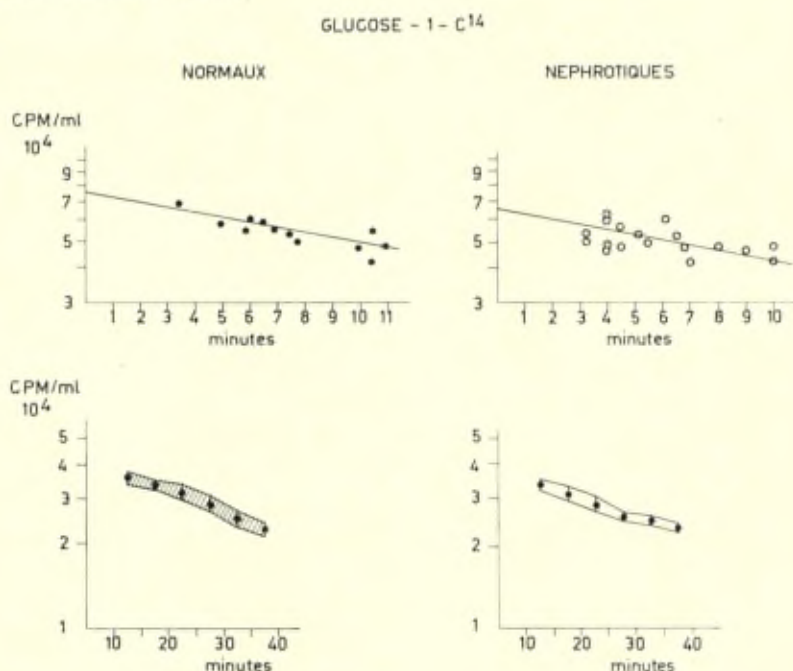


FIG. 25. Décroissance de la radioactivité (en cpm/ml) du sang artériel après injection de glucose-1-C¹⁴.

De 3 à 11 minutes (dessins supérieurs) : échantillons de sang total. De 10 à 40 minutes (dessins inférieurs) : échantillons de déprotéinats de sang passé sur résine Dowex. Valeurs moyennes \pm déviation standard.

DISCUSSION ET CONCLUSIONS

A. METABOLISME DU DIAPHRAGME

1. Métabolisme du palmitate

a) INCORPORATION

In vivo, les acides gras (FFA) sont véhiculés dans le sang circulant en liaison avec l'albumine (FREDRICKSON et GORDON, 1958).

BRAGDON et GORDON (1958), LAURELL (1959), MALMENDIER (1962) et GÖRANSSON et OLIVECRONA (1964) ont montré qu'une quantité non négligeable des acides gras marqués injectés dans la circulation du rat normal se retrouve dans le tissu musculaire. La quantité captée dépend naturellement de l'état de nutrition préalable du rat. L'ingestion d'hydrates de carbone accroît la quantité de traceur retrouvée dans le tissu, ce qui traduit une augmentation de la captation musculaire des acides gras. Leur concentration diminue dans le sang des animaux en état de nutrition et augmente par le jeûne (GORDON et CHERKES, 1956 ; DOLE, 1956). Immédiatement après la captation dans le tissu, une fraction des acides gras se retrouve sous forme de glycérides et de phospholipides (MALMENDIER, 1962 ; OLIVECRONA, 1962 ; GÖRANSSON et OLIVECRONA, 1964).

In vitro, il avait été démontré que le tissu musculaire pouvait capter les acides gras introduits dans le milieu d'incubation (NEPTUNE et SUD-DUTH, 1959 ; EATON et STEINBERG, 1960). La quantité captée dépendait de la concentration des acides gras dans le milieu (STEINBERG et VAUGHAN, 1963) et de la présence ou de l'absence de glucose. On sait que l'insuline et le glucose augmentent la quantité d'acides gras captée et favorisent leur utilisation pour la synthèse des lipides (glycérides) (EATON et STEINBERG, 1960).

En l'absence de glucose, la quantité de palmitate captée par le diaphragme de rat néphrotique est nettement plus basse que celle captée par le diaphragme de rat normal ; en outre, chez le rat néphrotique, une partie assez importante du palmitate capté n'est pas utilisée pour la synthèse des glycérides et se mélange au pool des acides gras du muscle.

L'addition de glucose normalise la captation de palmitate marqué par le muscle de rat néphrotique et son incorporation dans les glycérides et les phospholipides.

La synthèse des glycérides s'opère à partir du glycérophosphate d'une part (KENNEDY, 1957, 1958 ; KORNBERG et PRICER, 1953 ; WEISS, KENNEDY et KIYASU, 1960) et d'acides gras activés dont il constitue l'accepteur principal d'autre part (SHAPIRO, STETTEN et ROSE, 1960). L'incorporation de l'acide palmitique marqué dans les triglycérides de tranches de foie, croît avec la quantité d'alpha-glycérophosphate ajoutée au milieu d'incubation (SHAPIRO et STEIN, 1959 ; ROUS et FAVARGER, 1965). Or, la quantité d'alpha-glycérophosphate disponible diminue rapidement au cours du jeûne ; une réalimentation de quelques heures suffit à rétablir l'incorporation même après un jeûne prolongé (TZUR, TAL et SHAPIRO, 1964). Il est donc vraisemblable que c'est la formation de glycérophosphate (à partir du glucose) qui explique, dans nos expériences la synthèse accrue de glycérides par l'addition de glucose au milieu d'incubation des diaphragmes néphrotiques.

L'addition de glycérophosphate au milieu, a le même effet que le glucose sur l'incorporation du palmitate. Cependant il n'est pas certain que le glycérophosphate puisse pénétrer tel quel dans le tissu musculaire. Jusqu'à présent, un transport actif de L- α -glycérophosphate à travers une membrane cellulaire n'a été démontré que chez *Escherichia coli* par HAYASHI, KOCH et LIN (1964). Nous avons montré que le glycérol ajouté au milieu d'incubation pénétrait rapidement dans le muscle et y formait du glycérophosphate servant à la synthèse des glycérides. On ne peut guère imaginer que le glycérophosphate ajouté au milieu libre du glycérol qui serait ensuite capté par les cellules musculaires et retransformé en glycérophosphate. Quelque soit le mécanisme invoqué, l'action du glycérophosphate est indéniable.

En conclusion, le stockage des lipides dépend de l'existence d'une source suffisante de glucose intracellulaire. Or, on sait que la quantité de glycogène du muscle néphrotique est fortement réduite par rapport à celle du rat normal et que par conséquent la quantité de glucose mobilisable à partir du glycogène est faible dans le diaphragme néphrotique. Cette observation explique bien, croyons-nous, la formation insuffisante de lipides dans le muscle néphrotique puisque l'apport de glucose ou mieux encore de glycérophosphate normalise la synthèse des glycérides à partir de l'acide gras.

b) OXYDATION

De nombreux auteurs ont mis en évidence l'oxydation des acides gras par le muscle qu'il s'agisse du diaphragme (WERTHEIMER et BEN-TOR, 1952 ; HANSEN et RUTTER, 1952 ; FRITZ, DAVIS, HOLTROP et DUNDEE, 1958 ; NEPTUNE et SUDDUTH, 1959), du muscle cardiaque (OPIE, EVANS et SHIPP, 1963 ; SHIPP, 1964 ; CAVERT et JOHNSON, 1956) ou du muscle squelettique (WEINHOUSE, MILLINGTON et VOLK, 1950 ; VOLK, MILLINGTON et WEINHOUSE, 1952 ; SPITZER et GOLD, 1964). *In vitro*, cette oxydation dépend de la concentration des acides gras dans le milieu d'incubation (WERTHEIMER et BEN-TOR, 1952 ; BODEL, RUBINSTEIN, MCGARRY et BECK, 1962 ; FRITZ, 1958 ; EATON et STEINBERG, 1963). L'oxydation des acides gras à longue chaîne se fait d'une manière préférentielle à celle des acides gras à courte chaîne (FRITZ, DAVIS, HOLTROP et DUNDEE, 1958 ; GOLD et SPITZER, 1964). Ceci serait dû au fait que l'oxydation des acides gras nécessite une incorporation préalable dans les glycérides ; or l'octanoate (acide gras à courte chaîne) n'intervient pas dans la synthèse des glycérides.

Il existe d'autre part une compétition dans le muscle entre l'oxydation du glucose et celle des acides gras (WERTHEIMER, NEPTUNE). Lorsqu'on augmente la concentration de ces derniers dans le milieu d'incubation, on observe une diminution de la quantité de glucose oxydée et une diminution d'incorporation du glucose dans le glycogène (BÜHRING, 1963). Cet effet d'épargne de l'oxydation du glucose se marque moins bien avec les acides gras à courte chaîne (BÜHRING, 1963).

Réciproquement, on observe, dans le diaphragme du rat à jeûn, un effet d'épargne du palmitate en présence de glucose (5×10^{-3} M) (LOS-SOW et CHAIKOFF, 1955 ; FRITZ et KAPLAN, 1961 ; BODEL, RUBINSTEIN, MCGARRY et BECK, 1962). Si la concentration en glucose est inférieure à 200 mg/100 ml, elle n'affecte pas l'oxydation du palmitate (SCHWARTZMAN et BROWN, 1960). Dans le diaphragme de rat nourri, cet effet d'épargne n'apparaît que par l'addition simultanée de glucose et d'insuline (FRITZ, DAVIS, HOLTROP et DUNDEE, 1958 ; FRITZ et KAPLAN, 1961). L'effet du glucose ne se fait pas par l'intermédiaire du lactate ou du pyruvate car ces deux substances n'ont pas la même action que le glucose (FRITZ, 1961 ; GEYER et coll., 1953).

Dans nos expériences effectuées en l'absence de glucose, la quantité de palmitate oxydée par le diaphragme de rat néphrotique n'est pas différente de celle qu'oxyde le diaphragme du rat normal. Par contre, en présence de glucose, le diaphragme du rat néphrotique oxyde beau-

coup moins de palmitate que le muscle du rat normal. Si le glucose épargne normalement l'oxydation du palmitate, cet effet d'épargne est beaucoup plus intense dans le diaphragme néphrotique car le glucose y est davantage utilisé pour la synthèse des glycérides.

2. Métabolisme des chylomicrons

a) INCORPORATION

In vivo, la plupart des tissus du rat normal peuvent capter les chylomicrons injectés dans la circulation (FRENCH et MORRIS, 1957 ; BRAGDON et GORDON, 1958 ; BORGSTRÖM et JORDAN, 1959 ; LAURELL, 1959 ; MALMENDIER, 1962 ; JONES et HAVEL, 1967 ; OLIVECRONA, 1962 ; BELFARGE, BORGSTRÖM et OLIVECRONA, 1963 ; BEZMAN-TARCHER, OTWAY et ROBINSON, 1965). Après leur pénétration dans les tissus, les chylomicrons doivent y subir l'hydrolyse par l'intermédiaire d'un enzyme qui est le plus souvent la lipoprotéine lipase (ROBINSON, 1963). La présence de cet enzyme a été démontrée dans le foie (ENGELBERG, 1966), le cœur et le diaphragme (KORN, 1955 ; HOLLENBERG, 1960), le tissu adipeux du rat (KORN, 1955) ; elle manquerait dans le tissu adipeux humain (ENGELBERG, 1961) mais d'autres enzymes lipolytiques peuvent intervenir (WALLACH, 1968).

Les expériences réalisées *in vivo* par BRAGDON et GORDON (1958), OLIVECRONA (1962), MALMENDIER (1962) montraient que les tissus hépatique, adipeux et musculaire pouvaient capter une importante quantité de chylomicrons. Ces études toutefois, portaient le plus souvent sur la détermination de la quantité de C^{14} retrouvée dans les différents tissus et non sur sa répartition dans les fractions acides gras, triglycérides et phospholipides du tissu. La faible quantité de C^{14} liposoluble, que nous avons trouvée dans les tissus adipeux et musculaire du rat néphrotique pouvait s'expliquer par l'un des deux mécanismes suivants :

- a) captation réduite des chylomicrons, ou
- b) hydrolyse accentuée des chylomicrons prélevés par le tissu avec relibération très active des acides gras dans le sang (accentuation du processus normal de lipolyse).

C'est pour trancher entre ces deux hypothèses que nous avons déterminé l'incorporation, par le diaphragme, de chylomicrons biosynthétisés à partir d'acides gras marqués.

Des études effectuées *in vitro* sur les tissus adipeux (RODBELL, 1960) et hépatique (ONTKO et ZILVERSMIT, 1967, STEIN et SHAPIRO, 1960 ; GREEN et WEBB, 1964) avaient montré que ces deux tissus pouvaient

capter les chylomicrons ajoutés au milieu d'incubation ou contenus dans le liquide de perfusion de l'organe isolé (RODBELL et SCOW, 1965 ; ONTKO et ZILVERSMIT, 1967 ; FELTS et MAYES, 1965). On ne sait pas encore si les glycérides sont hydrolysés dans le courant sanguin ou à la surface des capillaires avant d'être transférés dans les tissus (HAVEL, FELTS et VAN DUYN) ou bien s'ils pénètrent dans les cellules sans être hydrolysés au préalable (BRAGDON, OLIVECRONA, MALMENDIER). D'autres travaux plaident davantage pour la deuxième hypothèse (RODBELL et SCOW, 1965 ; RODBELL, 1960 ; GUTMAN et SHAFRIR, 1963).

Nos études ont été effectuées sur le diaphragme *in vitro*. Dans les diverses conditions expérimentales, la fraction de la radioactivité mesurée dans les acides gras tissulaires était beaucoup plus importante que celle introduite dans le milieu d'incubation sous cette forme et la composition du milieu (en radioactivité) ne variait pas au cours du temps ; cette différence de radioactivité entre tissu et milieu indiquait clairement une lipolyse intratissulaire des esters du chylomicron. Comme une partie des acides gras libérés par l'hydrolyse est certainement oxydée, l'activité lipolytique ne peut être intégralement mesurée par la radioactivité présente dans les acides gras. Pour l'estimer, il faut encore tenir compte de l'importance de la radioactivité contenue dans les mono- et les diglycérides et même dans le CO_2 .

L'aspect de la courbe d'évolution de l'incorporation des chylomicrons au cours du temps dans le diaphragme néphrotique montre qu'il n'existe certainement pas de diminution de captation par ce tissu. La modification de la répartition de la radioactivité au cours du temps suggère un processus d'hydrolyse progressif des glycérides qui ont pénétré dans le tissu, plus actif chez le néphrotique que chez le normal.

L'utilisation de 2 milieux de composition différente offerts au tissu (chylomicrons intacts et chylomicrons partiellement hydrolysés) permet d'étudier simultanément les processus de lipolyse et de resynthèse et met bien en évidence la différence de comportement existant entre les diaphragmes de rats normaux et de rats néphrotiques. En effet, deux réactions interviennent lorsque des graisses exogènes (chylomicrons) sont captés par un tissu (SHAPIRO) : la première est une hydrolyse enzymatique des triglycérides aboutissant à la libération d'acides gras et de glycérol ; la deuxième est une néosynthèse effectuée à partir des acides gras produits par l'hydrolyse et de glycérophosphate : la réestérification aboutit à la formation de triglycérides. Le fait d'alimenter les rats et l'addition de glucose au milieu favorisent la vitesse de ces réactions. Un résultat similaire a été observé par RODBELL (1960) dans le tissu

adipeux du rat normal. L'addition au milieu d'incubation de chylomicrons intacts démontre une lipolyse plus accentuée dans le diaphragme du rat néphrotique que dans celui du rat normal. Avec des chylomicrons partiellement hydrolysés, on met en évidence le processus de resynthèse ; celui-ci est plus marqué chez le rat néphrotique que chez le rat normal pour autant que l'animal soit nourri avant le sacrifice ou que le milieu d'incubation soit additionné de glucose.

b) OXYDATION

In vivo, le rat normal est capable d'oxyder rapidement les chylomicrons administrés par voie veineuse (BRAGDON, 1958). L'oxydation des chylomicrons est fortement retardée chez le rat néphrotique ; à cause de la dilution du traceur dans un pool lipoprotéique sanguin beaucoup plus important, les graisses pénètrent plus lentement dans les tissus mais ceux-ci semblent capables d'oxyder normalement les lipides. En fait, les rats néphrotiques oxydent même plus rapidement les graisses que les rats normaux ; toutefois, le phénomène n'est apparent que 2 à 6 heures après l'injection intraveineuse de chylomicrons à cause de l'effet de dilution rapporté plus haut. En effet, nos expériences de 1962 (MALMENDIER, 1962) et l'examen des courbes obtenus par FRENCH et MORRIS (1958) montrent que 4 à 6 heures après l'injection intraveineuse du traceur, la courbe d'activité spécifique du $C^{14}O_2$ du rat néphrotique rejoint et dépasse même celle du rat normal. Un tel résultat ne peut s'expliquer uniquement par le retard de pénétration des chylomicrons et démontre une oxydation accrue des graisses exogènes chez le rat néphrotique. On doit rapprocher ces observations des résultats que nous avons obtenu après l'injection de palmitate marqué.

En conclusion

Les expériences effectuées *in vivo* montraient la présence, dans le tissu adipeux et le muscle du rat néphrotique, d'une quantité réduite de C^{14} liposoluble (provenant des chylomicrons) ; celle-ci résulte d'une hydrolyse accrue des chylomicrons et non d'une diminution de captation ainsi qu'il apparaît des expériences *in vitro* que nous venons de rapporter.

3. Métabolisme du glycérol

a) INCORPORATION

Le glycérol doit être normalement transformé en glycérophosphate pour participer à la synthèse des glycérides et des phospholipides. Cette transformation nécessite la présence dans le tissu de glycérokinase

(LUNDQUIST, TYGSTRUP, WINKLER et JENSEN, 1965 ; BUBLITZ et KENNEDY, 1954). Cette glycérokinase n'a pas pu être démontrée dans tous les tissus. Le foie (BUBLITZ et KENNEDY, 1954 ; GRUNNET et LUNDQUIST, 1967), le muscle (HOLZER et HOLLDORF, 1957), le rein (WIELAND et SUYTER, 1957), la glande mammaire (MCBRIDE et KORN, 1964) et le tissu adipeux brun (TREBLE et BALL, 1963) en contiennent de petites quantités. Dans le tissu adipeux blanc, il n'y en a guère (ROBINSON et NEWSHOLME, 1967 ; WIELAND et SUYTER, 1957 ; MARGOLIS et VAUGHAN, 1962 ; RANDLE, GARLAND, HALES et NEWSHOLME, 1963). Le glycérophosphate formé est ou bien métabolisé vers la voie triglycéride par l'estérification avec des acides gras ou pénètre dans les mitochondries où il est oxydé par l'alpha-glycérophosphate déhydrogénase pour former la dihydroxyacétone phosphate (FRIED, GREENBERG et ANTROPOL, 1961). Cet enzyme a été trouvé dans le muscle (TOEWS, 1966 ; GREEN, 1936 ; YOUNG et PACE, 1958 ; FRIED et al., 1961), le foie (FRIED et al., 1961 ; GREEN, 1936 ; YOUNG et PACE, 1958), le rein (FRIED et al., 1961 ; YOUNG et PACE, 1958).

Dans nos expériences, la quantité de glycérol incorporée dans le diaphragme normal est importante ce qui témoigne de la présence de glycérokinase en quantités appréciables dans le tissu. En l'absence de glucose dans le milieu d'incubation, nous n'avons pas pu mettre en évidence de différence notable entre l'incorporation de glycérol chez le rat normal et chez le rat néphrotique ; il est donc peu vraisemblable que les concentrations de glycérokinase soient différentes dans les diaphragmes de ces deux groupes de rats.

Lorsque le milieu d'incubation contient du glucose, nous observons une diminution apparente de l'incorporation du glycérol marqué dans les glycérides du diaphragme, chez le rat néphrotique seulement. Plusieurs hypothèses peuvent être formulées pour expliquer d'une part l'effet du glucose et d'autre part la différence de comportement des rats normaux et néphrotiques, en présence de ce substrat (fig. 26) :

1) La présence d'alpha-glycérophosphate provenant du métabolisme du glucose freinerait la transformation du glycérol en glycérophosphate en inhibant l'action de la glycérokinase ; on connaît d'autres exemples où la phosphorylation du glycérol est déprimée par la présence d'importantes quantités de glycérophosphate produites à partir de précurseurs hydrocarbonés ; ainsi le glucose et l'insuline dépriment l'incorporation du glycérol marqué dans les glycérides du tissu adipeux (TEPPERMAN, 1968 ; FAIN, REED et SAPERSTEIN, 1967) ; le glycérophosphate aurait par ailleurs une action inhibitrice *in vitro* sur la glycérokinase (ROBINSON et

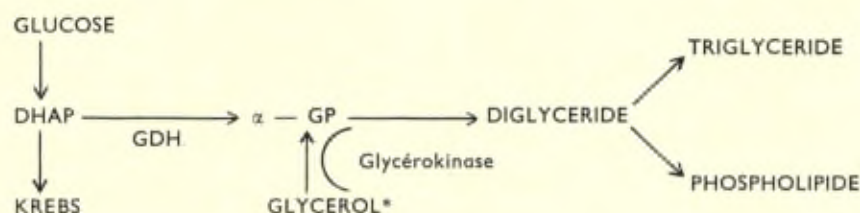


FIG. 26. Voies métaboliques des transformations du glycérol.

NEWSHOLME, 1967). Cependant on comprendrait mal pourquoi cette action inhibitrice se manifesterait davantage pour le diaphragme néphrotique que pour le diaphragme normal.

2) L'apport de glycérophosphate froid, fourni par le glucose diluerait le glycérophosphate marqué formé à partir du glycérol. Chez le rat normal, le pool de glycérophosphate déjà important en l'absence de glucose ne serait guère accru par l'apport de glycérophosphate provenant du glucose ajouté au milieu d'incubation. Chez le rat néphrotique, le pool de glycérophosphate serait plus petit et son augmentation par la transformation du glucose ajouté au milieu serait beaucoup plus sensible ; cette hypothèse suppose que l'incorporation absolue du glycérol soit effectivement plus faible chez le rat néphrotique que chez le rat normal, même en l'absence de glucose. Dans ce dernier cas, l'incorporation réduite du glycérol marqué serait masquée par la faible importance du pool et ne deviendrait démontrable que lorsque le pool de glycérophosphate est augmenté par l'addition de glucose. Cette seconde hypothèse cadrerait bien avec l'interprétation des résultats que nous avons obtenu lors de l'incorporation du palmitate.

3) Le glycérol marqué serait dilué par du glycérol froid provenant de la lipolyse qui a lieu dans le tissu en cours d'incubation. Cette lipolyse pourrait être accentuée dans le diaphragme du rat néphrotique comme le montrent nos expériences d'incubation en présence de chylomicrons ; mais il n'est pas certain que la présence de glucose accentue la lipolyse chez le rat néphrotique.

Avant de terminer ce chapitre, nous voudrions montrer l'intérêt en pathologie des paramètres que nous avons défini dans nos études métaboliques. Par exemple, dans l'étiologie de l'obésité, on a incriminé récemment (GALTON et BRAY, 1967) une diminution de la quantité de glycérophosphate déshydrogénase, enzyme responsable de l'oxydation du

glycérophosphate (GREEN, 1936 ; COLOWICK et KAPLAN, 1955 ; FRIED, GREENBERG et ANTOPOL, 1961) ; cette diminution enzymatique entraînerait une disponibilité accrue de glycérophosphate pour la synthèse glycéridique (GALTON et BRAY, 1967). Le pool de glycérophosphate n'a jamais été mesuré valablement mais HOOD et BJÖRNTOP (1966) pensent que celui du tissu adipeux des patients obèses est beaucoup plus important que celui des sujets normaux parce qu'ils observent une dilution de l'incorporation du glycérol dans les lipides neutres, chez ces malades. En ce qui concerne le pool de glycérophosphate, l'obésité représenterait une situation inverse de celle du syndrome néphrotique expérimental où le pool des rats malades serait plus petit que celui des rats normaux en l'absence de glucose mais serait réapprovisionné en glycérophosphate par l'apport de glucose en quantités suffisantes.

b) OXYDATION

L'oxydation du glycérol en l'absence de glucose dans le milieu d'incubation est identique pour le diaphragme de rat normal et pour celui du rat néphrotique. Lors de l'addition de glucose au milieu, il paraît exister un certain effet de dilution pour le diaphragme néphrotique. L'analyse de la variance toutefois ne permet pas de déceler une différence significative entre le comportement des muscles des deux types de rats.

4. Métabolisme du glucose

a) INCORPORATION

Les expériences effectuées avec du palmitate ont montré que l'addition de glucose au milieu d'incubation mettait en évidence chez l'animal néphrotique une utilisation normale du glucose pour la synthèse glycéridique et phospholipidique. On ne devait donc pas s'attendre à observer une différence d'incorporation quantitative du glucose dans les diverses fractions lipidiques du diaphragme. Il importait toutefois de voir si le glucose n'était pas utilisé davantage vers la synthèse protéique chez le rat néphrotique car le métabolisme protéique est extrêmement perturbé dans ce syndrome et la synthèse hépatique des protéines y est fortement accrue (DRABKIN et MARSH).

Après incubation en présence de glucose marqué, la répartition de la radioactivité dans les lipides et dans les protéines n'est pas différente pour les diaphragmes normaux ou néphrotiques. Pour ces deux groupes de substrats, tant chez les animaux normaux que néphrotiques, la radio-

activité totale est faible. La quantité présente dans la fraction acide gras est presque négligeable. La radioactivité que l'on a retrouvé dans les glycérides après hydrolyse est contenue dans la fraction glycérol et provient donc de la transformation métabolique du glucose en glycérophosphate et de l'utilisation de ce glycérophosphate dans la synthèse glycéridique. L'autre voie (transformation du glucose en acétyl-CoA et utilisation de cet acétyl-CoA pour la synthèse d'acides gras) n'est donc guère décelable pendant la durée de l'expérience.

b) OXYDATION

En dehors de ces deux voies aboutissant à la synthèse lipidique, le glucose est utilisé essentiellement dans deux directions : la conversion en glycogène (qu'on suppose être faible chez le rat néphrotique) et l'oxydation par le cycle de Krebs via l'acétyl-CoA.

Le glucose-1- C^{14} est oxydé en quantités plus importantes par le diaphragme néphrotique que par le diaphragme normal. Cette différence d'oxydation est encore beaucoup plus accusée si l'on étudie la part que prend relativement le glucose dans l'oxydation globale du tissu (rapport $C^{14}O_2/CO_2 \times 100$). En effet, le métabolisme oxydatif est réduit dans le tissu musculaire du rat néphrotique mais le glucose joue néanmoins un rôle prépondérant comme substrat d'oxydation.

5. Incorporation de la leucine

La leucine est utilisée à l'état normal pour la synthèse des protéines et dans une faible mesure pour la synthèse des lipides. L'incorporation de cet acide aminé dans le synthèse protéique (étudiée globalement) ne paraît pas accrue dans le diaphragme du rat néphrotique. La leucine donne lieu après transformation métabolique à trois molécules d'acétyl-CoA mais la quantité d'acétyl-CoA réutilisée dans la synthèse des lipides est très faible, particulièrement dans le diaphragme néphrotique que l'animal ait été à jeûn ou nourri avant le sacrifice.

B. MÉTABOLISME OXYDATIF DU RAT NÉPHROTIQUE IN TOTO

Le métabolisme oxydatif du rat néphrotique est globalement diminué. Il se distingue en outre, de celui du rat normal, par des différences qualitatives, ainsi qu'il résulte de nos expériences avec le palmitate et le glucose marqués.

On sait que le palmitate a un métabolisme extrêmement actif. Mc CALLA, GATES et GORDON (1957) notamment, ont montré qu'une heure après l'injection intraveineuse de palmitate marqué, près de 40 % de la dose injectée étaient excrétés sous forme de $C^{14}O_2$. MAYES et FELTS (1967) ont trouvé une excrétion de 51 % en 180 minutes chez des rats normaux maintenus à jeûn pendant 48 heures. Nos valeurs (obtenues chez des rats à jeûn pendant 22 heures) sont un peu plus basses que celles des autres auteurs.

En prolongeant nos expériences pendant 420 minutes, nous avons trouvé une élimination de $C^{14}O_2$ chez le rat normal de l'ordre de 52,5 %. En extrapolant nos courbes d'excrétion cumulative, on obtient en 24 heures une élimination qui n'excède pas 60 % de la dose injectée. La même extrapolation pratiquée sur les courbes de McCALLA, GATES et GORDON (1957) et de MAYES et FELTS (1967) semble donner des valeurs légèrement supérieures mais ne dépassant pas 75 %. Le reste du palmitate injecté doit suivre d'autres voies métaboliques (synthèse glycéridique et phospholipidique, métabolites aquasolubles tels que l'hydroxybutyrate (HAGENFELDT et WAHREN, 1968) ; il ne sera donc éliminé que très lentement au cours du temps. L'excrétion à 100 % de la dose pourrait prendre un temps extrêmement long par rapport à la durée de l'observation.

Chez le rat néphrotique, l'élimination de $C^{14}O_2$ pendant les 420 minutes de l'expérience est fortement diminuée ; le métabolisme oxydatif du palmitate y est donc nettement ralenti, ainsi qu'en atteste d'ailleurs l'allongement du temps de transit moyen. Cependant l'extrapolation des courbes d'activité cumulative montre que la quantité de palmitate oxydée par le rat néphrotique selon la voie métabolique rapide, est très proche de celle oxydée par le rat normal.

Les altérations métaboliques constatées chez le rat néphrotique avec le glucose-1- C^{14} ou le glucose-6- C^{14} sont, comme nous le verrons, de nature très différente de celles observées avec le palmitate.

Considérons d'abord le métabolisme du glucose chez le rat normal.

MAYES et FELTS (1967) observaient une excrétion cumulative en 180 minutes de 34,4 % de la dose de glucose-U- C^{14} injectée chez le rat normal à jeûn depuis 48 heures. Nos valeurs (pour des rats à jeûn depuis 22 heures) sont très comparables à celles de ces auteurs (34,3 % après injection de glucose-1- C^{14} et 32,7 % après injection de glucose-6- C^{14}). Comme pour le palmitate, la quantité de glucose excrétée sous forme de $C^{14}O_2$ (même après extrapolation de la courbe d'excrétion cumulative) est bien loin d'atteindre 100 % de la dose en 24 heures ;

le glucose sera utilisé également dans d'autres voies métaboliques moins rapides (notamment la synthèse du glycogène, celle des protéines via les acides aminés et même celle des glycérides par l'apport de glycérophosphate et d'acétyl-CoA).

La vitesse d'excrétion du $C^{14}O_2$ diffère selon la position (C_1 ou C_6) du carbone marqué dans la molécule de glucose ; elle est plus rapide avec le glucose-1- C^{14} . Dans nos expériences, le rapport des vitesses, d'oxydation de ces deux traceurs, exprimé par le quotient C_1/C_6 est égal en moyenne à 1,25 pour les 90 premières minutes : pour STAHELINS KARNOVSKY, FARNHAM et SUTER (1957) il est de 1,35, de 1,37 pour NECHELES (1960) et pour SPIRO et BALL (1958) de 1,45. Après 90 minutes, les courbes d'activité spécifique sont presque superposables avec les deux traceurs étudiés. Cependant, la détermination du rapport C_1/C_6 ne peut donner qu'une information qualitative et non quantitative du métabolisme du glucose (KATZ et WOOD, 1960) ; son interprétation doit être prudente (WOOD, 1955).

Chez le rat néphrotique, l'excrétion cumulative de $C^{14}O_2$ en 420 minutes est beaucoup plus importante que chez le rat normal, respectivement 50,2 % après glucose-1- C^{14} et 44,4 % après glucose-6- C^{14} . Comme pour le rat normal, le glucose-1- C^{14} est plus rapidement oxydé ; le rapport C_1/C_6 est égal à 1,13 pour les 90 premières minutes. Après 90 minutes, les courbes d'activité spécifique se confondent pratiquement.

L'ébauche d'un second sommet apparaissant dans les courbes d'activité spécifique du $C^{14}O_2$ (pour le glucose-1- C^{14} et bien davantage pour le glucose-6- C^{14}) chez le rat néphrotique peut s'expliquer par une sommation de plusieurs voies métaboliques d'oxydation à vitesses différentes. On sait qu'il existe trois voies possibles d'oxydation du glucose en CO_2 : la voie d'Embden-Meyerhoff, le shunt pentose-phosphate et le shunt de l'acide glucuronique (fig. 27). La voie principale dans les conditions normales est celle d'Embden-Meyerhoff où les carbones 1 et 6 suivent les mêmes voies métaboliques (BLOOM, STETTEN et STETTEN, 1953). Le shunt pentose-phosphate (LIPMAN, DICKENS, 1936 ; HORECKER et MEHLER, 1955), d'importance variable (BLOOM et STETTEN, 1953 ; ARNSTEIN et KEGLEVIC, 1956 ; NECHELES, PRATT et BURLER, 1960) conduit à la libération précoce du carbone 1 du glucose. Dans le shunt de l'acide glucuronique (BURNS et KANFER, 1957 ; MCCORMICK et TOUSTER, 1957 ; EISENBERG, DAYTON et BURNS, 1957, 1959), c'est le carbone 6 qui est séparé sous forme de $C^{14}O_2$ (HORECKER et HIATT, 1958) ; cette voie est peu utilisée à l'état normal (HIATT, 1958). Toutefois, certains médicaments (chloretone, barbital, aminopyrine...) (BURNS,

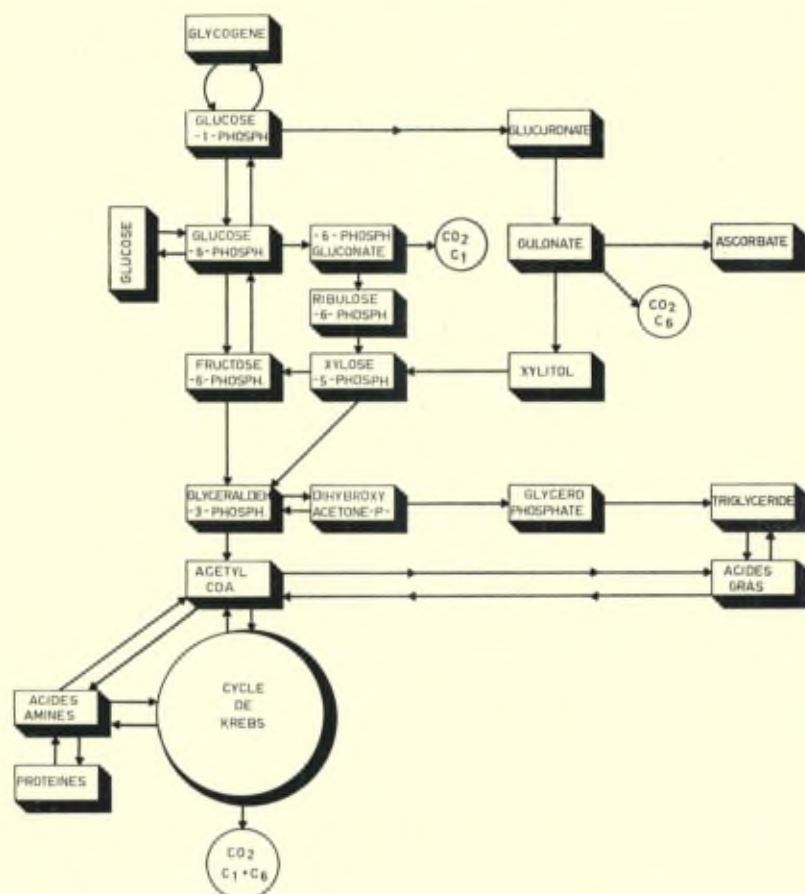


FIG. 27. Schéma des trois voies métaboliques oxydatives du glucose.

(Emden-Meyerhoff, shunt pentose-phosphate, shunt de l'acide glucuronique.)

EVANS et TROUSOF, 1957 ; BURNS, MOSBACH et SCHULENBERG, 1954 ; ENKLEWITZ et LASKER, 1935) peuvent augmenter considérablement la fraction du glucose oxydée par le shunt de l'acide glucuronique. Cette augmentation pourrait représenter selon CONNEY, GASTEL et BURNS, 1959, une réponse adaptative nouvelle de l'organisme aux effets de certaines substances étrangères.

On pourrait admettre que la vitesse d'oxydation par la voie d'Emden-Meyerhoff soit comparable chez le rat normal et chez le rat néphro-

tique mais que chez ce dernier, la participation du shunt pentose-phosphate et peut-être du shunt de l'acide glucuronique soit plus importante. L'oxydation par ces deux voies serait plus lente que par la voie d'Embden-Meyerhoff. L'addition des vitesses d'excrétion rendrait compte de l'allure caractéristique de la courbe d'activité spécifique que nous obtenons chez les rats néphrotiques. L'effet de la néphrose serait donc comparable à celui des médicaments accroissant l'importance du shunt glucuronique et représenterait une réaction d'adaptation à des altérations métaboliques inhérent à la maladie. Dans le diabète, WINEGRAD et SHAW (1964), LUKENS (1967) signalent une plus grande contribution du shunt glucuronique vers le CO_2 à partir du glucose.

Si l'on compare le comportement du rat néphrotique à celui du rat normal, on observe que l'animal néphrotique épargne son palmitate et oxyde davantage de glucose. On peut rapprocher ces constatations de l'observation analogue faite au niveau d'un tissu isolé (diaphragme *in vitro*). Le régime peut influencer le type de substrat préférentiellement oxydé. En effet, MAYES et FELTS (1967) avaient constaté que le rat normal nourri en hydrates de carbone oxydait moins de palmitate et plus de glucose- U-C^{14} que le rat normal à jeûn. Nos rats néphrotiques se comportent à ce point de vue seulement comme les rats nourris en hydrates de carbone.

Il resterait enfin à examiner les résultats obtenus après injection de bicarbonate.

L'excrétion du bicarbonate est très rapide, la quasi-totalité de l'isotope étant éliminée en 150 minutes. Le même fait avait été observé par MAYES et FELTS (1967). La vitesse d'excrétion dépend essentiellement du pool de bicarbonate ; cette substance n'est guère utilisée dans le sens de la synthèse vers le palmitate et le glucose ; en effet, l'injection de bicarbonate marqué ne permet de retrouver qu'une faible fraction de la radioactivité dans le glucose (WAGLE et ASHMORE, 1963) et moins encore dans le palmitate (FREDRICKSON et GORDON, 1958). Or on a vu que le rat néphrotique se comportait pour cet isotope de la même manière que le rat normal. Cette constatation indique que les différences entre rats normaux et rats néphrotiques sont dues à une altération du métabolisme du glucose jusqu'à son stade bicarbonate et non à une différence dans les pools de bicarbonate.

Conclusions (fig. 28)

Le syndrome néphrotique est caractérisé par une lésion rénale provoquant une perte urinaire massive de protéines [1] ; celle-ci entraîne

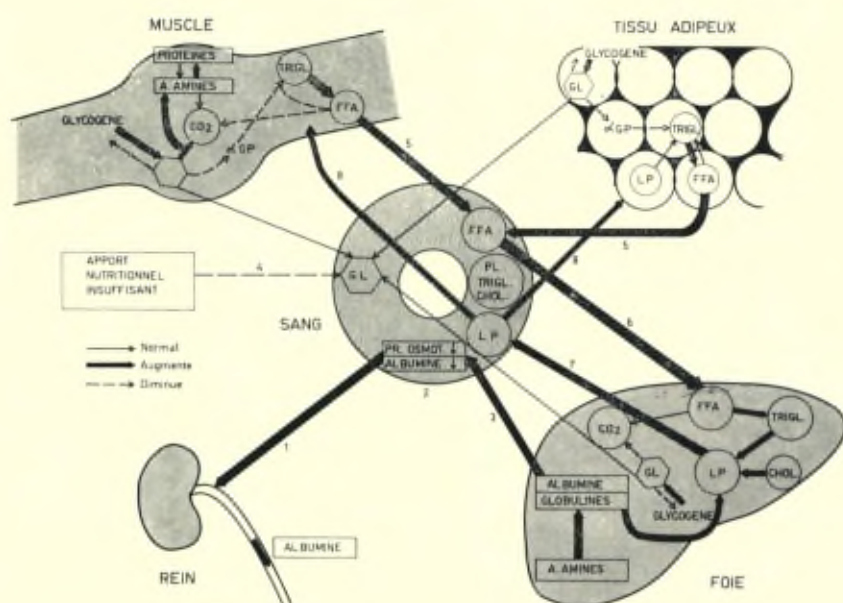


FIG. 28. Schéma de la conception actuelle des modifications métaboliques existant dans le syndrome néphrotique.

Les numéros indiqués sur les flèches renvoient au texte (Conclusions).

TRIGL. = triglycérides

LP = lipoprotéines

FFA = acides gras non estérifiés

PL = phospholipides

αGP = alpha-glycér phosphate

CHOL = cholestérol total

une hypoprotéinémie et surtout une hypoalbuminémie importante. De cette hypoalbuminémie, découle une diminution nette de la pression colloïdo-osmotique [2]. L'hypoalbuminémie est corrigée en partie par une synthèse hépatique accrue d'albumine et de globulines [3].

Tant que l'hypoalbuminémie est modérée, on ne constate qu'une hypercholestérolémie ; les autres graisses du sérum ne sont guère augmentées. D'autre part les constituants lipidiques du tissu adipeux et du tissu musculaire restent normaux. Comme le foie est le siège quasi-exclusif de la synthèse du cholestérol, il faut admettre qu'il doit y avoir, sans qu'on en connaisse le mécanisme exact, une augmentation parallèle de la synthèse du cholestérol et de la synthèse protéique, avec libération accélérée sous forme de lipoprotéines dans la circulation.

Lorsque l'hypoalbuminémie s'aggrave fortement (en dessous d'un taux critique) on observe une augmentation des autres fractions lipi-

diques (triglycérides et phospholipides) du sérum portant surtout sur les triglycérides. A ce moment, on constate une fonte du tissu adipeux et une réduction (souvent au tiers de leur valeur normale) des glycérides musculaires.

L'augmentation importante de la synthèse des protéines doit avoir pour effet de supprimer quasiment la voie métabolique allant des acides aminés vers le cycle de Krebs, et de favoriser la voie inverse, c'est-à-dire le processus de synthèse des acides aminés (par transamination) à partir des dérivés hydrocarbonés provenant du glucose. Il existe en outre une oxydation accrue du glucose par le cycle de Krebs et par les shunts. Ces phénomènes entraînent une augmentation de la glycogénolyse ; celle-ci associée à un apport nutritionnel fortement déficitaire [4] (globalement et en hydrates de carbone) conduit à une réduction progressive des réserves glycogéniques du foie, du muscle et du tissu adipeux. Le glucose étant surtout utilisé aux fins citées plus haut, il n'en reste qu'une quantité réduite disponible pour la formation de glycérophosphate nécessaire à la synthèse des graisses neutres dans le muscle. Il est possible qu'une carence en facteurs essentiels tels que ATP, NAD..., contribue aussi à la diminution de la synthèse des glycérides. Et cependant, le processus normal de lipolyse des glycérides du muscle se poursuit ; il est même nettement accru chez le rat néphrotique, ce qui déclenche une réduction progressive des glycérides du muscle et du tissu adipeux de ces animaux. [5] Les acides gras libérés en excès par la lipolyse sont soit oxydés soit captés par le foie. L'oxydation globale des acides gras n'est que légèrement réduite chez le néphrotique mais leur captation par le foie est nettement augmentée [6]. En l'absence d'une cétose accrue, on doit admettre que le foie utilise davantage ces acides gras pour une synthèse de glycérides. Cette augmentation de synthèse des lipoprotéines est confirmée par les expériences *in vitro* sur tranches de foie et par perfusion de foie *in situ*. Les glycérides formés en excès sont relibérés dans le sang sous forme de lipoprotéines endogènes [7]. Même si le tissu adipeux et le muscle peuvent en capter et hydrolyser une certaine quantité [8], cette quantité captée est toutefois insuffisante pour corriger l'hyperlipémie.

D'autre part, la captation des glycérides exogènes (chylomicrons) n'est pas réduite dans le muscle néphrotique [8] mais souvent retardée et la lipolyse des glycérides captés y est accélérée. Les acides gras libérés sont peu utilisés pour la synthèse des glycérides par le muscle et par le tissu adipeux en raison du déficit en glycérophosphate. Le glycérol produit par l'hydrolyse n'est pas réutilisé par le tissu adipeux et moyen-

nement par le muscle. Le foie capte la plus grande partie des acides gras libérés par la lipolyse au niveau des tissus périphériques et les couple avec le glycérophosphate provenant de la glycogénolyse ce qui aboutit à la synthèse de lipoprotéines qui sont libérées dans la circulation et contribuent ainsi à l'aggravation de l'hyperlipémie.

RÉSUMÉ

SAMENVATTING

SUMMARY

LE PRÉSENT travail constitue une étude des interrelations existant entre les métabolismes lipidique et glucidique dans le syndrome expérimental.

La technique employée pour induire la néphrose, permet d'obtenir un tableau biologique comparable à celui de la néphrose humaine : protéinurie sévère, hypoprotéïnémie, hypoalbuminémie, augmentation de toutes les fractions lipidiques du sérum (cholestérol, phospholipides, triglycérides) à l'exception d'un taux normal en acides gras non estérifiés, hypoglycémie enfin.

La première partie du travail comprend l'étude d'un tissu isolé (le diaphragme) placé dans un milieu d'incubation en présence de différents traceurs.

Le degré d'hydratation plus élevé des tissus provenant des animaux néphrotiques a été pris en considération pour le calcul des concentrations chimiques. Le diaphragme néphrotique contient par rapport au normal, beaucoup moins de glycogène, un taux de glycérides très abaissé (baisse portant surtout sur la fraction triglycéridique), une concentration plus élevée en acides gras non estérifiés ; par contre, les concentrations en phospholipides et en protéines totales sont comparables à celles des diaphragmes normaux. Le taux des glycérides est fortement réduit par le jeûne chez le rat normal, tandis que l'effet du jeûne est moins sensible chez le rat néphrotique. La durée de l'incubation entraîne une augmentation marquée des acides gras libérés par l'hydrolyse des glycérides tissulaires ; la différence existant entre diaphragmes normaux et néphrotiques disparaît lorsqu'on ajoute du glucose ou du glycérophosphate au milieu.

Les diaphragmes de rats normaux et néphrotiques ont été incubés en présence de divers substrats.

En présence de glucose dans le milieu, le diaphragme néphrotique capte une quantité de palmitate-1-C¹⁴ comparable à celle captée par le diaphragme normal. L'incorporation dans les triglycérides y est fortement réduite ce qui témoigne d'une moindre estérification chez le rat néphrotique. L'addition de glucose ou de glycérophosphate au milieu d'incubation, restaure, par l'apport de substrat glycérophosphate, la capacité d'estérification des acides gras. Le diaphragme néphrotique se

caractérise donc par une carence en substrat glycérophosphate qui pourrait provenir d'une altération dans l'utilisation du glucose vers la voie lipidique.

La captation de chylomicrons marqués dans leur palmitate, par le diaphragme croît avec le temps d'incubation et avec le degré d'hydrolyse des chylomicrons (les uns contenant plus de 90 % de la radioactivité dans les triglycérides, les autres 40 % seulement). Chez le rat néphrotique, la captation est toujours supérieure à celle du rat normal ; de plus, il existe des différences de répartition de la radioactivité entre les diverses fractions du tissu chez l'animal normal et néphrotique et des différences en fonction du degré d'hydrolyse des préparations. Ces faits montrent que dans le diaphragme néphrotique, les processus d'hydrolyse (aboutissant à la libération de glycérol et d'acides gras libres) et de resynthèse (à partir des acides gras libres disponibles) sont plus marqués que chez le rat normal. Ils sont également plus sensibles à l'état de nutrition du rat préalablement au sacrifice et à la présence de glucose dans le milieu d'incubation.

Le diaphragme normal incorpore une quantité appréciable de glycérol-1-C¹⁴ alors que le tissu adipeux n'en incorpore pas. Le diaphragme néphrotique en incorpore une quantité comparable en l'absence de glucose dans le milieu d'incubation. L'addition de glucose réduit apparemment la quantité de glycérol-1-C¹⁴ incorporée par le diaphragme néphrotique. Cette réduction pourrait résulter d'un effet de compétition pour la captation, entre glycérol marqué et glycérophosphate froid provenant du métabolisme du glucose. On peut aussi conclure à une dilution du glycérophosphate marqué (provenant de la phosphorylation du glycérol par la glycérokinase) par le glycérophosphate froid, en présence d'un pool de glycérophosphate plus petit chez le rat néphrotique.

Le diaphragme néphrotique incorpore une même quantité de glucose et la répartition de la radioactivité dans les fractions lipidiques est comparable à celle observée dans le diaphragme du rat normal.

La majeure partie de la leucine(U)-C¹⁴ est incorporée dans les protéines. Une fraction faible de la radioactivité est mesurée dans les glycérides du diaphragme normal (après transformation en acétyl-CoA) ; cette quantité est encore réduite dans le diaphragme du rat néphrotique vraisemblablement par une utilisation accrue de l'acétyl-CoA vers les hydrates de carbone et vers l'oxydation.

QCO₂ et QR des diaphragmes de rats normaux et néphrotiques sont identiques. Les diaphragmes des animaux néphrotiques oxydent

une même quantité de palmitate-1-C¹⁴ en l'absence de glucose dans le milieu mais la présence de glucose a pour effet de diminuer significativement chez le rat néphrotique la quantité de palmitate oxydée. La quantité de glycérol-1-C¹⁴ oxydée par les deux types de diaphragme est comparable et l'addition de glucose au milieu ne modifie guère cette quantité. Une plus grande quantité de glucose-1-C¹⁴ est oxydée par les diaphragmes néphrotiques que par ceux des rats normalement nourris mais une quantité identique à celle des diaphragmes de rats « isonourris ». La participation du glucose marqué dans le processus respiratoire est beaucoup plus importante chez le rat néphrotique que chez le normal.

La deuxième partie du travail étudie le métabolisme oxydatif des animaux normaux et néphrotiques *in vivo*.

L'alimentation joue certainement un rôle important dans les différences observées entre les deux types de rats. Comparés à des rats « isonourris », les rats néphrotiques ont une glycémie plus basse, une teneur du muscle en glycogène nettement réduite. D'autre part, leurs diaphragmes incorporent une importante quantité de palmitate marqué dont la plus grande partie est utilisée pour la synthèse des triglycérides à l'opposé des rats néphrotiques qui incorporent peu d'acides gras dans les glycérides. La restriction alimentaire ne peut donc expliquer les différences métaboliques observées entre rats normaux et rats néphrotiques.

Les quotients respiratoires des deux groupes d'animaux ne sont pas différents dans les mêmes conditions de nutrition. Par contre, le métabolisme basal est réduit chez le rat néphrotique ; ce fait est à rapprocher du métabolisme basal abaissé chez les patients atteints de syndrome néphrotique.

D'une manière générale, le rat néphrotique élimine beaucoup moins de CO₂ que le rat normal.

L'excrétion de C¹⁴O₂ après injection de palmitate marqué est nettement réduite pendant les premières heures chez le rat néphrotique mais la courbe d'excrétion cumulative rejoint ultérieurement la courbe du rat normal. Le métabolisme du palmitate y est donc nettement ralenti. Même au cours des premières 24 heures, la quantité de palmitate oxydée ne représente qu'au plus 70 % de la radioactivité injectée. Le reste de la dose est éliminé pendant un temps infiniment long par rapport aux 7 heures d'expérience.

En ce qui concerne le glucose marqué, l'élimination du C¹⁴O₂ après glucose-1-C¹⁴ est plus rapide que celle obtenue après glucose-6-C¹⁴ tant chez les animaux normaux que chez les animaux néphrotiques.

L'excrétion cumulative de $C^{14}O_2$ est beaucoup plus importante chez le rat néphrotique avec les deux traceurs. La courbe d'activité spécifique du $C^{14}O_2$ montre chez le rat néphrotique un double sommet ; le second sommet pourrait résulter de l'addition de plusieurs voies métaboliques de vitesses différentes, et notamment de l'utilisation chez les rats néphrotiques du shunt de l'acide glucuronique pour oxyder le glucose.

L'oxydation du bicarbonate- C^{14} n'est pas différente entre rats normaux et rats néphrotiques. Cette constatation conduit à penser que les différences observées entre rats normaux et rats néphrotiques en ce qui concerne l'oxydation du glucose doivent donc être dues à une altération du métabolisme du glucose jusqu'au stade bicarbonate et non à une différence dans les transformations métaboliques du bicarbonate.

L'espace glucose est du même ordre de grandeur dans les deux types de rats et les vitesses de turnover du glucose sont comparables tout au moins lorsqu'on étudie la décroissance du glucose entre 0 et 40 minutes.

Dans les conclusions, est réalisé un essai de synthèse des conceptions actuelles concernant le mécanisme de l'hyperlipémie du syndrome néphrotique. La participation active des principaux tissus (foie, adipeux et musculaire) dans la perturbation du métabolisme lipidique et le rôle fondamental du dérèglement métabolique des hydrates de carbone dans la genèse de l'hyperlipémie néphrotique y sont illustrés par un schéma pathogénique.

DIT werk is een studie van de overeenkomsten die bestaan tussen het vet- en het suikermetabolisme in het experimenteel veroorzaakte nephrotisch syndroom. De gebruikte techniek om de nephrose te veroorzaken laat ons toe biologische data te bekomen, vergelijkbaar met deze van de menselijke nephrose: proteïnurie, hypoproteïnemie, ernstige hypoalbuminemie, vermeerdering van alle lipidenfracties in het sérum (cholesterol, fosfolipiden en triglyceriden), met uitzondering van een normaal gehalte aan niet veresterde vetzuren en een hypoglycemie.

Het eerste deel van dit werk omvat de studie van een geïsoleerd weefsel (het diafragma), geplaatst in een incubatiemidden samen met verschillende tracers.

Met de hogere hydratatiegraad van de weefsels van nephrotische dieren werd rekening gehouden bij de berekening van de scheikundige concentraties. Het nephrotisch diafragma bevat, in vergelijking met het normale, veel minder glycogeen, een sterk gedaald gehalte aan glyceriden (daling die vooral slaat op de triglyceridenfractie) en een hogere concentratie van niet veresterde vetzuren; de concentraties van fosfolipiden en totale proteïnen anderzijds zijn vergelijkbaar met deze in normale diafragmas. Het gehalte aan glyceriden is bij de normale rat sterk gedaald door het vasten, terwijl de uitwerking van het vasten minder belangrijk is bij de nephrotische rat. De incubatieduur brengt een merkelijke vermeerdering mee van vetzuren, vrijgemaakt door hydrolyse van glyceriden in de weefsels; het verschil dat bestaat tussen normale en nephrotische diafragmas verdwijnt als men aan het midden glucose of glycerofosfaat toevoegt. De diafragmas van normale en nephrotische ratten werden geïncubeerd in verschillende substraten.

Bij afwezigheid van glucose in het midden neemt het nephrotische diafragma een hoeveelheid palmitaat-1-C¹⁴ op, vergelijkbaar met deze opgenomen door het normale diafragma. De opname in de triglyceriden is er sterk verminderd wat duidt op een verminderde verestering bij de nephrotische rat. Toevoeging van glucose of glycerofosfaat in het incubatiemidden herstelt de veresteringsmogelijkheid van de vetzuren. Het nephrotische diafragma kenmerkt zich dus door een gebrek aan glycerofosfaat-substraat dat zou kunnen voortkomen van een verandering in het verbruik van glucose in de lipiden.

De incubatie in aanwezigheid van chylomicrons, gemerkt in hun palmitaat, bewijst dat het nephrotisch diafragma een grotere hoeveelheid glyceriden van exogeen type kan opnemen dan het normale diafragma. Deze opgenomen hoeveelheid vermeerderd regelmatig met de incubatietijd. Naargelang men te doen heeft met intacte chylomicrons (die meer dan 90 % triglyceriden bevatten) of met gedeeltelijk gehydrolyseerde chylomicrons (40 % van de radioactiviteit in de triglyceriden), is de verdeling van de radioactiviteit in de onderscheiden lipidenfracties van het weefsel verschillend. Indien de hydrolyse reeds verder gevorderd is, wordt de globale opgenomen hoeveelheid belangrijker. Wanneer chylomicrons ter beschikking worden gesteld aan het weefsel, doen zich achtereenvolgens twee verschijnselen voor: een hydrolyse, leidend tot de vrijmaking van glycerol en vrije vetzuren, vervolgens een neosynthese van triglyceriden uitgaande van de beschikbare vrije vetzuren. Het hydrolyseproces en de neosynthese zijn belangrijker in het diafragma van de nephrotische rat en zijn eveneens gevoeliger aan de voeding van de rat voor de proefnemingen aan de aanwezigheid van glucose in het incubatiemidden.

Het normale diafragma neemt een aanzienlijke hoeveelheid glycerol op terwijl het vetweefsel er geen opneemt. Het nephrotische diafragma neemt een gelijkaardige hoeveelheid op bij afwezigheid van glucose in het incubatiemidden. Toevoeging van glucose vermindert schijnbaar de hoeveelheid glycerol-1-C¹⁴ opgenomen door het nephrotisch diafragma. Deze vermindering in opname zou kunnen het gevolg zijn van een zekere wedijver tussen de gemerkte glycerol en het niet gemerkte glycerofosfaat dat voortkomt uit het metabolisme van glucose.

Men kan ook besluiten tot een verdunning van het gemerkt glycerofosfaat (voortkomend van de fosforylatie van glycerol-1-C¹⁴ door het glycerokinase) door niet gemerkt glycerofosfaat, in aanwezigheid van een glycerofosfaatpool die kleiner is bij de nephrotische rat. Het nephrotische diafragma neemt een gelijke hoeveelheid glucose op en de verdeling van de radioactiviteit over de lipidenfracties is te vergelijken met deze waargenomen in het diafragma van de normale rat. Het grootste deel van de leucine(U)-C¹⁴ wordt opgenomen in de proteïnen. Een klein gedeelte van de radioactiviteit wordt gemeten in de glyceriden van het normale diafragma (na omvorming tot acetyl-CoA); deze hoeveelheid is nog verminderd in het diafragma van de nephrotische rat, waarschijnlijk als gevolg van een toegenomen verbruik van acetyl-CoA voor de koolhydraten en voor de oxydatie.

QCO₂ en QR van diafragmas van normale en nephrotische ratten zijn gelijk. Bij afwezigheid van glucose in het midden oxyderen de

diafragmas van nephrotische dieren een zelfde hoeveelheid palmitaat-1- C^{14} maar de afwezigheid van glucose vermindert bij de nephrotische rat beduidend de hoeveelheid geoxydeerd palmitaat.

De hoeveelheden glycerol-1- C^{14} , geoxydeerd door beide diafragma-types zijn vergelijkbaar en toevoeging van glucose aan het midden verandert deze hoeveelheid nauwelijks. Door de nephrotische diafragmas wordt een grotere hoeveelheid glucose-1- C^{14} geoxydeerd dan door deze van normaal gevoede ratten; de hoeveelheid is evenwel gelijk aan die geoxydeerd door diafragmas van iso-gevoede ratten.

Het aandeel van de gemerkte glucose in het ademhalingsproces is veel belangrijker bij de nephrotische rat dan bij de normale.

Het tweede deel van het werk bestudeert het oxydatie-metabolisme van normale en nephrotische dieren *in vivo*.

De voeding speelt zeker een belangrijke rol in de waargenomen verschillen tussen beide types van ratten. Vergeleken bij isogevoede ratten, hebben nephrotische ratten een lagere glycemie en een duidelijk verminderd gehalte aan glycogeen in de spieren. Anderzijds nemen hun diafragmas een belangrijke hoeveelheid gemerkt palmitaat op waarvan het grootste gedeelte wordt gebruikt voor de synthese van triglyceriden, dit in tegenstelling met de nephrotische ratten die weinig vetzuren opnemen in hun glyceriden. De beperking van de voeding kan dus de waargenomen verschillen in het metabolisme tussen normale en nephrotische ratten niet verklaren.

De respiratorische quotienten van beide diergroepen zijn niet verschillend onder dezelfde voedingsvoorwaarden. Daarentegen is het basaal metabolisme verminderd bij de nephrotische rat; dit feit is te vergelijken met het verminderd basaal metabolisme bij patienten met een nephrotisch syndroom.

In 't algemeen elimineert de nephrotische rat veel minder CO_2 dan de normale.

De uitscheiding van $C^{14}O_2$ na inspuiting van gemerkt palmitaat is bij de nephrotische rat duidelijk verminderd gedurende de eerste uren, maar de cumulatieve uitscheidingscurve vervoeft later de kurve van de normale rat. Het metabolisme van het palmitaat is daar dus duidelijk vertraagd. Zelfs gedurende de eerste 24 uren vertegenwoordigt de hoeveelheid geoxydeerd palmitaat slecht maximum 70 % van de ingespoten radioactiviteit. De rest van de dosis wordt geëlimineerd gedurende een oneindig lange tijd vergeleken bij de 7 uren van de proefneming.

Wat betreft de gemerkte glucose, is de uitscheiding van $C^{14}O_2$ veel sneller na glucose-1- C^{14} injectie dan na glucose-6- C^{14} injectie

zowel bij de normale als bij de nephrotische dieren. De cumulatieve uitscheiding van $C^{14}O_2$ is met beide tracers veel belangrijker bij de nephrotische rat. De specifieke activiteitscurve van de $C^{14}O_2$ vertoont bij de nephrotische rat een dubbele top; de tweede top zou kunnen voortkomen van de som van verschillende metabolismen met verschillende snelheden, en meer bepaald van het verbruik bij de nephrotische dieren van de shunt van glucuroonzuur om de glucose te oxyderen.

De oxydatie van bicarbonaat- C^{14} verschilt niet bij normale en bij nephrotische ratten. Deze vaststelling leidt ertoe te denken dat de waargenomen verschillen tussen normale en nephrotische ratten, wat betreft de oxydatie van glucose, moeten te wijten zijn aan een verandering in het glucose-metabolisme tot het stadium bicarbonaat en niet aan een verschil in de metabolische veranderingen van het bicarbonaat.

De glucose-ruimte is van dezelfde grootte-orde in beide types van ratten en de « turnover » snelheden van de glucose zijn vergelijkbaar bij normale en nephrotische ratten, tenminste als men de afname van glucose bestudeert tussen 0 en 40 minuten.

In de besluiten hebben we getracht een synthese te maken van de huidige opvattingen aangaande het metabolisme van de hyperlipemie van het nephrotisch syndroom. De actieve deelname van de belangrijkste weefsels (lever, vetweefsel en spierweefsel) in de storing van het metabolisme van de lipiden en de fundamentele rol van het gestoord metabolisme van de koolhydraten in het ontstaan van de nephrotische hyperlipemie zijn er geïllustreerd door een pathogeen schema.

THIS paper presents a study of the metabolic interrelations existing between lipids and carbohydrates in the experimental nephrotic syndrome. The technique used to induce nephrosis, led to a biological picture comparable to that of human nephrosis: proteinuria, hypo-proteinemia and severe hypoalbuminemia, marked increase in cholesterol, phospholipid and glyceride concentration despite a normal level of free fatty acids (FFA), and hypoglycemia.

The first part of the study concerns an isolated tissue (the diaphragm) incubated in presence of different tracers.

Hydration of the nephrotic tissue was increased. In the nephrotic diaphragm, there was much less glycogen, decreased glyceride content (especially the triglyceride per cent), increased FFA content but normal values of phospholipids and total proteins. Fast reduced markedly the glyceride content but less in the nephrotic diaphragm than in the normal. Prolonged incubation led to a marked increase in FFA release by hydrolysis of tissue glycerides; the difference between normal and nephrotic diaphragms disappeared when glucose or glycerophosphate was added to the medium.

Diaphragms from normal and nephrotic rats have been incubated in presence of various labeled substrates.

In absence of glucose in the medium, the nephrotic diaphragm took up an amount of palmitate comparable to that taken up by the normal diaphragm but incorporation of fatty acid was much decreased in the triglyceride fraction, giving evidence of a reduced esterification in nephrotic rats. Addition of glucose or glycerophosphate to the medium restored, by providing enough substrate, the capacity of esterification for FFA. Nephrotic diaphragm is thus characterized by a deficiency in glycerophosphate, deficiency which results from an alteration in glucose utilization towards the lipid pathway.

Two types of chylomicrons labeled with palmitate-1-C¹⁴ were used (the first type containing 90 % of the radioactivity in the triglyceride fraction, the second one only 40 %). The uptake of chylomicrons increased in relation to incubation time and to the degree of hydrolysis of the chylomicrons incubated. Differences appeared in partition of activity between the different fractions of the tissue and also in connection

with the degree of hydrolysis of the chylomicrons. These data demonstrate that in nephrotic diaphragm, the processes of hydrolysis (leading to release of glycerol and FFA) and of resynthesis (from the newly available FFA) are much more important than in the normal diaphragm. Both reaction rates appear to be enhanced in nephrotic rat diaphragm and to depend more actively from the nutritional state of the rat prior to sacrifice and from the presence of glucose in the incubation medium.

In absence of glucose, normal and nephrotic diaphragms took up an appreciable amount of labeled glycerol, contrasting with the absence of glycerol uptake by adipose tissue. Addition of glucose apparently reduced the amount incorporated in nephrotic diaphragms only. This reduction could result either from a competitive uptake between labeled glycerol and cold glycerophosphate generated from glucose metabolism or from the dilution of labeled glycerophosphate (after phosphorylation of glycerol by glycerokinase) by a variable pool of cold glycerophosphate; indeed the pool of glycerophosphate seemed to be sharply reduced in nephrotic diaphragms.

Nephrotic diaphragms incorporated a same amount of labeled glucose as normal diaphragms did and partition of activity in the various lipid fractions was also comparable in the 2 groups.

The major part of labeled leucine was found in the proteins. A small activity of C^{14} was however recovered in the glycerides of normal diaphragm (after transformation in acetyl-CoA); less activity was present in the glycerides of nephrotic diaphragm, possibly by an increased utilization of acetyl-CoA to carbohydrates and to oxidation.

QCO_2 and RQ of normal and nephrotic diaphragms were identical.

Diaphragms from normal and nephrotic rats oxidized a same amount of palmitate- $1-C^{14}$ but glucose tended to diminish significantly the oxidation of palmitate in nephrotic diaphragm. The same amount of glycerol- $1-C^{14}$ was oxidized by both types of diaphragms; the glucose added to the medium brought no significant change in oxidation rate. A larger amount of glucose- $1-C^{14}$ was oxidized by nephrotic diaphragms and pair-fed rat diaphragms than by diaphragms of normal fed rats. Glucose is relatively more utilized in the respiratory process of nephrotic diaphragm.

The second part of the study refers to « *in vivo* » metabolism of normal and nephrotic rats.

Food intake plays an important role in the observed differences between normal and nephrotic rats. Compared to pair-fed animals, nephrotic rats showed a lower glycemia and a reduced muscular glycogen

content. Moreover, pair-fed rat diaphragms incorporated an important amount of the injected labeled palmitate, the larger part of it for tri-glyceride synthesis whereas in nephrotic rats, the participation of FFA in glyceride synthesis was dramatically reduced. Restriction in food intake is thus unable to explain the metabolic differences observed between normal and nephrotic rats.

Respiratory quotients of the two groups of animals were not different in the same nutritional state. On the contrary, basal metabolic rate was much lower in nephrotic rats.

Nephrotic rat always excreted less CO_2 than normal rat. C^{14}O_2 excretion, observed during the first two hours after labeled palmitate injection was much reduced in nephrotic rats. Excretion cumulative output ultimately became similar in both groups. During the first 24 hours, total output represented no more than 70 per cent of the injected dose. The remaining activity must have been eliminated very slowly.

Excretion rate of C^{14}O_2 after injection of glucose-1- C^{14} was higher than after injection of glucose-6- C^{14} in normal as well as in nephrotic rats. C^{14}O_2 cumulative output was much more important in nephrotic rats with both tracers. C^{14}O_2 specific activity curves in nephrotic animals showed a second peak; this peak could result from the addition of two or more oxidative pathways of different rates and probably from increased participation of the glucuronic acid pathway in glucose oxidation.

Oxidation rate of labeled bicarbonate in normal and nephrotic rats was similar. This observation makes likely that the differences observed in the oxidation of glucose between normal and nephrotic rats could result from an alteration in glucose metabolism to the bicarbonate step and not from an altered bicarbonate metabolism.

Glucose space and glucose turnover rates were of the same order of magnitude in both types of rats; disappearance activity curves were indeed identical in both groups during the first 40 minutes after tracer injection.

In the conclusions, an attempt of synthesis about recent knowings concerning the mechanism of nephrotic hyperlipemia is exposed. All tissues — liver, adipose and muscular — take an active part in the alteration of the lipid metabolism. The fundamental role of a disturbance in carbohydrate metabolism in the etiology of nephrotic hyperlipemia is discussed. A pathogenic schema is presented.

BIBLIOGRAPHIE

- ADDIS, T. — *Glomerular nephritis ; diagnosis and treatment*. The Mac Millan Co, New York, 1948.
- ALBRINK, M. J. — Lipoprotein pattern as a function of total triglyceride concentration of serum. *J. Clin. Invest.*, 1961, **40**, 536.
- ALBRINK, M. J., MAN, E. B. et PETERS, J. P. — The relation of neutral fat to lactescence of serum. *J. Clin. Invest.*, 1955, **34**, 147.
- ALLEN, J. C. — Effects of dextran, albumin and polyvinylpyrrolidone on the lipids in experimental nephrosis. *Clin. Res.*, 1959, **7**, 278.
- ALLEN, J. C., BAXTER, J. H. et GOODMAN, H. C. — Effects of dextran, polyvinylpyrrolidone and gamma globulin on the hyperlipidemia of experimental nephrosis. *J. Clin. Invest.*, 1961, **40**, 499.
- ANDERSON, N. G., et FAWCETT, B. — An antichylomicronemic substance produced by heparin injection. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1950, **74**, 768.
- ANFINSEN, C. B., BOYLE, E. et BROWN, R. K. — The role of heparin in lipoprotein metabolism. *Science*, 1952, **115**, 583.
- ARNSTEIN, H. R. et KEGLEVIC, D. — A comparison of alanine and glucose as precursors of serine and glycine. *Biochem. J.*, 1956, **62**, 199.
- ASHE, B. I. et BRUGER, M. — The cholesterol content of the plasma in chronic nephritis and retention uremia. *Amer. J. Med. Sci.*, 1933, **186**, 670.
- ATLAS, D. H., CASH, M. M. et KIRSCHEN, M. M. — Serum lipids following nephrectomy and in mercuric chloride poisoning. *Amer. J. Clin. Path.*, 1949, **19**, 962.
- BAKER, N. et SCHOTZ, M. C. — Quantitative aspects of free fatty acid metabolism in the fasted rat. *J. Lipid Res.*, 1967, **8**, 646.
- BAKER, N., SHIPLEY, R. A., CLARK, R. E. et INCEFY, G. E. — C^{14} studies in carbohydrate metabolism : glucose pool size and rate of turnover in the normal rat. *Amer. J. Physiol.*, 1959, **196**, 245.
- BALLY, P. et NUMA, S. — The relationship of the pituitary to hyperlipemia of induced nephrosis in rats. *J. Clin. Invest.*, 1957, **36**, 872.
- BARKER, M. H. et KIRK, E. J. — Experimental edema (nephrosis) in dogs in relation to edema of renal origin in patients. *Arch. Intern. Med.*, 1930, **45**, 319.
- BARR, D. P., RUSS, E. M. et EDER, H. A. — Protein-lipid relationships in human plasma. II. In atherosclerosis and related conditions. *Amer. J. Med.*, 1951, **11**, 480.
- BARRON, E. J. et HANAHAN, D. J. — Observations on the silicic acid chromatography of the neutral lipides of rat liver, beef liver, and yeast. *J. Biol. Chem.*, 1958, **231**, 493.

- BAUER, F. C. Jr., JOHNSON, G. C., CARBONARO, L. et HIRSCH, E. F. — Changes in the serum lipides of rabbits with acute uranyl nitrate poisoning. *Arch. Path.*, 1951, **51**, 441.
- BAXTER, J. H. et GOODMAN, H. C. — Nephrotoxic serum nephritis in rats. I. Distribution and specificity of the antigen responsible for the production of nephrotoxic antibodies. *J. Exp. Med.*, 1956, **104**, 467.
- BAXTER, J. H., GOODMAN, H. C. et ALLEN, J. C. — Effects of infusions of serum albumin on serum lipids and lipoproteins in nephrosis. *J. Clin. Invest.*, 1961, **40**, 490.
- BAXTER, J. H., GOODMAN, H. C. et HAVEL, R. J. — Serum lipid lipoprotein alterations in nephrosis. *J. Clin. Invest.*, 1960, **39**, 455.
- BAXTER, J. H., GOODMAN, H. C. et SHAFRIR, E. — Effects of glucose infusions on serum lipids and lipoproteins in nephrosis. *J. Clin. Invest.*, 1959, **38**, 986.
- BECK, G. E. et DORTA, T. — Un cas d'analbuminémie. *Helv. Med. Acta*, 1959, **26**, 764.
- BELFARGE, P. — Metabolism of chyle triglycerides in the liver. I. Studies on the mechanisms for liver uptake of intravenously injected glycerol and fatty acid-labeled chyle in the carbohydrate-fed rat. *Biochim. biophys. acta*, 1966, **125**, 474.
- BELFARGE, P., BORGSTRÖM, B. et OLIVECRONA, T. — The tissue distribution of radioactivity following the injection of varying levels of fatty acid labeled chylomicrons in the rat. *Acta physiol. scand.*, 1963, **58**, 111.
- BERNFELD, P., DONAHUE, V. M. et BERKOWITZ, M. E. — Interaction of human serum beta-lipoprotein with polyanions. *J. Biol. Chem.*, 1957, **226**, 51.
- BERNFELD, P., NISSELBAUM, J. S., BERKELEY, B. J. et HANSON, R. W. — The influence of chemical and physicochemical nature of macromolecular polyanions on their interaction with human serum beta-lipoproteins. *J. Biol. Chem.*, 1960, **235**, 2852.
- BEUMER, H. — Über nephrotische Hypercholesterinämie und die Frage ihrer diätetischen Beeinflussbarkeit. *Arch. f. Kinderb.*, 1921, **68**, 105.
- BEZMAN-TARCHER, A., OTWAY, S. et ROBINSON, D. S. — The removal of triglyceride fatty acids from the circulation of the supradiaphragmatic portion of the rat. *Proc. Roy. Soc. (Biol)*, 1965, **162**, 411.
- BLAHD, W. H., FIELDS, M. et GOLDMAN, R. — The turnover rate of serum albumin in the nephrotic syndrome as determined by I^{131} labeled albumin. *J. Lab. Clin. Med.*, 1955, **46**, 747.
- BLAINY, J. D., HARDWICKE, J. et WHITFIELD, A. G. W. — The nephrotic syndrome associated with thrombosis of the renal veins. *Lancet*, 1954, **2**, 1208.
- BLIX, G., TISELIUS, A. et SVENSSON, H. — Lipids and polysaccharides in electrophoretically separated blood serum proteins. *J. Biol. Chem.*, 1941, **137**, 485.
- BLOCK, W. J., BARKER, N. W. et MANN, F. D. — Effect of small doses of heparin in increasing the translucence of plasma during alimentary lipemia. Studies in normal persons and patients having atherosclerosis. *Circulation*, 1951, **4**, 674.

- BLOOM, B., STETTEN, M. R. et STETTEN, D. W. Jr. — Evaluation of catabolic pathways of glucose in mammalian systems. *J. Biol. Chem.*, 1953, **204**, 681.
- BLOOM, B. et STETTEN, D. W. Jr. — Pathways of glucose metabolism. *J. Amer. Chem. Soc.*, 1953, **75**, 446.
- BLOOM, W. L. et RUSSEL, J. A. — Effects of epinephrine and of norepinephrine on carbohydrate metabolism in the rat. *Amer. J. Physiol.*, 1955, **183**, 356.
- BLOOR, W. R. — The blood lipoids in nephritis. *J. Biol. Chem.*, 1917, **29**, IV.
- BLOOR, W. R. — The blood lipoids in nephritis. *J. Biol. Chem.*, 1917, **31**, 575.
- BODEL, P. T., RUBINSTEIN, D., MCGARRY, E. E. et BECK, J. C. — Utilization of free fatty acids by diaphragm in vitro. *Amer. J. Physiol.*, 1962, **203**, 311.
- BOGDONOFF, D., LINHART, J., KLEIN, R. F. et ESTES, E. H. Jr. — The effect of serum albumin infusion upon lipid mobilization in the nephrotic syndrome in man. *J. Clin. Invest.*, 1961, **40**, 1024.
- BOGGS, T. R. et MORRIS, R. S. — Experimental lipemia in rabbits. *J. Exp. Med.*, 1909, **11**, 553.
- BOLLMAN, J. L. — A cage which limits the activity of rats. *J. Lab. Clin. Med.*, 1948, **33**, 1348.
- BOLLMAN, J. L., CAIN, J. C. et GRINDLAY, J. H. — Techniques for the collection of lymph from liver, small intestine, or thoracic duct of the rat. *J. Lab. Clin. Med.*, 1948, **33**, 1349.
- BORGSTRÖM, B. — Investigation on lipid separation methods: separation of phospholipids from neutral fat and fatty acids. *Acta physiol. scand.*, 1952, **25**, 101.
- BORGSTRÖM, B. — Investigation of lipid separation methods: separation of cholesterol esters, glycerides, and free fatty acids. *Acta physiol. scand.*, 1952, **25**, 111.
- BORGSTRÖM, B. et JORDAN, P. — Metabolism of chylomicron glyceride as studied by glycerol- C^{14} -palmitic- C^{14} acid labeled chylomicrons. *Acta Soc. Med. Upsal.*, 1959, **64**, 185.
- BOWMAN, R. H. — Effect of combined treatment with testosterone and growth hormone on muscle glycogen in hypophysectomized female rats. *Amer. J. Physiol.*, 1953, **172**, 157.
- BRAGDON, J. H. — Colorimetric determination of blood lipides. *J. Biol. Chem.*, 1951, **190**, 513.
- BRAGDON, J. H. — On the composition of chyle chylomicrons. *J. Lab. Clin. Med.*, 1958, **52**, 564.
- BRAGDON, J. H. — $C^{14}O_2$ excretion after the intravenous administration of labeled chylomicrons in the rat. *Arch. Biochem.*, 1958, **75**, 528.
- BRAGDON, J. H. et GORDON, R. S. Jr. — Tissue distribution of C^{14} after the intravenous injection of labeled chylomicrons and unesterified fatty acids in the rat. *J. Clin. Invest.*, 1958, **37**, 574.
- BRAGDON, J. H., HAVEL, R. J. et GORDON, R. S. Jr. — Effects of carbohydrate feeding on serum lipids and lipoproteins in the rat. *Amer. J. Physiol.*, 1957, **189**, 63.

- BRAY, G. A. — A simple efficient liquid scintillator for counting aqueous solutions in a liquid scintillation counter. *Anal. Biochem.*, 1960, **1**, 279.
- BRIGHT, R. — *Reports of medical cases selected with a view of illustrating the symptoms and cures of diseases by references to morbid anatomy*. Longman, Rus, Orme, Brown and Greene, London, 1827.
- BROWN, H. Z., PHILIPS, I. et KAGAN, B. M. — The role of the reticuloendothelial system in vitamin A and cholesterol metabolism. *Metabolism*, 1952, **1**, 349.
- BROWN, R. K., BOYLE, E. et ANFINSEN, C. B. — The enzymatic transformation of lipoproteins. *J. Biol. Chem.*, 1953, **204**, 423.
- BUBLITZ, C. et KENNEDY, E. P. — Synthesis of phosphatides in isolated mitochondria. III. The enzymatic phosphorylation of glycerol. *J. Biol. Chem.*, 1954, **211**, 951.
- BÜHRING, H. — The influence of individual fatty acids in various concentrations on the oxidation and incorporation of uniformly labelled glucose into muscular tissue in vitro. *Biochem. J.*, 1963, **89**, 32 P.
- BURNS, J. J., DAYTON, P. G. et EISENBERG, F. Jr. — Metabolism of L-gulonolactone in rats via pentose formation. *Biochem. biophys. acta*, 1957, **25**, 647.
- BURNS, J. J., EVANS, C. et TROUSOF, N. — Stimulatory effect of barbital on urinary excretion of L-ascorbic acid and non conjugated D-glucuronic acid. *J. Biol. Chem.*, 1957, **227**, 785.
- BURNS, J. J. et KANFER, J. — Formation of L-xylulose from L-gulonolactone in rat kidney. *J. Amer. Chem. Soc.*, 1957, **79**, 3604.
- BURNS, J. J., MOSBACH, E. H. et SCHULENBERG, S. — Ascorbic acid synthesis in normal and drug-treated rats, studied with L-ascorbic-1-C¹⁴ acid. *J. Biol. Chem.*, 1954, **207**, 679.
- BURSTEIN, M. — Sur l'isolement d'une fraction des lipoprotéines sériques après précipitation par l'héparine ou par des héparinoïdes de synthèse. *C. R. Acad. Sci.*, 1956, **243**, 527.
- BURSTEIN, M. et SAMAILLE, J. — Sur une nouvelle méthode de dosage du cholestérol lié aux alpha- et aux beta-lipoprotéines du sérum. *Clin. chem. acta*, 1958, **3**, 320.
- BURSTEIN, M. — Dosage du cholestérol dans les alpha- et les beta-lipoprotéines du sérum par une méthode basée sur la précipitation sélective des beta-lipoprotéines. *Path. Biol.*, 1960, **8**, 1247.
- BURSTEIN, M. — Précipitation sélective des lipoprotéines sériques de faible densité par l'héparine en présence du chlorure de magnésium et de saccharose. *C. R. Acad. Sci.*, 1962, **255**, 605.
- BURSTEIN, M. et BERLINSKI, M. — Dosage turbidimétrique des beta-lipoprotéines du sérum après floculation par le polyvinyl-pyrrolidone. *Rev. franç. Et. Clin. Biol.*, 1960, **5**, 193.
- BURSTEIN, M. et FINE, J. M. — Isolement d'une fraction des alpha-1-lipoprotéines sériques après précipitation par le sulfate de dextrane en présence de cations bivalents et de saccharose. *Rev. franç. Et. Clin. Biol.*, 1964, **9**, 105.

- BURSTEIN, M. et FINE, J. M. — Sur la mobilité des lipoprotéines du sérum humain en gel d'agarose. *Rev. franç. Et. Clin. Biol.*, 1964, **9**, 420.
- BURSTON, J., DARMADY, E. M. et STRANACK, F. — Nephrosis due to mercurial diuretics. *Brit. med. J.*, 1958, **1**, 1277.
- BYERS, S. O. et FRIEDMAN, M. — Production and excretion of cholesterol in mammals. VII. Biliary cholesterol: increment and indicator of hepatic synthesis of cholesterol. *Amer. J. Physiol.*, 1952, **168**, 297.
- BYERS, S. O., FRIEDMAN, M. et ROSENMAN, R. H. — Hepatic synthesis of cholesterol in nephrotic rats. *Amer. J. Physiol.*, 1954, **178**, 327.
- BYERS, S. O., ROSENMAN, R. H. et FRIEDMAN, M. — Intestinal excretion of cholesterol and total lipids by the nephrotic rat. *Amer. J. Physiol.*, 1955, **182**, 73.
- CALVIN, J. K. et GOLDBERG, A. H. — Cholesterol and edema. Thin relationship in a group of children presenting the nephrotic syndrome. *Amer. J. Physiol.*, 1931, **41**, 1066.
- CARGILL, W. H. et BRUNER, H. D. — Metabolism of C^{14} labeled dextran in the mouse. *J. Pharmacol.*, 1951, **103**, 339.
- CARLSON, L. A. — Chromatographic separation of serum lipoproteins on glass powder columns. Description of the method and some applications. *Clin. chim. acta*, 1960, **5**, 528.
- CARLSON, L. A. et WADSTRÖM, L. B. — Studies on the glycerides during the clearing reaction. *Clin. chim. acta*, 1957, **2**, 9.
- CARLSON, L. A. et WADSTRÖM, L. B. — Determination of glycerides in blood serum. *Clin. chim. acta*, 1959, **4**, 197.
- CAVERT, H. M. et JOHNSON, J. A. — Metabolism of carboxyl-labeled short chain fatty acids by the isolated dog heart. *Amer. J. Physiol.*, 1956, **184**, 582.
- CHANUTIN, A. et LUDEWIG, S. — The effect of cholesterol ingestion on tissue lipids of rats. *J. Biol. Chem.*, 1933, **102**, 57.
- CHARGAFF, E. — Lipoproteins, vol. I, pp. 1-24. In: *Advances in protein chemistry*, ed. by Anson and Edsall. Academic Press Inc. New York, 1944.
- CHARMAN, R. C. et LANDOWNE, R. A. — Separation of human plasma lipoprotein by electrophoresis on cellulose acetate. *Anal. Biochem.*, 1967, **19**, 177.
- CHAUFFARD, A., LAROCHE, G. et GRIGAUT, — Le taux de la cholestérolémie au cours des cardiopathies chroniques et des néphrites chroniques. *C. R. Soc. Biol.*, 1911, **71**, 108.
- CHRISTISON, R. — *On granular degeneration of the kidneys*. Waldie, Edinburgh or Philadelphia, 1839.
- CHRISTOPHE, J. et WODON, C. — Composition en acides aminés du tissu adipeux épидidymaire du rat normal. *Arch. Int. Physiol.*, 1963, **71**, 720.
- CLAUSEN, S. W. — Parenchymatous nephritis. III. The surface tension of the blood serum. *Amer. J. Dis. Child.*, 1925, **29**, 594.

- CLEVE, H. et HARTMANN, F. — Zur Entstehung von Nephronose durch Plasma-perese am Hund. *Arch. exp. pathol. Pharmacol.*, 1954, **223**, 198.
- COHN, E. J. — *Interactions of proteins with each other and with heavy metals*. In : *Blood cells and plasma proteins*. Acad. Press, New York, 1953.
- COHN, E. J., GURD, F. R. N., SURGENOR, D. M., BARNES, B. A., BROWN, R. K., DEROUAUX, G., GILLESPIE, J. M., KAHNT, F. W., LEVER, W. F., LIN, C. H., MITTELMAN, D., MOUTON, R. F., SCHMID, K. et UROMA, E. — A system for the separation of the components of human blood : quantitative procedures for the separation of the protein components of human plasma. *J. Amer. Chem. Soc.*, 1950, **72**, 465.
- CORN, E. J., STRONG, L. E., HUGHES, W. L., MULFORD, D. J., ASWORTH, J. N., MELIN, M. et TAYLOR, H. L. — Preparation and properties of serum and plasma proteins. IV. A system for the separation into fractions of the protein and lipoprotein components of biological tissues and fluids. *J. Amer. Chem. Soc.*, 1946, **68**, 459.
- COLOWICK, S. P. et KAPLAN, N. O. — *Methods in enzymology.*, vol. II. Acad. Press Publ. New York, 1955, p. 559.
- CONARD, V., FRANCKSON, J. R. M., OOMS, H. A., MALAISSE, W. et RASIO, E. — Comparaison des espaces de diffusion mesurés par le glucose ordinaire et par le radioglucose (1-C^{14}) in : *Radioaktive Isotope in Klinik und Forschung*, Band VI, 325-336, Verlag von Urban und Schwarzenberg, München und Berlin, 1965.
- CONNEY, A. H., GASTEL, R. et BURNS, J. J. — Adaptative responses to foreign compounds in rats. *Fed. Proc.*, 1959, **18**, 378.
- CORNWELL, D. G. et KRUGER, F. A. — Molecular complexes in the isolation and characterization of plasma lipoproteins. *J. Lipid Res.*, 1961, **2**, 110.
- COXON, R. V. et ROBINSON, R. J. — The transport of radioactive carbon dioxide in the blood stream of the dog after administration of radioactive bicarbonate. *J. Physiol. (London)*, 1959, **147**, 469.
- CRAMER, H. — *Mathematical methods of statistics*. Princeton University Press, 1963, ch. 15, p. 166.
- CRAMER, K. — Serum beta-lipoprotein lipids and protein in normal subjects of different sex and age. *Acta med. scand.*, 1962, **171**, 413.
- DANIELS, W. B. — Plasma-lipoids in renal disease. *Brit. J. Exp. Path.*, 1925, **6**, 283.
- DAY, A. J. et WILKINSON, G. N. — Clearing factor inhibitor in human atherosclerosis. *Circulation*, 1958, **18**, 76.
- DEAN, R. F. A. et SCHWARTZ, R. — The serum chemistry in uncomplicated kwashiorkor. *Brit. J. Nutr.*, 1953, **7**, 131.
- DE LALLA, O. F. et GOFMAN, J. W. — *Ultracentrifugal analysis of serum lipoproteins*. In : *Methods of Biochemical analysis.*, ed. by D. Glick, New York Interscience, 1954.
- DENIS, W. — Cholesterol in human blood under pathological conditions. *J. Biol. Chem.*, 1917, **29**, 93.

- DICKENS, F. — Mechanism of carbohydrate oxidation. *Nature*, 1936, **138**, 1057.
- DI LUZIO, N.R. et HOUCK, R.C. — The role of the kidney in the etiology of renal hyperlipemia. *J. Clin. Invest.*, 1956, **35**, 1381.
- DIMOND, E.G., MARQUES SANTOS, E., MUNDY, W. et CALDERWOOD, B. — An attempt to establish the presence of a hypocholesterolemic factor in the renal blood of dogs. *J. Lab. Clin. Med.*, 1953, **42**, 800.
- DOLE, V.P. — Relation between non-esterified fatty acids in plasma and the metabolism of glucose. *J. Clin. Invest.*, 1956, **35**, 150.
- DONALDSON, H.H. — *The rat*. 2nd ed., rev. Philadelphia Wister Institute of Anatomy and Biology, Memoirs, n° 6, 1924.
- DRABKIN, D.L. et MARSH, J.B. — Metabolic channeling in experimental nephrosis. I. Protein and carbohydrate metabolism. *J. Biol. Chem.*, 1955, **212**, 623.
- DRABKIN, D.L., MARSH, J.B. et BRAUN, G.A. — Amino acid mobilization in plasma protein biosynthesis in experimental nephrosis. *Metabolism*, 1962, **11**, 967.
- DUBACH, U.C., RECAN, L., HATCH, E. et KOCH, M. — Sequence of development of hypercholesterolemia and hypoproteinemia in aminonucleoside nephrosis. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1960, **105**, 592.
- DUBACH, U.C., RECAN, L., HATCH, E. et KOCH, M.B. — Negative feedback mechanism of cholesterol synthesis in experimental nephrosis. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1961, **106**, 136.
- DURRUM, E.L., PAUL, M.H. et SMITH, E.R.B. — Lipid detection in paper electrophoresis. *Science*, 1952, **116**, 428.
- EATON, P. et STEINBERG, D. — Communication personnelle, 1960.
- EDER, H.A. et RUSS, E.M. — Composition and distribution of plasma lipoproteins in normal and pathological states. *J. Clin. Invest.*, 1952, **31**, 626.
- EICHELBERGER, L. et MCCLUSKY, K.L. Chemical studies in tuberculosis. I. Plasma proteins, cholesterol acid corpuscule volume. *Arch. Intern. Med.*, 1927, **40**, 831.
- EISENBERG, F.E. Jr., DAYTON, P.G. et BURNS, J.J. — Studies on the glucuronic acid pathway of glucose metabolism. *J. biol. Chem.*, 1959, **234**, 250.
- ENGELBERG, H. — Absence of lipemia clearing factor lipase in human adipose tissue. *J. Lipid Res.*, 1961, **2**, 169.
- ENGELBERG, H. — Studies of the presence of lipoprotein lipase in liver. *Circulation*, **34**, suppl. III-10, 1966.
- ENKLEWITZ, M. et LASKER, M. — The origin of L-xyloketose (urine pentose). *J. Biol. Chem.*, 1935, **110**, 443.
- ENSELME, J. et DREYFUS, J.C. — Sémiologie électrophorétique des protéines du plasma sanguin et l'hémoglobine. Camugli éd., Lyon, 1955.
- EPSTEIN, A.A. — The nature and treatment of chronic parenchymatous nephritis (nephrosis). *J. A. M. A.*, 1917, **69**, 444.

- EPSTEIN, A. A. — Thyroid therapy and tolerance in chronic nephrosis. *J. A. M. A.*, 1926, **87**, 913.
- EPSTEIN, A. A. et LANDE, H. — Studies on blood lipoids. I. The relation of cholesterol and protein deficiency to basal metabolism. *Arch. Intern. Med.*, 1922, **30**, 563.
- EPSTEIN, A. A. et ROTHCHILD, M. A. — The lipoids of the blood in renal conditions, with special reference to the cholesterol content. *J. Biol. Chem.*, 1917, **29**, IV.
- EVANS, J. R., OPIE, L. H. et SHIPP, J. C. — Metabolism of palmitic acid in perfused rat heart. *Amer. J. Physiol.*, 1963, **205**, 766.
- FAIN, J. N., REED, N. et SAPERSTEIN, R. — The isolation and metabolism of brown fat cells. *J. Biol. Chem.*, 1967, **242**, 1887.
- FARBER, E., SIMPSON, M. V. et TARVER, H. — Studies on ethionine. II. The interference with lipid metabolism. *J. Biol. Chem.*, 1950, **182**, 91.
- FARNSWORTH, E. B. et RUPPENTHAL, N. C. — Electrophoretic studies on serum and urine proteins in nephrosis treated by ACTH. *J. Lab. Clin. Med.*, 1951, **38**, 407.
- FARQUHAR, H. G. — Mercurial poisoning in early childhood. *Lancet*, 1953, **2**, 1186.
- FARR, L. E., SMADEL, J. E. et HOLDEN, R. F. — Observations on occurrence of lipemia in rats with nephrotoxic nephritis. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1942, **51**, 178.
- FASOLI, A. — Studi sul frazionamento del plasma. IV. Il contenuto in carbonio lipidico, colesterole e fosfore lipideo delle frazioni proteiche separate con metanolo a freddo. *Arch. Sci. Biol.*, 1952, **36**, 484.
- FASOLI, A. — Electrophoresis of serum lipoproteins on filter-paper. *Acta med. scand.*, 1953, **145**, 233.
- FEIGL, J. — Über das Vorkommen und die Verteilung von Fetten und Lipoiden im Blute nach Blutenziehung. *Biochem. Z.*, 1921, **115**, 63.
- FEINBERG, H., RUBIN, L., HILL, R., ENTENMAN, C. et CHAIKOFF, I. L. — Reduction of serum lipides and lipoproteins by ethionine feeding in the dog. *Science*, 1954, **120**, 317.
- FELLER, D. D., STRISOWER, E. H. et CHAIKOFF, I. L. — Turnover and oxidation of body glucose in normal and alloxan-diabetic rats. *J. Biol. Chem.*, 1950, **187**, 571.
- FELTS, J. M. et MAYES, P. A. — Lack of uptake and oxidation of chylomicron triglyceride to carbon dioxide and ketone bodies by the perfused rat liver. *Nature*, 1965, **206**, 195.
- FISHBERG, E. H. — The relations of the serum proteins and lipids to the osmotic pressure. *J. Biol. Chem.*, 1929, **81**, 205.
- FISHBERG, E. H. et FISHBERG, A. M. — The mechanism of the lipemia of bleeding. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1928, **25**, 296.
- FOLCH, J., LEES, M. et SLOANE STANLEY, G. H. — A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *J. Biol. Chem.*, 1957, **226**, 497.

- FRANTZ, I. D. Jr., SCHNEIDER, H. S. et HINKELMAN, B. T. — Suppression of hepatic cholesterol synthesis in the rat by cholesterol feeding. *J. Biol. Chem.*, 1954, **206**, 465.
- FREDRICKSON, D. S. et GORDON, R. S. Jr. — The metabolism of albumin-bound C^{14} -labeled unesterified fatty acids in normal human subjects. *J. Clin. Invest.*, 1958, **37**, 1504.
- FREDRICKSON, D. S. et GORDON, R. S. Jr. — Transport of fatty acids. *Physiol. Rev.*, 1958, **38**, 585.
- FRENCH, J. E. et MORRIS, B. — The removal of ^{14}C -labeled chylomicron fat from the circulation in rats. *J. Physiol. (London)*, 1957, **138**, 326.
- FRENCH, J. E. et MORRIS, B. — The tissue distribution and oxidation of carbon-14-labeled chylomicron fat injected intravenously in rats. *J. Physiol. (London)*, 1958, **140**, 262.
- FRENCH, J. E., ROBINSON, D. S. et FLOREY, H. W. — The effect of the intravenous injection of heparin on the interaction of chyle and plasma in the rat. *Quart. J. Exp. Physiol.*, 1953, **38**, 101.
- FRIED, G. H., GREENBERG, M. et ANTROPOL, W. — Determination of alpha-glycero, phosphate oxidation with tetrazolium. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1961, **107**-523.
- FRIEDMAN, M. et BYERS, S. O. — Role of hyperlipemia in the genesis of hypercholesterolemia. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1955, **90**, 496.
- FRIEDMAN, M. et BYERS, S. O. — Role of hyperphospholipidemia and neutral fat increase in plasma in the pathogenesis of hypercholesterolemia. *Amer. J. Physiol.*, 1956, **186**, 13.
- FRIEDMAN, M., BYERS, S. O. et ROSENMAN, R. H. — The accumulation of serum cholate and its relationship to hypercholesterolemia. *Science*, 1952, **115**, 313.
- FRIEDMAN, M., BYERS, S. O. et ROSENMAN, R. H. — Observations concerning the production and excretion of cholesterol in mammals. XII. Demonstration of the essential role of the hepatic reticuloendothelial cell (Kupffer cell) in the normal disposition of exogenously derived cholesterol. *Amer. J. Physiol.*, 1954, **177**, 77.
- FRIEDMAN, M., ROSENMAN, R. H. et BYERS, S. O. — The role of exogenous lipids in the hyperlipemia and hypercholesterolemia of nephrotic rats. *J. Clin. Invest.*, 1954, **33**, 1103.
- FRITZ, I. B. — Factors influencing the rates of long-chain fatty acid oxidation and synthesis in mammalian systems. *Physiol. Rev.*, 1961, **41**, 52.
- FRITZ, I. B., DAVIS, D. G., HOLTRUP, H. H. et DUNDEE, H. — Fatty acid oxidation by skeletal muscle during rest and activity. *Amer. J. Physiol.*, 1958, **194**, 379.
- FRITZ, I. B. et KAPLAN, E. — Effects of glucose on palmitate esterification by isolated rat diaphragm. *Amer. J. Physiol.*, 1961, **200**, 1047.
- GAINSBOROUGH, H. — A study of so-called lipid nephrosis. *Quart. J. Med.*, 1929, **23**, 101.

- GAITONDE, M. K., MARCHI, S. A. et RICHTER, D. — The utilization of glucose in the brain and other organs of the cat. *Proc. Roy. Soc. (Biol.)*, 1964, **160**, 124.
- GALEONE, A. et PELOCCHINO, A. M. — Sull'attività lipasica del rene in vario nefropatie, sperimentali e dell'uomo. *Minerva nefrol.*, 1954, **1**, 106.
- GALTON, D. J. et BRAY, G. A. — Metabolism of alpha-glycérophosphate in human adipose tissue in obesity. *J. Clin. Endocr.*, 1967, **27**, 1573.
- GEYER, R. P., BOWIE, E. J. et BATES, J. C. — Effects of fasting and pyruvate on palmitic acid metabolism. *J. Biol. Chem.*, 1953, **200**, 271.
- GILLMAN, J., GILBERT, C. et SAVAGE, N. — Endocrine control of the fatty liver and serum lipids in baboons with special reference to the disorder of lipid metabolism in kwashiorkor. *Metabolism*, 1962, **11**, 800.
- GITLIN, D., CORNWELL, D. C., NAKASATO, D., ONCLEY, J. L., HUGHES, W. L. Jr. et JANEWAY, C. A. — Studies on the metabolism of plasma proteins in the nephrotic syndrome. II. The lipoproteins. *J. Clin. Invest.*, 1958, **37**, 172.
- GITLIN, D. et GROSS, P. A. M. — The mechanism of hyperlipemia in the nephrotic syndrome. *Trans. Soc. Pediat. Res.*, mai 1957.
- GLAZKO, A. J., STRONG, J. et KAZENKO, A. — Some factors influencing the lipemia-clearing activity of rat plasma. *Fed. Proc.*, 1954, **13**, 55.
- GOFMAN, J. W., LINDGREU, F. T., JONES, H. B., LYON, T. P. et STRISOWER, B. — Lipoproteins and atherosclerosis. *J. Geront.*, 1951, **6**, 105.
- GOFMAN, J. W., RUBIN, L., MCGINLEY, J. P. et JONES, H. B. — Hyperlipoproteine-mia. *Amer. J. Physiol.*, 1954, **17**, 514.
- GOLD, M. et SPITZER, J. J. — Metabolism of free fatty acids by myocardium and kidney. *Amer. J. Physiol.*, 1964, **206**, 153.
- GOODMAN, D. S. — Squalene in human and rat blood plasma. *J. Clin. Invest.*, 1964, **43**, 1480.
- GOODMAN, D. S. — The interaction of human serum albumin with long-chain fatty anions. *J. Amer. Chem. Soc.*, 1958, **80**, 3892.
- GOODMAN, D. S. et SHAFRIR, E. — The interaction of human low density lipoproteins with long-chain fatty acid anions. *J. Amer. Chem. Soc.*, 1959, **81**, 364.
- GOODMAN, H. M. — Effects of hypophysectomy on lipolytic response of adipose tissue to pituitary hormones. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1966, **121**, 5.
- GOODMAN, H. M. et KNOBIL, E. — Hypophysectomy and the lipolytic action of epinephrine in vitro. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1964, **115**, 849.
- GOODRICH, I. et HARMS, W. S. — Synthesis of endogenous cholesterol in experimental nephrosis. *Metabolism*, 1964, **13**, 141.
- GÖRANSSON, G. et OLIVECRONA, T. — The metabolism of fatty acids in the rat. I. Palmitic acid. *Acta physiol. scand.*, 1964, **62**, 224.
- GORDON, R. S. Jr. — Unesterified fatty acid in human blood. plasma II. The transport function of unesterified fatty acid. *J. Clin. Invest.*, 1957, **36**, 810.

- GORDON, R. S. Jr., BARTTER, F. C. et WALDMANN, T. — Idiopathic hypoalbuminemia: clinical staff conference at the National Institutes of Health. *Ann. Intern. Med.*, 1959, **51**, 553.
- GORDON, R. S. Jr., BOYLE, E., BROWN, R. K., CHERKES, A. et ANFINSEN, C. B. — Role of serum albumin in lipemia clearing reaction. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1953, **84**, 168.
- GORDON, R. S. Jr. et CHERKES, A. — Unesterified fatty acid in human blood plasma. *J. Clin. Invest.*, 1956, **35**, 206.
- GORNALL, A. G., BARDAWILL, Ch. J. et DAVID, M. M. — Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. *J. Biol. Chem.*, 1949, **177**, 751.
- GOULD, R. G., CAMPBELL, D. J., TAYLOR, C. B., KELLY, F. B., WARNER, I. et DAVIS, C. B. Jr. — Origin of plasma cholesterol using Carbon-14. *Fed. Proc.*, 1951, **10**, 191.
- GOULD, R. G. et TAYLOR, C. B. — Effect of dietary cholesterol on hepatic cholesterol synthesis. *Fed. Proc.*, 1950, **9**, 179.
- GRAHAM, D. M., LYON, T. P., GOFMAN, J. W., JONES, H. B., YANKLEY, A., SIMON-TON, J. et WHITE, S. — Blood lipids and human atherosclerosis. II. The influence of heparin upon lipoprotein metabolism. *Circulation*, 1951, **4**, 666.
- GRASSMANN, W. et HANNIG, K. — Ein quantitatives Verfahren zur Analyse der Serumproteine durch Papierelektrophorese. *Hoppe Seyler Z. Physiol. Chem.*, 1952, **290**, 1.
- GREEN, C. et WEBB, J. A. — The uptake of chylomicron fatty acids by isolated liver cells. *Biochim. biophys. acta*, 1964, **84**, 404.
- GREEN, D. E. — XC. alpha-glycerophosphate dehydrogenase. *Biochem. J.*, 1936, **30**, 629.
- GROSSMAN, M. I., STADLER, J., CUSHING, A., et PALM L. — Relation of lipolysis to deturbidification and returbidification in heparin-induced lipemia-clearing phenomenon. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1955, **88**, 132.
- GRUNNET, N. et LUNDQUIST, F. — Kinetics of glycerol kinases from mammalian liver and *Candida mycoderma*. *Europ. J. Biochem.*, 1967, **3**, 78.
- GUTMAN, A. et SHAFRIR, E. — Adipose tissue in experimental nephrotic syndrome. *Amer. J. Physiol.*, 1963, **205**, 702.
- HAGENFELDT, L. et WAHREN, J. — Human forearm muscle metabolism during exercise. II. Uptake, release and oxidation of individual FFA and glycerol. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 1968, **21**, 263.
- HAHN, A. et WOLFF, E. — Über das Verhalten des Cholesterins im Blute von Nierenkranken. *Z. Klin. Med.*, 1921, **92**, 393.
- HAHN, P. F. — Abolishment of alimentary lipemia following injection of heparin. *Science*, 1943, **98**, 19.
- HALL, J. C. — The effect of insulin on intact muscle from normal and alloxan-diabetic rats. *J. Biol. Chem.*, 1960, **235**, 6.

- HALMI, N. S. et SPIRTOS, B. N. — Some effects of prolonged undernutrition on carbohydrate metabolism in rats. *Amer. J. Physiol.*, 1956, **187**, 432.
- HAMILTON, V. F., MOORE, J. W., KINSMAN, J. M. et SPURLING, R. G. — Studies on the circulation : IV. Further analysis of the injection method, and of changes in hemodynamics under physiological and pathological conditions. *Amer. J. Physiol.*, 1932, **99**, 534.
- HAMOSH, M. et SILAPIRO, B. — Lipid release by liver slices. *Amer. J. Physiol.*, 1961, **201**, 1030.
- HANAHAN, D. J. et OLLEY, J. N. — Chemical nature of monophosphoinositides. *J. Biol. Chem.*, 1958, **231**, 813.
- HANSEN, R. G. et RUTTER, W. J. — Fatty acid metabolism of rat diaphragm. *J. Biol. Chem.*, 1952, **195**, 121.
- HANSEN, R. G., RUTTER, W. J. et CRAINE, E. M. — A nephelometric method for the determination of glycogen. *J. Biol. Chem.*, 1952, **195**, 127.
- HARDWICKE, J. — Serum and urinary protein changes in the nephrotic syndrome. *Proc. Roy. Soc. (Med.)*, 1954, **47**, 832.
- HARLAN, J. W. — Liquid scintillation counting of $C^{14}O_2$ in aqueous carbonate solutions. *Atomlight*, 1961, **19**, 8.
- HASSON, J., BERKMAN, J. I., PARKER, J. G. et RIFKIN, H. — A clinicopathologic study of chronic renal vein thrombosis in adults. *Ann. Intern. Med.*, 1957, **47**, 493.
- HAVEL, R. J. et BRAGDON, J. H. — Heparin-like activity of polymetaphosphate. *Circulation*, 1954, **10**, 591.
- HAVEL, R. J., EDER, H. A. et BRAGDON, J. H. — The distribution and chemical composition of ultracentrifugally separated lipoproteins in human serum. *J. Clin. Invest.*, 1955, **34**, 1345.
- HAVEL, R. J., FELTS, J. M. et VAN DUYN, M. — Formation and fate of endogenous triglycerides in blood plasma of rabbits. *J. Lipid Res.*, 1962, **3** : 297.
- HAWK, P. B., OSER, B. L. et SUMMERSON, W. H. — *Practical physiological chemistry*. Philadelphia. The Blakiston Co, Toronto, 12th edit., 1949, p. 524.
- HAYASHI, S., KOCH, J. P. et LIN, E. C. C. — Active transport of L-glycerophosphate in *Escherichia Coli*. *J. Biol. Chem.*, 1964, **239**, 3098.
- HENES, E. Jr. — The pronostic value of cholesterinemia in chronic nephritis. *Arch. Intern. Med.*, 1920, **25**, 411.
- HERZSTEIN, J., CHUN-I. WANG et ADLESBERG, D. — Effect of heparin on plasma lipid partition in man : studies in normal persons and in patients with coronary atherosclerosis, nephrosis, and primary hyperlipemia. *Ann. Intern. Med.*, 1954, **40**, 290.
- HEYMANN, W. — Renal hyperlipemia in dogs. *Science*, 1942, **96**, 163.
- HEYMANN, W. — Trimethadione nephrosis. *Pediatrics*, 1958, **22**, 614.

- HEYMANN, W. et CLARK, E.C. — Pathogenesis of nephrotic hyperlipemia. *Amer. J. Dis. Child.*, 1945, **70**, 74.
- HEYMANN, W. et HACKEL, D.B. — The early development of anatomic and blood chemistry changes in the nephrotic syndrome in rats. *J. Lab. Clin. Med.*, 1952, **39**, 429.
- HEYMANN, W. et HACKEL, D.B. — Role of kidney in pathogenesis of experimental nephrotic hyperlipemia in rats. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1955, **89**, 329.
- HEYMANN, W. et HACKEL, D.B. — Role of liver in pathogenesis of experimental nephrotic hyperlipemia. *Metabolism*, 1955, **4**, 258.
- HEYMANN, W. et HACKEL, D.B. — Effect of ethionine on blood and depot lipids in experimental nephrotic hyperlipemia. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1956, **92**, 41.
- HEYMANN, W. & HACKEL D.B. — Hepatic and extrahepatic depot lipids in rats with experimental nephrotic hyperlipemia. *Metabolism*, 1957, **6** : 169.
- HEYMANN, W., HACKEL, D.B., GILKEY, C. et SALEHAR, M. — Relation of pituitary and adrenal glands to the nephrotic syndrome in rats. *Lab. Invest.*, 1953, **2**, 423.
- HEYMANN, W., HACKEL, D.B. et HUNTER, J.L.P. — Trimethadione (tridione) nephrosis in rats. *Pediatrics*, 1960, **25**, 112.
- HEYMANN, W. et LUND, H.Z. — Nephrotic syndrome in rats. *Pediatrics*, 1951, **7**, 691.
- HEYMANN, W., MATTHEWS, L.W., LEMM, J., OLYNYK, P., SALEHAR, M. et GILKEY, C. — Fat metabolism in nephrotic hyperlipemia. *Metabolism*, 1954, **3**, 27.
- HEYMANN, W., NASH, G., GILKEY, C. et LEWIS, M. — Studies on the causal role of hypoalbuminemia in experimental nephrotic hyperlipemia. *J. Clin. Invest.*, 1958, **37**, 808.
- HEYMANN, W. et SEKERAK, B. — "Renal hyperlipemia" in dogs and rats. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1945, **60**, 276.
- HEYMANN, W. et STARTZMAN, V. — Lipemic nephrosis. *J. Pediatr.*, 1946, **28**, 11.
- HEYMANN, W. et WILSON, S.G.F. — Hyperlipemia in early stages of acute glomerular nephritis. *J. Clin. Invest.*, 1959, **38**, 186.
- HIATT, H.H. — Ribose metabolism, IV. The metabolism of D-glucuronolactone in normal and pentosuric human subjects. *Biochim. biophys. acta*, 1958, **28**, 645.
- HILLER, A., LINDER, G.C., LUNDSGAARD, C. et VAN SLYKE, D.D. — Fat metabolism in nephritis. *J. Exp. Med.*, 1924, **39**, 931.
- HJERTEN, S. — Calcium phosphate chromatography of normal human serum and of electrophoretically isolated serum proteins. *Biochim. biophys. acta*, 1959, **31**, 216.
- HOAK, J.C., CONNOR, W.E. et STONE, D.B. — Effect of hypophysectomy on serum lipids in aminonucleoside nephrosis. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1966, **122**, 588.

- HOESCH, K. — Blutphosphatide und Amine bei Nierenerkrankungen und ihre Beziehungen zum Hochdruck. *Klin. Wschr.*, 1931, **10**, 881.
- HOFFMAN, W.S. — A rapid photoelectric method for the determination of glucose in blood and urine. *J. Biol. Chem.*, 1937, **120**, 51.
- HOLLENBERG, C.H. — The effect of fasting on the lipoprotein lipase activity of rat heart and diaphragm. *J. Clin. Invest.*, 1960, **39**, 1282.
- HOLZER, H. et HOLLDORF, A. — Concentration, characterization, and biological significance of D-glycerate kinase in rat liver. *Biochem. Z.*, 1957, **329**, 283.
- HOOD, B. et BJÖRNTORP, P. — Studies on adipose tissue from obese patients with or without diabetes mellitus. 3. Transformation of U-C¹⁴-acetate and 1-C¹⁴-glycerol into carbon dioxide and lipid. *Acta med. scand.*, 1966, **179**, 349.
- HORECKER, B.L. et HIATT, H.H. — Pathways of carbohydrate metabolism in normal and neoplastic cells (concluded). *New Engl. J. Med.*, 1958, **258**, 225.
- HORECKER, B.L. et MEHLER, A.H. — Carbohydrate metabolism. *Ann. Rev. Biochem.*, 1955, **24**, 207.
- HORIUCHI, Y. — Studies on blood fat. II. Lipemia in acute anemia. *J. Biol. Chem.*, 1920, **44**, 363.
- HOUCK, J.C., MORRIS, R.K. et LAZARO, E.J. — Anticoagulant, lipemia clearing and other effects of anionic polysaccharides extracted from sea weed. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1957, **96**, 528.
- HOUSSET, E., ETIENNE, J., LOEPER, J. et COTTET, J. — Action du dextran sur l'activité lipoprotéine lipase du plasma humain. *Path. Biol.*, 1968, **16**, 653.
- HULTMAN, E. — Studies on muscle metabolism of glycogen and active phosphate in man with special reference to exercise and diet. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 1967, **19** (suppl. 94), 1.
- JEAVONS, S.M. et RICKETTS, C.R. — The effect of dextran sulphate injections on serum lipoproteins. *J. Clin. Path.*, 1956, **9**, 255.
- JENCKS, W.P., HYATT, M.R., JETTON, M.R., MATTINGLY, T.W. et DURRUM, E.L. — A study of serum lipoproteins in normal and atherosclerotic patients by paper electrophoretic techniques. *J. Clin. Invest.*, 1956, **35**, 980.
- JENSEN, H. — Plasma protein and lipid pattern in the nephrotic syndrome. *Acta med. scand.*, 1967, **182**, 465.
- JIMENEZ-DIAZ, C. — Nature et signification de la dite néphrose lipéidique. *Schweiz. med. Wschr.*, 1950, **80**, 965.
- JIMENEZ-DIAZ, C. — Bases nouvelles pour la pathologie rénale. *Annales de médecine* 1950, **51**, 5.
- JIMENEZ-DIAZ, C. et CASTROMENDOZA, H. — The role of the kidney in fat metabolism. *Bull. Inst. Med. Res. Univ. Madrid*, 1948, **1**, 1.
- JIMENEZ-DIAZ, C. et CASTROMENDOZA, H. — Various types of renal extracts in the prevention of postnephrectomy biochemical effects. *Bull. Inst. Med. Res. Univ. Madrid*, 1952, **5**, 83.

- JOHNSON, G. C., BAUER, F. C., HIRSCH, E. F. et CARBONARO, L. — Lipemia of rabbits following unilateral occlusion of the renal vessels. *Arch. Path.*, 1951, **52**, 115.
- JONES, N. L. et HAVEL, R. J. — Metabolism of free fatty acids and chylomicron triglycerides during exercise in rats. *Amer. J. Physiol.*, 1967, **213**, 824.
- KAITZ, A. L. — Albumin metabolism in nephrotic adults. *J. Lab. Clin. Med.*, 1959, **53**, 186.
- KALANT, N., CLAMEN, M. et HOFFMAN, M. M. — Carbohydrate metabolism in experimental nephrosis. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1957, **95**, 693.
- KATZ, J. et WOOD, H. G. — The use of glucose-C¹⁴ for the evaluation of the pathways of glucose metabolism. *J. Biol. Chem.*, 1960, **235**, 2165.
- KELLER, H. — Blutcholesterin, albuminurie und histologische Veränderungen bei einer chronischen Vergiftung mit Urannitrat am Kaninchen, *Helv. med. acta* 1953, **20**, 157.
- KENNEDY, E. P. — Metabolism of lipides. *Ann. Rev. Biochem.*, 1957, **26**, 119.
- KENNEDY, E. P. — *The enzymatic synthesis of phospholipids and triglycerides*. In: *Chemistry of lipides as related to atherosclerosis*. Ed. by I. H. Page, Springfield, Ill., Thomas, 1958, p. 325.
- KING, S. E. et BRUGER, M. — Plasma cholesterol in tuberculosis and amyloid disease. *Ann. Intern. Med.*, 1935, **8**, 1427.
- KIPNIS, D. M. et CORI, C. F. — Studies on tissue permeability. III. The effect of insulin on pentose uptake by the diaphragm. *J. Biol. Chem.*, 1957, **224**, 681.
- KITS VAN HEIJNINGEN, A. J. M. — The influence of insulin on free and fixed glycogen in the diaphragm of the rat. *Biochem. J.*, 1957, **65**, 111.
- KLEIN, E. et LEVER, W. F. — Inhibition of lipemia clearing activity by serum of patients with hyperlipemia. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1957, **95**, 565.
- KNAUER, H. — Ist die Nephrose eine Nierenerkrankung? *Med. Klin.*, 1927, **23**, 862.
- KORN, E. D. — Clearing factor, a heparin-activated lipoprotein lipase. I. Isolation and characterization of the enzymes from normal rat heart. *J. Biol. Chem.*, 1955, **215**, 1.
- KORN, E. D. — Clearing factor, a heparin-activated lipoprotein lipase. II. Substrate specificity and activation of coconut oil. *J. Biol. Chem.*, 1955, **215**, 15.
- KORN, E. D. et MALMENDIER, C. L. — Lipoprotein lipase in blood of nephrotic rats. *Observat. person. non publiées*, 1961.
- KORNBERG, A. et PRICER, W. E. Jr. — Enzymatic esterification of alpha-glycerophosphate by long-chain fatty acids. *J. Biol. Chem.*, 1953, **204**, 345.
- KORNBERG, H. L., DAVIES, R. E. et WOOD, D. R. — The metabolism of ¹⁴C-labelled bicarbonate in the cat. *Biochem. J.*, 1952, **51**, 351.
- KOSTYO, J. L. — In vitro effects of insulin and glucose on leucine-2-C¹⁴ incorporation into protein of diaphragm of hypophysectomized rats. *Nature*, 1959, **183**, 1518.

- KUNKEL, H.G. et SLATER, R.J. — Lipoprotein patterns of serum obtained by zone electrophoresis. *J. Clin. Invest.*, 1952, **31**, 677.
- LAGRUE, G., HALPERN, B.N., MILLIEZ, P. et BRANELLEC, A. — Rôle du rein dans le mécanisme de la perturbation lipidique des syndromes néphrotiques. *C. R. Soc. Biol. (Paris)*, 1957, **151**, 1839.
- LAGRUE, G., MILLIEZ, P., HALPERN, B.N. et BRANELLEC, A. — Etude expérimentale de la ligature partielle des veines rénales chez le lapin : reproduction du syndrome néphrotique par thrombose des veines rénales. *Path. Biol.*, 1960, **8**, 227.
- LARCAN, A., WOLFF, J. et WOLFF, R. — Recherches sur la lipoprotéine-lipase et le facteur inhibiteur dans le syndrome néphrotique. *Path. Biol.*, 1962, **10**, 417.
- LAURELL, S. — Distribution of C^{14} in rats after intravenous injection of nonesterified palmitic-acid-1- C^{14} . *Acta physiol. scand.*, 1959, **46**, 97.
- LAURELL, S. — Recycling of intravenously injected palmitic acid-1- C^{14} as esterified fatty acid in the plasma of rats and turnover rate of plasma triglycerides. *Acta physiol. scand.*, 1959, **47**, 218.
- LEES, R.S. et FREDRICKSON, D.S. — Use of paper electrophoresis in the diagnosis and study of hyperglyceridemia. *Circulation*, 1964, **30**, 20.
- LEES, R.S. et HATCH, F.T. — Sharper separation of lipoprotein species by paper electrophoresis in albumin-containing buffer. *J. Lab. Clin. Med.*, 1963, **61**, 518.
- LEITER, L. — Nephrosis. *Medicine*, 1931, **10**, 135.
- LEITNER, Z.A., MOORE, T. et SHARMAN, I.M. — Vitamin A and vitamin E in human blood. I. Levels of vitamin A and carotenoid in British men and women 1948-1957. *Brit. J. Nutr.*, 1960, **14**, 157.
- LEVER, W.F., GURD, F.R.N., UROMA, E., BROWN, R.K., BARNES, B.A., SCHMID, K. et SCHULTZ, E.L. — Chemical, clinical and immunological studies on the products of human plasma fractionation. XL. Quantitative separation and determination of the protein components in small amounts of normal human plasma. *J. Clin. Invest.*, 1951, **30**, 99.
- LEVY, R.I., FREDRICKSON, D.S. et LASTER, L. — The lipoproteins and lipid transport in abetalipoproteinemia. *J. Clin. Invest.*, 1966, **45**, 531.
- LEVY, R.I., LEES, R.S. et FREDRICKSON, D.S. — The nature of pre-beta (very low density) lipoproteins. *J. Clin. Invest.*, 1966, **45**, 63.
- LEVY, S.W. et SWANK, R.L. — Relationship of native heparin to clearing of an alimentary lipemia. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1953, **82**, 553.
- LEWIS, L.A., GREEN, A.A. et PAGE, I.H. — The alpha and beta lipoprotein pattern of normal and pathological human sera. *Fed. Proc.*, 1951, **10**, 84.
- LEWIS, L.A. et HEYMANN, W. — Ultracentrifugal analysis of serum lipoproteins in nephrotic syndrome of rats. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1954, **86**, 766.
- LEWIS, L.A., KOLFF, W.J. et PAGE, I.H. — Serum lipoprotein and cholesterol changes in nephrectomized dogs maintained by peritoneal dialysis. *Fed. Proc.*, 1956, **15**, 118.

- LEWIS, L. A. et PAGE, I. H. — Electrophoretic and ultracentrifugal analysis of serum lipoproteins of normal, nephrotic and hypertensive persons. *Circulation*, 1953, **7**, 707.
- LICHTENSTEIN, L. et EPSTEIN, E. Z. — The blood lipoids in nephrosis and chronic nephritis with edema. *Arch. Intern. Med.*, 1931, **47**, 122.
- LING, S. M. et LIU, S. H. — Studies on plasma lipoids. I. Fatty acids of blood plasma in diabetes and nephrosis. *Chin. J. Physiol.*, 1928, **2**, 157.
- LIPMANN, F. — Fermentation of phosphogluconic acid. *Nature*, 1936, **138**, 588.
- LISON, L. — *Statistique appliquée à la biologie expérimentale*. Paris, Gauthiers-Villars éd., 1958.
- LONDON, I. M., SABELLA, G. F. et YAMASAKI, M. M. — Studies on the metabolism of cholesterol in normal man and in the nephrotic syndrome. *J. Clin. Invest.*, 1951, **30**, 657.
- LONGSWORTH, L. G. et MC INNES, D. A. — An electrophoretic study of nephrotic sera and urine. *J. Exp. Med.*, 1940, **71**, 77.
- LONGSWORTH, L. G., SHEDLOVSKY, T. et MC INNES, D. A. — Electrophoretic patterns of normal and pathological human blood serum and plasma. *J. Exp. Med.*, 1939, **70**, 399.
- LOSSOW, W. J. et CHAIKOFF, I. L. — Carbohydrate sparing of fatty acid oxidation. I. The relation of fatty acid chain length to the degree of sparing. II. The mechanism by which carbohydrate spares the oxidation of palmitic acid. *Arch. biochem.*, 1955, **57**, 23.
- LUDEWIG, S. et CHANUTIN, A. — Experimental renal insufficiency produced by partial nephrectomy: blood plasma cholesterol and phospholipid phosphorus values for control and partially nephrectomized rats fed diets containing dried extracted liver. *Arch. Intern. Med.*, 1938, **61**, 854.
- LUETSCHER, J. A. Jr. — Electrophoretic analysis of plasma and urinary proteins. *J. Clin. Invest.*, 1940, **19**, 313.
- LUETSCHER, J. A. Jr. — Biological and medical applications of electrophoresis. *Physiol. Rev.*, 1942, **27**, 621.
- LUKENS, F. D. W. — Diabetes mellitus. — 1967. *Perspect. biol. med.*, 1967, **11**, 136.
- LUNDQUIST, F., TYGSTRUP, N., WINKLER, K. et JENSEN, K. B. — Glycerol metabolism in the human liver: inhibition by ethanol. *Science*, 1965, **150**, 616.
- MC BRIDE, O. W. et KORN, E. D. — Presence of glycerokinase in guinea pig mammary gland and the incorporation of glycerol into glycerides. *J. Lipid Res.*, 1964, **5**, 442.
- MC CALLA, C., GATES, H. S. et GORDON, R. S. Jr. — $C^{14}O_2$ excretion after the intravenous administration of albumin-bound palmitate- $1-C^{14}$ to intact rats. *Arch. biochem.*, 1957, **71**, 346.
- MC CORMICK, D. B. et TOUSTER, O. — The conversion in vivo of xylitol to glycogen via the pentose phosphate pathway. *J. Biol. Chem.*, 1957, **229**, 451.

- Mc DANIEL, R. A. et GROSSMAN, M. I. — Paper electrophoretic study of C^{14} fat emulsion cleared from post-heparin rat plasma. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1955, **89**, 442.
- Mc DONALD, H. J. — *A new approach to the staining of lipoproteins*. In : *Ciba symposium on paper electrophoresis*. Ed. by Wolstenholme and Millar, J. and A. Churchill Ltd, London, 1958, p. 183.
- MACHEBŒUF, M. A. — Recherches sur les phosphoaminolipides et les stérides du sérum et du plasma sanguins. I. Entrainement des phospholipides, des stérols et des stérides par les diverses fractions au cours du fractionnement des protéides du sérum. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1929, **11**, 268.
- MACHEBŒUF, M. A. — Recherches sur le rôle des lipides et des protéides sanguins dans les échanges d'eau dans l'organisme. *C. R. Acad. Sci.*, 1931, **192**, 1413.
- MACHEBŒUF, M. A. — *Etat des lipides dans la matière vivante. Les cénapses et leur importance biologique*. Herman éd., Paris, 1936.
- MACHEBŒUF, M. A. et TAYEAU, F. — Essai sur la nature des albumines du sérum des patients atteints de néphrose lipoïdique. *C. R. Soc. Biol.*, 1939, **130**, 478.
- MALMENDIER, C. L. — Tissue distribution of C^{14} after the intravenous injection of labeled free fatty acids and chylomicrons in nephrotic rats. *J. Clin. Invest.*, 1962, **41**, 185.
- MALMENDIER, C. L. — Observations personnelles non publiées, 1964.
- MALMENDIER, C. L. et NEPTUNE, E. M. Jr. — *Chylomicron distribution in experimental nephrosis*. *Proc. on the 12th ann. confer. on the nephrotic syndrome*. Natl Kidney Found., 1961, p. 127.
- MALMENDIER, C. L., STOFFELS, G. L. et VAN DEN BERGEN, C. J. — Lipid metabolism of diaphragm in normal and nephrotic rats. *Amer. J. Physiol.*, 1966, **210**, 1065.
- MAN, E. B. et GILDEA, E. F. — Serum lipoids in malnutrition. *J. Clin. Invest.*, 1936, **15**, 203.
- MAN, E. B., KARTIN, B. L., DURLACHER, S. H. et PETERS, J. P. — The lipids of serum and liver in patients with hepatic diseases. *J. Clin. Invest.*, 1936, **24**, 623.
- MANGOLD, H. K. — Thin-layer chromatography of lipids. *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, 1961, **38**, 708.
- MARGOLIS, S. et VAUGHAN, M. — Alpha-glycerophosphate synthesis and breakdown in homogenates of adipose tissue. *J. Biol. Chem.*, 1962, **237**, 44.
- MÄRKI, H. H. et WUHRMANN, F. — Proteinverlustsyndrom. Zur Pathogenese der hypoproteinämie beim nephrotischen syndrom und beim enteralen proteinverlust. *Schweiz. med. Wschr.*, 1961, **91**, 1521.
- MARSH, J. B. — Increased net synthesis of plasma low density lipoproteins by the perfused liver of nephrotic rats. *Fed. Proc.*, 1960, **19**, 230.
- MARSH, J. B. — The incorporation of amino acids into soluble lipoproteins by cell-free preparations from rat liver. *J. Biol. Chem.*, 1963, **238**, 1752.

- MARSH, J. B. et DRABKIN, D. L. — Metabolic channeling in experimental nephrosis. II. Lipide metabolism. *J. Biol. Chem.*, 1955, **212**, 633.
- MARSH, J. B. et DRABKIN, D. L. — Metabolic channeling in experimental nephrosis. IV. Net synthesis of plasma albumin by liver slices from normal and nephrotic rats. *J. Biol. Chem.*, 1958, **230**, 1073.
- MARSH, J. B. et DRABKIN, D. L. — Metabolic channeling in experimental nephrosis. V. Lipide metabolism in the early stages of the disease. *J. Biol. Chem.*, 1958, **230**, 1083.
- MARSH, J. B. et DRABKIN, D. L. — Experimental reconstruction of metabolic pattern of lipid nephrosis: the role of hepatic protein synthesis in hyperlipemia. *Metabolism*, 1960, **9**, 946.
- MARSH, J. B. et WHEREAT, A. F. — The synthesis of plasma lipoprotein by rat liver. *J. Biol. Chem.*, 1959, **234**, 3196.
- MAXWELL, J. — The blood cholesterol in nephritis. *Quart. J. Med.*, 1927-28, **21**, 297 et *Quart. J. Med.*, 1934, **3** (nouvelle série), 79.
- MAYES, P. A. et FELTS, J. M. — Comparison of oxidative metabolism in starved, fat-fed and carbohydrate-fed rats. *Biochem. J.*, 1967, **103**, 400.
- MEIER, P. et ZIERLER, K. L. — On the theory of the indicator-dilution method for measurement of blood flow and volume. *J. Appl. Physiol.*, 1954, **6**, 731.
- MICHON, P., LARCAN, A., HURIET, C. et GAUCHER, P. — *Etude critique des signes cliniques et biologiques des syndromes néphrotiques de l'adulte*. In : Rapports du 34^e congrès français de médecine. Paris, Masson et Cie éd., 1963, p. 89.
- MILLICHAP, J. G. et KIRMAN, B. H. — Nephrotoxic effects of drugs used in treatment of petit mal. *Lancet*, 1953, **1**, 1074.
- MOLLISON, A. W. et RENNIE, J. B. — Treatment of renal oedema with dextran. *Brit. Med. J.*, 1954, **1**, 893.
- MORRIS, B. et FRENCH, J. E. — The metabolism of chylomicron fat in experimental nephrosis. *Quart. J. Exp. Physiol.*, 1959, **44**, 190.
- MOSER, H. W. et EMERSON, K. Jr. — Estimation of the phospholipid phosphorus turnover time in man: studies in normal individuals, in patients with the nephrotic syndrome and in other types of hyperlipemia. *J. Clin. Invest.*, 1955, **34**, 1286.
- MUEHRCKE, R. C., KARK, R. M., PIRANI, C. L. et POLLAK, V. E. — Lupus nephritis: clinical and pathological study based on renal biopsies. *Medicine*, 1957, **36**, 1.
- MUNCK, O. et NISSEN, N. I. — Development of nephrotic syndrome during treatment with mercurial diuretics. *Acta med. scand.*, 1956, **153**, 307.
- MURPHY, F. D. — Chronic nephritis with and without edema: study of cholesterol in these conditions. *J. Clin. Invest.*, 1927, **5**, 63.
- NECHELES, T. F., SPRATT, J. L. et BEUTLER, E. — Effect of thyroid hormone on the pathways of glucose oxidation in the intact rat. *Clin. Res.*, 1960, **8**, 110.

- NEKLUDOW, W.N. — Über den Einfluss des Ausfalls der Nierenfunktion auf den Cholesterinstoffwechsel (zur Frage der experimentellen Urämie). *Z. ges. Exp. Med.*, 1925, **47**, 70.
- NELSON, A.A. et LUSKY, L.M. — Pathological changes in rabbits from repeated intravenous injections of periston (polyvinyl pyrrolidone) or dextran. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1951, **76**, 765.
- NEPTUNE, E.M. Jr. et FOREMAN, D.B. — The endogenous glycogen of rat diaphragm and its theoretical capacity to support respiration. *J. Biol. Chem.*, 1959, **234**, 1942.
- NEPTUNE, E.M. Jr., SUDDUTH, H.C. et FASH, F.J. — The validity of the use of carboxyl-labeled fatty acids in the quantitative study of terminal respiration of rat diaphragm. *J. Biol. Chem.*, 1959, **234**, 3102.
- NEPTUNE, E.M. Jr., SUDDUTH, H.C., FASH, F.J. et FOREMAN, D.R. — Quantitative participation of fatty acid and glucose substrates in oxidative metabolism of excised rat diaphragm. *Amer. J. Physiol.*, 1959, **196**, 269.
- NEPTUNE, E.M. Jr., SUDDUTH, H.C. et FOREMAN, D.R. — Labile fatty acids of rat diaphragm muscle and their possible role as the major endogenous substrate for maintenance of respiration. *J. Biol. Chem.*, 1959, **234**, 1659.
- NEPTUNE, E.M. Jr., SUDDUTH, H.C., FOREMAN, D.R. et FASH, F.J. — Phospholipid and triglyceride metabolism of excised rat diaphragm and the role of these lipids in fatty acid uptake and oxidation. *J. Lipid Res.*, 1960, **1**, 229.
- NEWSHOLME, E.A., ROBINSON, J. et TAYLOR, K. — A radiochemical enzymatic activity assay for glycerol kinase and hexokinase. *Biochim. biophys. acta*, 1967, **132**, 338.
- NIKKILÄ, E.A. — Aspects of serum lipoprotein analysis. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 1955, **7**, suppl. 20, 8.
- NOSSLIN, B. — Round table on applications of tracer theory to protein turnover studies. In : *Labelled proteins in tracer studies*. Ed. by Donato, Milhaud et Sirchis. Published by Euratom, Brussels, 1966.
- NYE, W.H.R. — An assessment of the role of alpha and beta chylomicra in hyperlipemic states. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1964, **116**, 350.
- NYE, W.H.R. et WATERHOUSE, C. — The phosphatides of human plasma. II. Abnormalities encountered in the nephrotic syndrome. *J. Clin. Invest.*, 1961, **40**, 1202.
- OLIVECRONA, T. — The metabolism of 1-C¹⁴-palmitic acid in the rat. *Acta physiol. scand.*, 1962, **54**, 295.
- OLIVECRONA, T. — The metabolism of 1-C¹⁴-palmitic acid labeled chylomicrons in rats. *Acta physiol. scand.*, 1962, **55**, 170.
- OLIVECRONA, T. — Metabolism of chylomicrons labeled with C¹⁴ glycerol-H³-palmitic acid in the rat. *J. Lipid Res.*, 1962, **3**, 439.
- OLIVER, M.F. et BOYD, G.S. — The clearing by heparin of alimentary lipaemia in coronary artery disease. *Clin. Sci.*, 1953, **12**, 293.

- OLIVER, W. F. et KELSCH, R. C. — Effect of hypophysectomy upon edema formation in aminonucleoside nephrosis. *Endocrinology*, 1964, **75**, 973.
- ONCLEY, J. L., GURD, F. R. N. et MELIN, M. — Preparation and properties of serum and plasma proteins. XXV. Composition and properties of human serum betalipoprotein. *J. Amer. Chem. Soc.*, 1950, **72**, 458.
- ONCLEY, J. L., MELIN, M., RICHERT, D. A., CAMERON, J. W. et GROSS, P. M. Jr. — The separation of the antibodies, isoagglutinins, prothrombin and beta-lipoprotein into subfractions of human plasma. *J. Amer. Chem. Soc.*, 1949, **71**, 541.
- ONCLEY, J. L., WALTON, K. W. et CORNWELL, D. G. — A rapid method for the bulk isolation of beta-lipoproteins from human plasma. *J. Amer. Chem. Soc.*, 1957, **79**, 4666.
- ONTKO, J. A. et ZILVERSMIT, D. B. — Metabolism of chylomicrons by the isolated rat liver. *J. Lipid Res.*, 1967, **8**, 90.
- OOMS, H. A., FRANCKSON, J. R. M. et CONARD, V. — Comparaison des mesures de la sécrétion glucosée du foie par le cathétérisme et par la radioglucose. *Arch. Int. Pharm. Thér.*, 1961, **134**, 343.
- OPIE, L. H., EVANS, J. R. et SHIPP, J. C. — Effect of fasting on glucose and palmitate metabolism of perfused rat heart. *Amer. J. Physiol.*, 1963, **205**, 1203.
- OTT, H. — Das Blutserum bei Analbuminämie : weitere Untersuchungen über die Serumfraktionen, das Farbstoffbindungsvermögen und den Kolloidosmotischen Druck. *Z. ges. exp. Med.*, 1957, **128**, 340.
- PAGE, I. H. et FARR, L. E. — The influence of high and low fat diets and thyroid substance on plasma lipids of nephrotic patients. *J. Clin. Invest.*, 1936, **15**, 181.
- PAGE, I. H., KIRK, E. et VAN SLYKE, D. D. — Plasma lipids in chronic hemorrhagic nephritis. *J. Clin. Invest.*, 1936, **15**, 101.
- PASTEUR VALLÉRY-RADOT, L., MAURIC, G., WOLFROMM, R. et GUIOT, G. — Néphrose lipopéidique secondaire à un traitement aurique. *Bull. Soc. Méd. Hop. Paris*, 1942, **58**, 96.
- PEARSALL, H. R. et CHANUTIN, A. — Electrophoretic, nitrogen and lipid analysis of plasma and plasma fractions of healthy young men. *Amer. J. Med.*, 1949, **7**, 297.
- PEARSALL, H. R. et CHANUTIN, A. — II. Electrophoretic, nitrogen and lipid analysis of plasma and plasma fractions in disease. *Amer. J. Med.*, 1949, **7**, 301.
- PEETERS, H. et LAGA, E. — *Electrochromatography of serum lipoproteins*. In : *Protides of the biological fluids*. Amsterdam, Elsevier ed., 1963, 134.
- PETERS, J. P., BRUCKMAN, F. S., EISENMAN, A. J., HALD, P. N. et WAKEMAN, A. M. — The plasma proteins in relation to blood hydration. VI. Serum proteins in nephritic edema. *J. Clin. Invest.*, 1931, **10**, 941.
- PETERS, J. P. et MAN, E. B. — The interrelations of serum lipids in patients with diseases of the kidneys. *J. Clin. Invest.*, 1943, **22**, 721.

- PETERS, J. P. et MAN, E. B. — The relation of albumin to precipitable iodine of serum. *J. Clin. Invest.*, 1948, **27**, 397.
- PETERS, J. P. et VAN SLYKE, D. D. — *Quantitative clinical chemistry*. Vol. I. *Interpretations*, 2nd ed., Baltimore, Williams and Wilkins, 1946, p. 531.
- PIERCE, F. T. — The interconversion of serum lipoproteins in vivo. *Metabolism*, 1954, **3**, 142.
- POLLAK, V. E., KARK, R. M., PIRANI, C. L., SHAFTER, H. A. et MUEHRCKE, R. C. — Renal vein thrombosis and the nephrotic syndrome. *Amer. J. Med.*, 1956, **21**, 496.
- POPIAK, G. et MCCARTHY, E. F. — The osmotic pressure of "defatted" human serum. *Biochem. J.*, 1943, **37**, 702.
- POPIAK, G. et MCCARTHY, E. F. — Osmotic pressures of experimental and human lipaemic sera. Evaluation of albumin-globulin ratios with the aid of electrophoresis. *Biochem. J.*, 1946, **40**, 789.
- PORT, F. — Über cholesterinämie bei Nephropathien. *Deutsch. Arch. Klin. Med.*, 1919, **128**, 6.
- PREEDY, J. R. K. et RUSSELL, D. S. — Acute salt depletion associated with the nephrotic syndrome developing during treatment with a mercurial diuretic. *Lancet*, 1953, **2**, 1181.
- RABINOWITCH, I. M. — Diabetes mellitus. The colloidal osmotic pressure of the blood. *Arch. Intern. Med.*, 1930, **46**, 752.
- RADDING, C. M., BRAGDON, J. H. et STEINBERG, D. — The synthesis of low- and high-density lipoproteins by rat liver in vitro. *Biochim. biophys. acta*, 1958, **30**, 443.
- RADDING, C. M. et STEINBERG, D. — Studies on the synthesis and secretion of serum lipoproteins by rat liver slices. *J. Clin. Invest.*, 1960, **39**, 1560.
- RANDLE, P. J., GARLAND, P. B., HALES, C. N. et NEWSHOLME, E. A. — The glucose fatty-acid cycle. Its role in insulin sensitivity and the metabolic disturbances of diabetes mellitus. *Lancet*, 1963, **1**, 785.
- RAYNAUD, R. et D'ESHOUGUES, J. R. — *Les aspects humoraux de la thrombose artérielle. Les thromboses artérielles*. Masson et Cie édit., 1955, Paris, p. 391.
- RAPPORT, M. M. et ALONZO, N. — Photometric determination of fatty acid ester groups in phospholipids. *J. Biol. Chem.*, 1955, **217**, 193.
- RASMUSSEN, H. — Thyroxine metabolism in the nephrotic syndrome. *J. Clin. Invest.*, 1956, **35**, 792.
- RECANT, L. — An abnormality in thyroxine-binding in nephrosis. *J. Clin. Invest.*, 1956, **35**, 730.
- RECANT, L. et RIGGS, D. S. — Thyroid function in nephrosis. *J. Clin. Invest.*, 1952, **31**, 789.
- REUBI, F. et SCHMID, A. — L'hyperlipidémie du syndrome néphrotique est-elle d'origine rénale ? *J. Urol. Méd. Chir.*, 1955, **1**, 304.

- RICE, L. I., SCHOTZ, M. C., POWELL, J. R. et ALFIN-SLATER, R. B. — Effect of reticulo-endothelial blocking agents on plasma and liver cholesterol levels in the rat. *Amer. J. Physiol.*, 1954, **178**, 483.
- RIDDLE, M., GARDNER, F., BESWICK, I. et FILSHIE, I. — The nephrotic syndrome complicating mercurial diuretic therapy. *Brit. Med. J.*, 1958, **1**, 1274.
- ROBBINS, J., RALL, J. E. et PETERMANN, M. L. — Protein-binding of thyroxine in normal and nephrotic serum. *J. Clin. Invest.*, 1954, **33**, 959.
- ROBBINS, J., RALL, J. E. et PETERMANN, M. L. — Thyroxine-binding by serum and urine proteins in nephrosis. Qualitative aspects. *J. Clin. Invest.*, 1957, **36**, 1333.
- ROBINSON, D. S. et FRENCH, J. E. — The role of albumin in the interaction of chyle and plasma in the rat. *Quart. J. Exp. Physiol.*, 1953, **38**, 233.
- ROBINSON, D. S. et FRENCH, J. E. — The heparin clearing reaction and fat transport. *Quart. J. Exp. Physiol.*, 1957, **42**, 151.
- ROBINSON, J. et NEWSHOLME, E. A. — Glycerolkinase activities in rat heart and adipose tissue. *Biochem. J.*, 1967, **104**, 2 C.
- ROBINSON, R. J. et COXON, R. V. — Radioactivity of blood carbon dioxide in animals oxidizing glucose labelled with carbon-14 and other labelled substances. *Nature*, 1957, **180**, 1279.
- RODBELL, M. — N-terminal amino acid and lipid composition of lipoproteins from chyle and plasma. *Science*, 1958, **127**, 701.
- RODBELL, M. — The removal and metabolism of chylomicrons by adipose tissue in vitro. *J. Biol. Chem.*, 1960, **235**, 1613.
- RODBELL, M. et SCOW, R. O. — Metabolism of chylomicrons and triglyceride emulsions by perfused rat adipose tissue. *Amer. J. Physiol.*, 1965, **208**, 106.
- ROODENBURG, A. — The reaction of plasma lipoids to plasmapheresis in thyroidec-tomized dogs. *Proc. Mayo Clin.*, 1945, **20**, 6.
- ROSENBERG, I. N. — Serum lipids studied by electrophoresis on paper. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1952, **80**, 751.
- ROSENMAN, R. H. — The use of albumin heparin infusion as an anti-lipemic agent. *J. Clin. Invest.*, 1957, **36**, 925.
- ROSENMAN, R. H. et BYERS, S. O. — Lipoprotein lipase metabolism in experimentally nephrotic rats. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1960, **103**, 31.
- ROSENMAN, R. H., BYERS, S. O. et FRIEDMAN, M. — The mechanism responsible for the altered blood cholesterol content in deranged thyroid states. *J. Clin. Endocrin.*, 1952, **12**, 1287.
- ROSENMAN, R. H., BYERS, S. O. et FRIEDMAN, M. — The arresting effect of heparin upon the development and course of experimental nephrosis. *J. Clin. Invest.*, 1954, **33**, 960.
- ROSENMAN, R. H., BYERS, S. O. et FRIEDMAN, M. — Plasma lipid interrelationships in experimental nephrosis. *J. Clin. Invest.*, 1957, **36**, 1558.

- ROSENMAN, R. H. et FRIEDMAN, M. — In vivo studies of the role of albumin in endogenous and heparin-activated lipemia-clearing in nephrotic rats. *J. Clin. Invest.*, 1957, **36**, 700.
- ROSENMAN, R. H., FRIEDMAN, M. et BYERS, S. O. — Observations concerning the cholate: cholesterol relationship in clinical and experimental nephrosis. *J. Clin. Invest.*, 1953, **32**, 121.
- ROSENMAN, R. H., FRIEDMAN, M. et BYERS, S. O. — Intestinal absorption of cholesterol by the nephrotic rat. *Circulation Res.*, 1954, **2**, 256.
- ROSENMAN, R. H., FRIEDMAN, M. et BYERS, S. O. — The distribution of cholesterol and total lipids in the nephrotic rat. *J. Clin. Invest.*, 1955, **34**, 700.
- ROSENMAN, R. H., FRIEDMAN, M. et BYERS, S. O. — The causal role of plasma albumin deficiency in experimental nephrotic hyperlipemia and hypercholesterolemia. *J. Clin. Invest.*, 1956, **35**, 522.
- ROSENMAN, R. H. et SMITH, M. K. — Effects on altered thyroid function on plasma lipids of experimentally nephrotic rats. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1958, **98**, 444.
- ROUS, S. et FAVARGER, P. — Le rôle du jeûne dans la synthèse des acides gras. *Rapports 8^e Journées Biochimiques latines*, 1965, p. 34.
- RUSSEL, J. A. et BLOOM, W. L. — Extractable and residual glycogen in tissues of the rat. *Amer. J. Physiol.*, 1955, **183**, 345.
- SADHU, D. P. et MORKERJEA, S. — Studies on the mechanism of cholesterol synthesis in nephrosis. *Metabolism*, 1955, **4**, 531.
- SAFFRAN, J. et KALANT, N. — Mechanisms of hyperlipemia in experimental nephrosis. *J. Clin. Invest.*, 1959, **38**, 1717.
- SAKAI, S. — Zur Pathogenese der Lipämie. *Biochem. Z.*, 1914, **62**, 387.
- SALT, H. B. et WOLFF, O. H. — The applications of serum lipoprotein electrophoresis in paediatric practice. *Arch. Dis. Child.*, 1957, **32**, 404.
- SCHENDEL, H. E. et HANSEN, J. D. L. — Studies on fat metabolism in kwashiorkor: I. Total serum cholesterol. *Metabolism*, 1958, **7**, 731.
- SCHIROSA, G. et GUARINI, G. — Die Bedeutung der Niere bei der Entstehung der nephrotischen Hyperlipämie. *Acta med. scand.*, 1960, **166**, 97.
- SCHWARTZ, R. et DEAN, R. F. A. — The serum lipids in kwashiorkor. *J. Trop. Pediat* 1957, **3**, 23.
- SCHWARTZMAN, L. I. et BROWN, J. — Glucose inhibition of fatty acid oxidation by rat diaphragm. *Amer. J. Physiol.*, 1960, **199**, 235.
- SCHWARZ, H. et KOHN, J. L. — Studies of nephritis in children. I. Nephrosis. *Amer. J. Dis. Child.*, 1922, **24**, 125.
- SEIFTER, J. et BAEDER, D. H. — Lipemia clearing by hyaluronidase, hyaluronate and desoxycorticosterone and its inhibition by cortisone, stress, and nephrosis. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1954, **86**, 709.
- SEIFTER, J. et BAEDER, D. H. — Influence of calcium and serum albumin on clearing of lipemia dog plasma in vitro. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1955, **89**, 511.

- SEIFTER, J. et BAEDER, D.H. — Occurrence in plasma of an extractable lipid mobilizer (LM). *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1956, **91**, 42.
- SELLERS, A.L., HUBBARD, R. et MARMORSTON, J. — Effect of plasmapheresis on blood cholesterol levels in the dog. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1957, **95**, 67.
- SHAFRIR, E. — Partition of unesterified fatty acids in normal and nephrotic syndrome serum and its effect on serum electrophoretic pattern. *J. Clin. Invest.*, 1958, **37**, 1775.
- SHAPIRO, B., STATTER, M. et ROSE, G. — Pathways of triglyceride formation in adipose tissue. *Biochim. biophys. acta*, 1960, **44**, 373.
- SHEARN, M.A. — Normocholesterolemic nephrotic syndrome of systemic lupus erythematosus. *Amer. J. Med.*, 1964, **36**, 250.
- SHEPPARD, C.W. — *Basic principles of the tracer method. Introduction to mathematical tracer kinetics*. J. Wiley and Sons, Inc., New York-London, 1962.
- SHIPLEY, R.A., BAKER, N., INCEFY, G.E. et CLARK, R.E. — C^{14} studies in carbohydrate metabolism. IV. Characteristics of bicarbonate pool system in the rat. *Amer. J. Physiol.*, 1959, **197**, 41.
- SHIPP, J.C. — Interrelation between carbohydrate and fatty acid metabolism of isolated perfused rat heart. *Metabolism*, 1964, **13**, 852.
- SHORE, B. — Effect of thyroxine and related compounds on heparin-activated fatty acid liberating enzymes. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1955, **90**, 415.
- SMIT, Z.M. et PRETORIUS, P.J. — Some biochemical changes in kwashiorkor. *S. Afr. J. Lab. Clin. Med.*, 1957, **3**, 142.
- SNEDECOR, G.W. — *Statistical methods applied to experiments in agriculture and biology*. 4th ed., The Iowa State College Press, Ames, Iowa, 1946.
- SODHI, H.S. et KALANT, N. — Removal of chylomicron lipid from plasma in experimental nephrosis. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1960, **104**, 164.
- SOFFER, L.J., SOUTHERN, A.L., WEINER, H.E. et WOLF, R.L. — Renal manifestations of systemic lupus erythematosus; a clinical and pathological study of 90 cases. *Ann. Intern. Med.*, 1961, **54**, 215.
- SOOTHILL, J.A. et KARK, R.M. — The effects of infusions of salt-poor human serum albumin on serum cholesterol cholesterinase, and albumin levels in healthy subjects and in patients ill with the nephrotic syndrome. *Clin. Res. Proc.*, 1956, **4**, 140.
- SPEERY, W.M. et WEBB, M. — A revision of the Schoenheimer-Sperry method for cholesterol determination. *J. Biol. Chem.*, 1950, **187**, 97.
- SPIRO, M.J. et BALL, E.G. — A comparison of the pathways of glucose catabolism in the normal and hyperthyroid rat. *J. Biol. Chem.*, 1958, **231**, 31.
- SPITZER, J.J. et GOLD, M. — Free fatty acid metabolism by skeletal muscle. *Amer. J. Physiol.*, 1964, **206**, 159.
- SPITZER, J.J. et SPITZER, J.A. — Hemorrhagic lipemia: a derangement of fat metabolism. *J. Lab. Clin. Med.*, 1955, **46**, 461.

- SQUIRE, J. R., BULL, J. P., MAYCOCK, W. d'A. et RICKETTS, C. R. — *Dextran. Its properties and use in medicine*. Blackwell scientific public., Oxford, 1955, p. 26-27, 46-50.
- STADIE, W. C., HAUGAARD, N. et MARSH, J. B. — Combination of insulin with muscle of the hypophysectomized rat. *J. Biol. Chem.*, 1951, **188**, 167.
- STÄHJELIN, H., KARNOVSKY, M. L., FARNHAM, A. E. et SUTER, E. — Studies on the interaction between phagocytes and tubercle bacilli. III. Some metabolic effects in guinea-pig associated with infection with tubercle bacilli. *J. Exp. Med.*, 1957, **105**, 265.
- STEELE, R., VAN SLYKE, D. D. et PLAZIN, J. — The fate of intravenously administered polyvinylpyrrolidone. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1952, **55**, 479.
- STEIN, Y. et SHAPIRO, B. — The synthesis of neutral glycerides by fractions of rat liver homogenates. *Biochim. biophys. acta*, 1957, **24**, 197.
- STEIN, Y. et SHAPIRO, B. — Uptake and metabolism of triglycerides by the rat liver. *J. Lipid Res.*, 1960, **1**, 326.
- STEIN, Y. et SHAPIRO, B. — Assimilation and dissimilation of fatty acids by the rat liver. *Amer. J. Physiol.*, 1959, **196**, 1238.
- STEINBERG, D. et VAUGHAN, M. — *Metabolic and hormonal regulation of the mobilization of fatty acids from adipose tissue*. In : *Biosynthesis of lipids*, ed. by Popjak, Pergamon Press, Oxford, 1963, p. 162.
- STEPHENSON, J. L. — Theory of transport in linear biological systems. *Bull. Math. Biophys.*, 1960, **22**, 1.
- STEVENSON, J. A. F., FELEKI, V., SZLAVKO, A. et BEATON, J. R. — Food restriction and lipogenesis in the rat. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1964, **116**, 178.
- STEWART, C. P. et HENDRY, E. B. — The phospholipins of blood. *Biochem. J.*, 1935, **29**, 1683.
- STEWART, G. T. — The action of sulphated polysaccharides upon serum lipids under clinical and experimental conditions. *Brit. J. Exp. Path.*, 1958, **39**, 109.
- SUSHEELA, A. K. et GEORGE, J. C. — Respiratory quotient of the rat diaphragm. *Canad. J. Biochem.*, 1963, **41**, 2221.
- SVANBORG, A. — Studies on renal hyperlipemia. *Acta med. scand.*, 1951, **141**, suppl. 264. p. 5.
- SVENNERHOLM, E. et SVENNERHOLM, L. — Determination of glycolipids in plasma. *Acta chem. scand.*, 1956, **10**, 1048.
- SVENNERHOLM, E. et SVENNERHOLM, L. — The separation of neutral blood serum glycolipids by thin-layer chromatography. *Biochim. biophys. acta*, 1963, **70**, 432.
- SWAIN, B. — A method for localization and determination of serum lipids after electrophoretical separation on filter paper. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 1952, **4**, 98.
- SWAIN, B. — Studies on blood lipids. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 1953, **5**, 1, suppl. 9.

- SWANK, R. L. et WILMOT, V. — Chylomicra : their composition and their fate after intravenous injection of small amounts of heparin. *Amer. J. Physiol.*, 1951, **167**, 403.
- Technicon Auto-Analyser N. — *Methodology*. N-2 A. New York : Technicon Instruments Corpor., 1963.
- TEPPERMAN, J. et TEPPERMAN, H. M. — Effects of antecedent food intake pattern on hepatic lipogenesis. *Amer. J. Physiol.*, 1958, **193**, 55.
- TEPPERMAN, H. M. et TEPPERMAN, J. — The hexose-monophosphate shunt and adaptative hyperlipogenesis. *Diabetes*, 1958, **7**, 478.
- TEPPERMAN, H. M. et TEPPERMAN, J. — Adaptative changes in alpha-glycerophosphate-generating enzymes in rat liver. *Amer. J. Physiol.*, 1968, **214**, 67.
- THOMAS, E. M., ROSENBLUM, A. H., LANDER, H. B. et FISHER, R. — Relationships between blood lipid and blood protein levels in the nephrotic syndrome. *Amer. J. Dis. Child.*, 1951, **81**, 207.
- TOEWS, C. J. — Evidence for the metabolism of glycerol by skeletal muscle and the presence of a muscle nicotamide-adenine dinucleotide phosphate-dependent glycerol dehydrogenase. *Biochem. J.*, 1966, **98**, 27 C.
- TRACY, R. E. — The effect of tumor growth, hypophysectomy and nephrosis on serum lipids in rats. *Lab. Invest.*, 1962, **2**, 14.
- TREBLE, D. H. et BALL, E. G. — The occurrence of glycerolkinase in rat brown adipose tissue. *Fed. Proc.*, 1963, **22**, 357.
- TUERKISCHER, E. et WERTHEIMER, E. — The in vitro synthesis of glycogen in the diaphragms of normal and alloxan-diabetic rats. *Biochem. J.*, 1948, **42**, 603.
- TZUR, R., TAL, E. et SHAPIRO, B. — Alpha-glycerophosphate as a regulatory factor in fatty acid esterification. *Biochim. biophys. acta*, 1964, **84**, 18.
- UMBREIT, W. W., BURRIS, R. H. et STAUFFER, J. F. — *Manometric techniques*. 3rd ed., Minncapolis, Burgess, 1957.
- VAN BRUGGEN, J. T. — Metabolism of $\text{NaHC}^{14}\text{O}_3$: effects of anesthesia and route of dosage. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1956, **91**, 140.
- VAN ECK, W. F., PETERS, J. P. et MAN, E. B. — Significance of lactescence in blood serum. *Metabolism*, 1952, **1**, 383.
- VAN HANDEL, E. et ZILVERSMIT, D. B. — Micromethod for the direct determination of serum triglycerides. *J. Lab. Clin. Med.*, 1957, **50**, 152.
- VAN SLYKE, D. D., STILLMAN, E., MÖLLER, E., EHRLICH, W., MCINTOSH, J. F., LEITER, L., MCKAY, E. M., HANNON, R. R., MOORE, N. S. et JOHNSTON, C. — Observations on the courses of different types of Bright's diseases, and on the resultant changes in renal anatomy. *Medicine*, 1930, **9**, 257.
- VERZAR, F. et WENNER, V. — The influence in vitro of deoxycorticosterone on glycogen formation in muscle. *Biochem. J.*, 1948, **42**, 35.

- VOLK, M. E., MILLINGTON, R. H. et WEINHOUSE, S. — Oxidation of endogenous fatty acids of rat tissues in vitro. *J. Biol. Chem.*, 1952, **195**, 493.
- WAGLE, S. R. et ASHMORE, J. — Studies on experimental diabetes. II. Carbon dioxide fixation. *J. Biol. Chem.*, 1963, **238**, 17.
- WALD, M. H. — Clinical studies of secondary amyloidosis in tuberculosis. *Ann. Intern. Med.*, 1955, **43**, 383.
- WALDMANN, T. A., GORDON, R. S. Jr. et ROSSE, W. — Studies on the metabolism of the serum proteins and lipids in a patient with analbuminemia. *Amer. J. Med.*, 1964, **37**, 960.
- WALDRON, J. M. et FRIEDMAN, M. H. F. — The relationship between anticoagulants and lipemia. *Fed. Proc.*, 1948, **7**, 130.
- WALLACH, D. P. — Isolation and characterization of four lipolytic preparations from rat skeletal muscle. *J. Lipid Res.*, 1968, **9**, 200.
- WANG, L. — Plasma volume, cell volume, total blood volume and F cells factor in the normal and splenectomized Sherman rat. *Amer. J. Physiol.*, 1959, **196**, 188.
- WEINHOUSE, S., MILLINGTON, R. H. et VOLK, M. E. — Oxidation of isotopic palmitic acid in animal tissues. *J. Biol. Chem.*, 1950, **185**, 191.
- WEISS, S. B., KENNEDY, E. P. et KIYASU, J. Y. — The enzymatic synthesis of triglycerides. *J. Biol. Chem.*, 1960, **235**, 40.
- WEISSENBAACH, R. J., MARTINEAU, J., BROCARD, J. et MALINSKY, A. — Néphrose lipidique après chrysothérapie. *Bull. Soc. Méd. Hôp. Paris.*, 1936, **52**, 1076.
- WELD, C. B. — Alimentary lipemia and heparin. *Canad. Med. Ass. J.*, 1944, **51**, 578.
- WERTHEIMER, E. et BEN-TOR, V. — Fat utilization by muscle. *Biochem. J.*, 1952, **50**, 573.
- WESTPHAL, K. — Untersuchungen zur Frage der Entstehungsbedingungen des genuinen arteriellen Hochdruckes. IV. Cholesterin als tonogene Substanz der genuinen Hypertension im Zusammenspiel mit anderen Entstehungsbedingungen. *Z. Klin. Med.*, 1924-25, **101**, 585.
- WICHERT, M., POSPELOFF, S. et JAKOWLEWA, A. — Über den Cholesterinstoffwechsel. *Z. Klin. Med.*, 1929, **109**, 678.
- WIDAL, P., WEILL, A. et LAUDAT, M. — La lipémie des brightiques : rapports de la rétinite des brightiques avec l'azotémie et la cholestérinémie. *Semana med. (B. Air.)*, 1912, **32**, 529.
- WIELAND, O. et SUYTER, M. — Glycerokinase : its isolation and properties. *Biochem. Z.*, 1957, **329**, 320.
- WINDMUELLER, H. G. et SPAETH, A. E. — De novo synthesis of fatty acid in perfused rat liver as a determinant of plasma lipoprotein production. *Arch. biochem.*, 1967, **122**, 362.
- WINEGRAD, A. I. et SHAW, W. N. — Glucuronic acid pathway activity in adipose tissue. *Amer. J. Physiol.*, 1964, **206**, 165.

- WINKLER, A.W., DURLACHER, S.H., HOFF, H.E. et MAN, E.B. — Changes in lipid content of serum and of liver following bilateral renal ablation or ureteral ligation. *J. Exp. Med.*, 1943, **77**, 473.
- WOLDOW, A. — Dextran effect on lipid metabolism. *Circulation*, 1966, **34**, suppl. III-34.
- WOOD, H.G. — Significance of alternate pathways in the metabolism of glucose. *Physiol. Rev.*, 1955, **35**, 841.
- YOUNG, H.L. et PACE, N. — Distribution of alpha-glycerophosphate deshydrogenase in normal rats. *Arch. biochem.*, 1958, **76**, 112.
- ZARAFONETIS, C.J.D., SEIFTER, J., BAEDER, D. et KALAS, J. — Lipid mobilizer hormone in hypercholesterolemic states and in surgical stress. *J. Lab. Clin. Med.*, 1957, **50**, 965.
- ZIERLER, K.L. — Basic aspects of kinetic theory as applied to tracer distribution studies. In : *Dynamic clinical studies with radioisotopes*. Proc. Oak Ridge Symposium Inst. of Nuclear Studies, ed. by US Atomic Energy Commission, October 1963. p. 55.
- ZIERLER, K.L. — Effect of circulatory beds on tracer experiments, or non-compartmental analysis. *Annals N. Y. Acad. Sci.*, 1963, **108**, 106.

