

MISE EN EVIDENCE D'UNE EXCRETION DE L'ACIDE URIQUE CHEZ LE LAPIN PORTEUR D'UNE POCHE CÆCALE

Josette MARTY * et J. MORÉ **

*Laboratoire de Physiologie de la digestion et de la nutrition **
Institut de Physiologie, 2, rue François-Magendie, 31400 TOULOUSE
*Institut National de la Recherche Agronomique ***
Laboratoire de Pharmacologie Toxicologie, 180, chemin de Tournefeuille, 31300 TOULOUSE

Summary

EVIDENCE OF AN EXCRETION OF URIC ACID BY A CÆCAL POUCH IN THE RABBIT. — Uric acid was estimated in the blood plasma, the cæcal content, and in the lumen of a cæcal pouch in operated rabbits. It was also histochemically detected in the cæcal wall. A non negligible excretion of uric acid through the perfused cæcal pouch was demonstrated. There was also an accumulation of amorphous uric acid in the enterocytes, probably due to the absence of intestinal transit, and of microorganism's uricase.

Introduction

Dans l'étude de la physiologie digestive chez le lapin, le métabolisme de la microflore intestinale interfère sur les mécanismes digestifs, qui de ce fait échappent à l'observation.

Il est possible d'isoler, chez le lapin, la moitié distale du cæcum de la moitié proximale, selon une technique exposée dans un article précédent (Marty *et al.*, 1976). La poche ainsi constituée est placée en dérivation du transit digestif. Elle conserve ses connexions nerveuses et son irrigation sanguine. Sur le plan de l'expérimentation physiologique, la poche cæcale qui est munie de deux canules abouchées à la peau, présente l'avantage d'un accès direct à l'organe chez l'animal vivant. L'élimination du contenu dans la cavité de la poche supprime, en grande partie, l'action métabolique des microorganismes et l'absorption des nutriments

d'origine alimentaire ou bactérienne. Par contre, elle permet l'étude des substances susceptibles d'être excrétées par le cæcum.

Notre travail a consisté, sur l'animal muni d'une telle poche, à rechercher l'existence d'une excrétion cæcale des déchets du métabolisme azoté. Les observations faites dans une phase expérimentale préliminaire nous ont amenés à nous intéresser plus particulièrement à l'acide urique, bien que ce métabolite ne soit pas le terme ultime du métabolisme azoté chez le lapin.

Matériel et méthodes

Les animaux

Dix-huit lapins adultes, de race indéfinie et d'un poids moyen de 3 kg, ont été utilisés. Nourris d'avoine, de luzerne et abreuvés à volonté, ils ont séjourné ainsi dans notre élevage de type conventionnel pendant 1 mois, avant d'être opérés.

Dès la reprise de poids (5^e ou 6^e jour après

l'opération), les sujets sont soumis aux diverses expérimentations. Les expériences ont été regroupées sur une période de six mois.

Les prélèvements

Les différents prélèvements ont été effectués 4 à 6 heures après l'ingestion du dernier repas.

— *Le sang* : La ponction est faite sur l'animal anesthésié dans les veines rami cæcales medix issues de la poche cæcale et du cæcum résiduel, puis dans l'artère afférente à l'organe.

— *La paroi* : Les fragments de tissu destinés à l'étude histologique sont prélevés dans la région médiane de la poche et du cæcum résiduel puis rapidement plongés dans le liquide fixateur.

— *Le contenu de la poche* : Les canules placées aux deux extrémités de la poche permettent de la perfuser. On peut ainsi recueillir les substances susceptibles de s'y accumuler. Le flux de perfusion est entretenu par une pompe péristaltique permettant au liquide de circuler en boucle fermée et de contrôler le débit. La température est maintenue constante (37 à 39 °C) grâce à un bain thermostaté.

Au cours d'expériences préliminaires, nous avons testé deux sortes de liquides de perfusion : d'une part, une solution de chlorure de sodium à 9 p. 1 000, d'autre part une solution dont la composition en ions minéraux et acides volatils est équivalente à la composition du contenu digestif (Leng, 1974). Il est apparu que pour l'étude de l'excrétion, les meilleurs résultats étaient obtenus avec la première solution. Aux 100 ml utilisés pour la perfusion intra-cæcale, nous ajoutons 10 µCi de chrome radioactif (E.D.T.A. ⁵¹Cr) afin de contrôler les mouvements de l'eau pendant l'expérience. Les perfusions, d'une durée de 60 minutes, sont réalisées toutes les 24 heures.

Recherche de l'acide urique

L'acide urique est recherché dans le plasma, dans le liquide de lavage de la poche et dans la muqueuse cæcale. Pour éviter, dans l'interprétation des résultats, les erreurs dues à d'éventuelles variations du débit sanguin, nous avons dosé parallèlement deux autres substances normalement présentes dans le sang : l'urée et le phosphore.

Dosages biochimiques : La méthode de dosage de l'acide urique est fondée sur la réduction du phosphotungstate de sodium en milieu alcalin. L'intensité de la coloration

produite est évaluée à 660 nm pour le sérum (Musser et Ortigaza, 1966) et à 700 nm pour le liquide de perfusion (Caraway, 1963).

Dans le cas de l'urée, il y a formation d'un produit coloré quand celle-ci réagit sur le diacétyl monoxide en milieu faiblement acide. A une température de 90° se développe une coloration intensifiée par la présence de thiosemicarbazone et d'ions ferriques. Le dosage colorimétrique est effectué à 520 nm (Marsh *et al.*, 1965).

Le principe du dosage du phosphore minéral est basé sur la formation d'acide phosphomolybdique avec réduction subséquente par le mélange hydrazine-chlorure stanneux ; on mesure l'intensité de la coloration à 660 nm (Kraml, 1966).

Détection histochimique

Les pièces fixées par l'éthanol absolu ou le liquide de Dubosq-Brazil (en fonction des colorations ultérieures) ont été incluses à la paraffine.

Les méthodes employées se rattachent à deux grands groupes :

— Le premier englobe les réactions faisant appel au caractère réducteur de l'acide urique et de ses sels. Nous avons retenu la technique d'imprégnation argentique de Galantha (1935).

— Le second s'appuie sur le caractère basophile de ce type de ferrines. Nous avons utilisé les réactions de Schultz et Schmidt (1931). Comme les dépôts tissulaires de carbonates peuvent interférer dans ce type de coloration, nous avons effectué des contrôles sur coupes préalablement plongées dans l'acide acétique qui élimine ces composés.

Expression des résultats

Les concentrations sont exprimées en mg par litre de plasma ou de liquide de perfusion. La répartition de leurs valeurs est exprimée par l'écart type de la moyenne. Pour l'étude de leur variation, nous avons employé l'analyse de variance (test de F).

Résultats expérimentaux

Les résultats présentés ont été obtenus sur un lot de dix-huit lapins opérés, six d'entre eux ont servi à l'étude de la composition sérique et six autres à la perfusion intra-cæcale de la poche. Les autres animaux ont été destinés à l'étude histologique des tissus pariétaux.

Variation des concentrations dans le sang irrigant le cæcum opéré

— La teneur en phosphore minéral du

sang artériel est de $42,8 \pm 2,7$ mg/litre. Elle est de $38,3 \pm 2,2$ mg/litre dans le sang veineux issu du cæcum résiduel et de $37,7 \pm 2,0$ mg/litre dans le sang veineux issu de la poche.

— Présente à la concentration de $408,3 \pm 25,6$ mg/litre dans le sang artériel, l'urée voit sa concentration diminuer dans le sang veineux au niveau du cæcum résiduel ($351,7 \pm 20,4$ mg/litre) et au niveau de la poche ($345,0 \pm 18,2$ mg/litre).

— Pour ces deux substances, les valeurs moyennes des concentrations ne diffèrent ni dans leur ensemble, ni deux à deux.

Il n'en est pas de même pour l'acide urique. En effet, sa teneur passe de $29,8 \pm 6,8$ mg/litre dans le sang artériel à $10,7 \pm 1,8$ mg/litre dans le sang veineux du cæcum résiduel et à $4,5 \pm 0,9$ mg/litre dans le sang veineux de la poche. Ces valeurs moyennes diffèrent dans leur ensemble ($P < 0,01$). Il existe également une différence significative entre l'artère et la veine du cæcum résiduel ($P < 0,01$) d'une part, entre l'artère et la veine de la poche ($P < 0,001$) d'autre part. Par contre, il n'y a pas de différence significative entre les deux sangs veineux.

— La figure 1 montre la variation relative de ces trois constituants dans les deux sangs veineux lorsque le sang artériel est pris pour référence.

Présence d'urates dans la paroi

Dans la paroi du cæcum résiduel, les différentes réactions utilisées révèlent la présence de quelques rares cristaux d'acide urique et d'urates au niveau de l'épithélium superficiel.

Par contre, dans la poche isolée, ces cristaux sont répartis tout au long de la couche épithéliale superficielle. Il s'agit de grains arrondis, fortement colorés en vert sombre (acide urique) ou vert brillant (urates). Ces cristaux sont souvent groupés en amas plus ou moins denses et situés, pour la plupart, au pôle basal des entérocytes du cæcum proche de la *lamina propria*.

Le prétraitement des coupes par l'acide acétique ne modifie pas leurs affinités tinctoriales excluant donc la présence de carbonates.

Recueil d'acide urique par perfusion intraluminaire

La poche cæcale d'un même animal étant perfusée toutes les 24 heures, nous avons effectué 18 perfusions. Les quantités d'acide urique recueillies après chacune de ces expériences est de l'ordre de 0,5 à 1 mg d'acide

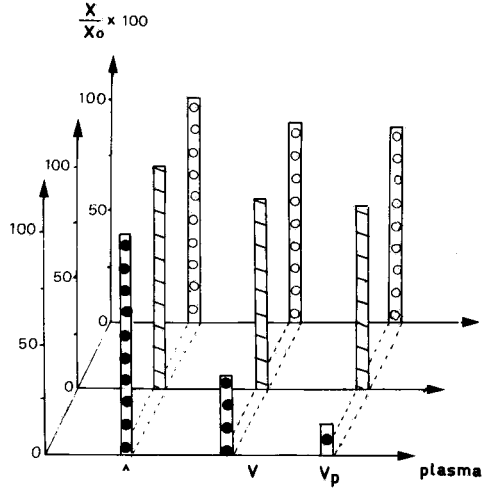


Figure 1
Variations relatives des concentrations plasmatiques au niveau du cæcum opéré.
Les valeurs des concentrations dans les sangs veineux du cæcum résiduel et de la poche (x) sont exprimées en fonction de la concentration artérielle x_0 selon la relation :

$$\frac{x}{x_0} \times 100$$

- A sang artériel.
VT sang veineux du cæcum résiduel.
VP sang veineux de la poche.
○○○ phosphate
/// urée
●●● acide urique.

urique par 24 heures.

Chez les 6 animaux utilisés pour ces perfusions, la teneur du plasma était en moyenne de 20 mg ($23 \pm 2,3$ mg/litre). Celle de l'urine, de 200 mg (206 ± 68 mg/litre), donc sensiblement 10 fois supérieure à la concentration plasmatique.

Sécrétion pariétale

La mesure de la radioactivité du chrome permet de connaître les mouvements de l'eau de part et d'autre de la paroi. Dans nos expériences, le plus souvent, on observe une sécrétion d'eau. L'importance volumétrique de cette sécrétion est variable, probablement parce qu'elle représente la résultante du flux entrant et du flux sortant de la cavité de la poche cæcale.

Discussion

Les données acquises sur le métabolisme de l'acide urique chez l'homme (Seegmiller et al., 1967) montrent que sa production est directement liée à la synthèse des nucléotides puriques. Ceci explique la présence

d'acide urique dans la plupart des fluides du corps humain comme la lymphe, le liquide cérébro-spinal, le liquide amniotique, l'humeur aqueuse de l'œil, la sécrétion pancréatique, la bile, la salive, etc. (Altman et Dittmer, 1961).

Les techniques de dilution isotopique (Cartier et Hamet, 1973) montrent que, chez l'homme, la quantité d'acide urique que l'on retrouve dans les urines ($420 \text{ mg} \pm 75$ par 24 heures) est très inférieure à la quantité d'acide urique synthétisée chaque jour par l'organisme (695 mg environ). Les auteurs supposent qu'une grande partie de l'acide urique manquant pénètre, avec les sécrétions digestives, dans la lumière intestinale. Il y serait hydrolysé par les uricases bactériennes et transformé en ammoniacque, allantoïne et urée.

On peut s'étonner de la rareté, pour ne pas dire l'absence, de références bibliographiques relatives à la présence d'acide urique dans le contenu digestif ou les fèces. Peut-être que l'activité des uricases bactériennes entraîne une trop rapide disparition de l'acide urique? (Cole et Wiseman, 1971). A moins que les techniques de dosages de cette substance, souvent remises en question à cause de leur faible spécificité, ne soient pas adaptées à ce type de matériel biologique.

Excrétion cœcale de l'acide urique

Les concentrations plasmatiques de l'acide urique que nous trouvons dans le sang artériel du lapin, sont du même ordre de grandeur que dans le plasma humain normal : 26 à 75 mg par litre d'après les données de Altman et Dittmer (1961).

Par contre, l'abaissement de concentration de l'acide urique dans le sang veineux, issu du cæcum opéré, nous paraît être un fait original. La présence de cristaux d'urates dans les entérocytes, et le recueil d'acide urique dans la cavité de la poche traduisent une excrétion à ce niveau.

Si l'on regarde l'aspect quantitatif de nos résultats, en évaluant à 100 ml le volume urinaire émis en 24 heures par nos animaux, on peut dire que la quantité d'acide urique excrétée journellement par le rein est de 20 mg. Dans le même temps, nous avons recueilli dans la cavité de la poche une quantité 20 à 40 fois moindre.

Compte tenu du faible pouvoir de dissolution qui caractérise l'acide urique, il est probable que nos conditions expérimentales de perfusion, dont la durée est seulement d'une heure par 24 heures, ne sont pas très favorables à son élimination. Un flux liquide constamment renouvelé et l'action des uricases microbiennes, sont autant de facteurs qui pourraient, dans un cæcum normal, accélérer l'élimination des urates susceptibles de précipiter dans les entérocytes.

Rôle du cæcum dans la détoxication

On peut donc penser que la part qui revient au cæcum, dans l'excrétion de l'acide urique, n'est pas négligeable.

Bien que les différences artério-veineuses soient plus faibles que pour l'acide urique, nous avons constaté également une diminution de l'urée plasmatique.

Ces deux faits nous amènent à attribuer au cæcum du lapin un rôle dans l'épuration sanguine.

On peut regretter que les nombreux essais de dialyse intestinale réalisés sur d'autres animaux et sur l'homme (Maluf, 1948 ; Meyer *et al.*, 1962 ; Hamburger *et al.*, 1970 ; Laplace *et al.*, 1971) n'aient jamais été effectués sur le cæcum.

Conclusion

Une poche cœcale isolée du reste de l'organe, privée de contenu digestif et convenablement irriguée, accumule de l'acide urique dans sa paroi.

Les variations de la concentration plasmatique dans l'artère et les veines cœcales, montrent que cet acide urique ne provient pas directement du catabolisme purique des cellules de la paroi qui assure une réparation tissulaire probablement importante.

Nous pensons que ce dépôt d'urates dans les entérocytes est la conséquence du déséquilibre provoqué par la suppression du drainage intestinal et d'une flore uricolytique.

Il serait intéressant de généraliser ce pouvoir excréteur du cæcum en essayant d'exalter le mécanisme afin d'envisager l'usage de la perfusion cœcale, comme émonctoire de remplacement quand le système rénal devient déficient.

(Accepté pour publication en octobre 1976.)

Résumé

L'acide urique est recherché dans le plasma, la paroi et la cavité d'une poche cæcale. Le cæcum résiduel qui conserve ses relations avec le reste du tube digestif est pris pour référence. Une étude biochimique du plasma et du liquide de perfusion intraluminaire est complétée par une étude histologique des tissus pariétaux.

Références

- ALTMAN P.L., DITTMER D.S., 1961. *Blood and other body fluids*. 1 vol., 540 p. Fed. Am. Soc. Exp. Biol. Washington D.C.
- CARAWAY W.T., 1963. Uric acid. *St. Meth. Clin. Chem.*, **4**, 239-247.
- CARTIER P., HAMET M., 1973. Le métabolisme normal de l'acide urique. — *Actual nephrol. Hop. Necker*, 7-31.
- COLE J.S., WISEMAN R.F., 1971. Levels of uric acid in the intestinal tracts of germ free, gnotobiotic, and conventional mice. — *Metabolism*, **20**, 278-279.
- de GALANTHA A., 1935. Technic for preservation and microscopic demonstration of nodules in goat. — *Amer. J. Clin. Pathol.*, **5**, 165-166.
- HAMBURGER J., DONOVSKI L., MARCHE Cl., 1970. Sur une technique de préparation d'une anse intestinale chez le rat pour l'étude de la dialyse du jéjunum comme traitement de l'urémie. — *Pathol. Biol.*, **18**, 403-406.
- KRAML M., 1966. A semi automated determination of phospholipids. — *Clin. Chem. Acta*, **13**, 442-448.
- LAPLACE J.P., LACHAND A.T., MASSON M., 1971. Epuration sanguine extra-rénale. Mise au point chez le porc de la dialyse intestinale comme traitement de l'urémie. Premières observations sur l'animal anéphrique. — *Rec. Méd. Vét.*, **10**, 1079-1104.
- LENG E., 1974. *Tagesrhythmische vorgänge im Blinddarm des Käninchens in beziehung sur bildung und atgade von cæcotrophe*. — Thèse Univers. Hohenheim. Stuttgart.
- MALUF N.S.R., 1948. Clearance de l'urée par perfusion de l'intestin grêle chez l'Homme. — *J. Urol.*, **60**, 307-315.
- MARSH W.L., FINGERHUT B., MILLER H., 1965. Automated and manual direct method for the determination of blood urea. — *Clin. Chem.*, **11**, 624-627.
- MARTY J., LAVARDE M.A., RAYNAUD P., 1976. Etude, chez le Lapin, du métabolisme des acides aminés dans la paroi d'une poche cæcale isolée. — *Ann. Biol. anim. Bloch. Biophys.*, **16**, 85-95.
- MEYER R.E.R., COHEN W.D., SOLIS J.R., LEBEAU R.J., 1962. Jejunal dialysis. I : The effect in the dog of local iodoacetate (I.A.A.) on the dialysis of urea, creatinine, inorganic phosphorus and xylose. — *Metabolism*, **11**, 999-1015.
- MUSSER A.W., ORTIGAZA C., 1966. Automated determination of uric acid by the hydroxylamine method. — *Tech. Bull. Regist. Méd. Tech.*, **36**, 21-25.
- SCHULTZ A., SCHMIDT W., 1931. Histologische Darstellungs methoden der Harnsäure und der Urate. — *Virch. Arch. Pathol. Anat. Physiol. Klin. Med.*, **280**, 529-533.
- SEEGMILLER J.E., ROSENBLUM F.M., KELLY W.N., 1967. An enzyme defect associated with a sex linked human neurological disorder and excessive purine synthesis. — *Science* **155**, 1682.