



AVERTISSEMENT

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

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

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

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

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

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

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

THÈSE

Effets de l'aluminium sur l'activité de la cholineacétyltransférase cérébrale et sur la nutrition chez le Rat en développement

Présentée devant l'Université de Metz
pour obtenir le Diplôme de Doctorat d'Université

Spécialité : Toxicologie

par

Gilbert CHERRORET

soutenue le 25 novembre 1992

Membres du jury :

Dr. P.R. LEHR, Directeur de Recherche CNRS, Metz : Président
Pr. D. BURNEL, Université de Nancy I : Rapporteur
Pr. J.M. HAGUENOER, Université de Lille : Rapporteur
Dr. B. CAPOLAGHI, Chef de Service au CHR de Metz-Thionville
Dr. T. DRUEKE, Directeur de Recherche INSERM, Hopital Necker, Paris
Dr. J.M. KELLER, Ingénieur CNRS, Université de Nancy I
Pr. P. VASSEUR, Université de Metz.

BIBLIOTHEQUE UNIVERSITAIRE - METZ	
N° inv.	19920735
Cote	S/M ₃ 92/32
Loc	Mapash

A toi Maryvonne,

Sans ton immense compréhension, ce travail n'aurait pas été possible,

A toi Nicolas,

A toi Joseph.



AVANT-PROPOS

Les travaux dont les résultats sont exposés dans ce mémoire ont été effectués au laboratoire de Neurotoxicologie du Centre des Sciences de l'Environnement (Université de Metz).

Ma reconnaissance s'adresse, en tout premier lieu, à Monsieur le Docteur P.R. LEHR, Directeur de Recherche CNRS. Monsieur LEHR qui m'a accueilli dans son laboratoire, a fait naître mon intérêt pour la recherche. Il m'a guidé avec beaucoup de compétence pendant tout ce travail.

Je tiens à remercier tout particulièrement Monsieur le Professeur D. BURNEL, de la Faculté de Médecine de Nancy, pour tous les dosages qu'il a réalisés dans son laboratoire et pour avoir accepté d'être rapporteur de cette thèse.

Ma gratitude s'adresse également à Monsieur le Professeur J.M. HAGUENOER pour avoir accepté d'être rapporteur de cette thèse.

Je suis heureux de pouvoir remercier le Docteur B. CAPOLAGHI, Chef de service au CHR de Metz-Thionville, qui m'a accueilli de nombreuses fois dans son laboratoire pour y effectuer des dosages.

Monsieur le Docteur J.M. KELLER, Ingénieur CNRS dans le laboratoire de Biologie Cellulaire du Professeur DAUCA, m'a offert la possibilité de réaliser des expériences complémentaires. Je le prie de trouver ici, l'expression de ma reconnaissance.

Je souhaite exprimer ma gratitude au Docteur T. DRUEKE, Directeur de Recherche INSERM à l'Hôpital Necker qui m'a appris la technique de néphrectomie dans son laboratoire.

Que Madame le Professeur P. VASSEUR, Responsable du Centre des Sciences de l'Environnement, soit remerciée pour avoir accepté de faire partie de ce jury.

Je suis très reconnaissant au Docteur D. DESOR, Maître de Conférences à l'Université de Nancy I, pour m'avoir donné de précieux conseils en statistiques.

Je suis vraiment très heureux d'affirmer que dans tous les laboratoires cités ci-dessus, j'ai été accueilli avec une extrême bienveillance et une extrême gentillesse.

Je dois adresser, dans mes remerciements, une mention toute particulière à la Fondation pour la Recherche Médicale, Comité Lorraine, qui a financé l'essentiel de ce travail.

Enfin, je ne voudrai pas oublier Madame C. DESPORTES pour la dactylographie et Monsieur M. RIBETTE pour la réalisation des documents audiovisuels.

LISTE DES TRAVAUX

Participation à des congrès :

- KELLER J.M., CHERRORET G., COLIN S., DAUÇA M. and LEHR P.R. (1989).
Evaluation of the elements of intestinal epithelial cells in rat during pre- and postnatal development by X-ray microanalysis (Poster). Journée Scientifiques du CEIMED, Nancy, 3-4 octobre 1989.
- KELLER J.M., CHERRORET G., MULLER G., COLIN S., DURAND I., DAUÇA M. and LEHR P.R. (1991). Evaluation of the elements in the intestinal epithelial cells of rat during the development by X-ray microanalysis (Poster). Colloque Société de Biologie Cellulaire de France, Rouen, 23-25 septembre 1991.
Résumé publié dans la revue : *Biology of the Cell*, vol 73, 1991.
- BERNUZZI V., MULLER G., CHERRORET G., DESOR D. and LEHR P.R. (1991).
Conséquences d'une exposition aluminique sur le comportement et la CAT cérébrale chez le rat. 59e réunion de l'Association des Physiologistes, Nancy, 23-25 septembre 1991.
Résumé publié dans la revue : *Archives Internationales de Physiologie de Biochimie et de Biophysique*, vol 99, 1991.

Publications :

- CHERRRET G., BERNUZZI V., DESOR D., HUTIN M.F., BURNEL D. and LEHR P.R. (1992). Effects of postnatal aluminum exposure on CAT activity and learning abilities in the rat.
Neurotoxicol. Teratol., 14, 259 - 264.
- CHERRRET G., DESOR D. and LEHR P.R. *In vitro* effect of aluminum chloride on the choline acetyltransferase activity of the Rat brain during postnatal growth.
Soumis pour publication à la revue *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*
- KELLER J.M., CHERRORET G., COLIN S., DURAND I., DAUÇA M. and LEHR P.R.
Evaluation of the elements in the intestinal epithelial cells of rat during development : an X-ray microanalysis study.
Soumis pour publication à la revue *Europ. Arch. Biol.*, Bruxelles.

SOMMAIRE

ABREVIATIONS	1
<u>INTRODUCTION</u> : L'Aluminium : principales sources d'exposition, métabolisme et toxicité.....	4
1 PRINCIPALES SOURCES D'EXPOSITION.....	5
1.1 Exposition aux composés aluminiques présents à l'état naturel dans les écosystèmes.....	5
1.1.1. L'aluminium contenu dans les roches et dans le sol	5
1.1.2 L'aluminium présent dans les eaux de surface.....	5
1.2 Expositions liées aux utilisations industrielles.	7
1.3 Expositions liées aux usages pharmaceutiques.....	7
2 METABOLISME.....	8
2.1 Pénétration dans l'organisme.....	8
2.1.1 Pénétration par la voie pulmonaire.....	8
2.1.2 Pénétration par la voie digestive.....	9
A Etudes cliniques.....	10
a . Chez l'adulte	10
b. Chez l'enfant et le nourrisson.....	11
B. Travaux expérimentaux	14
a. La quantité d'aluminium absorbée dépend de l'importance de la fraction se trouvant à l'état soluble dans l'intestin.	14
b. L'absorption se fait en deux temps.....	16
c. Au cours de l'absorption, l'aluminium entre en compétition avec différents ions.....	16
2.1.3. Pénétration par la voie parentérale	20
A Entrée par la voie intraveineuse (I.V.)	20
a. Plasmaphérèse.....	20

b . Nutrition parentérale	20
B. L'hémodialyse et la dialyse péritonéale	21
2.2. Transport par le sang	23
2.3 Elimination	24
2.3.1. Fécale.....	24
2.3.2. Urinaire.....	24
2.3.3. Autres voies d'élimination.....	25
2.4. Mobilisation et fixation de l'aluminium par les tissus	26
2.4.1. Taux d'aluminium dans les organes.....	26
A. Chez les individus d'une population saine.....	26
B. Chez les individus soumis à une intoxication chronique	27
2.4.2. Localisation intracellulaire.....	28
2.4.3. Mécanisme de la concentration de l'aluminium dans les tissus.....	30
A. Rôle du fer.....	30
B- Autres composés connus pour favoriser la fixation tissulaire	31
3. TOXICITE DE L'ALUMINIUM.....	31
3.1. Maladies provoquées par une intoxication aluminique	31
3.1.1. L'encéphalopathie progressive des dialysés (E.P.D.).....	32
A. Troubles cliniques	32
B. Troubles paracliniques.....	32
C. Histopathologie.....	33
D. Atteinte des neurotransmetteurs	33
3.1.2. L'ostéomalacie.....	34
3.1.3. Traitement des intoxications à l'aluminium.....	34
3.2. Maladies d'étiologie inconnue et dont l'une des causes pourrait être l'aluminium.....	37
3.2.1. La maladie d'Alzheimer	37
A. Pathologie	37
a. Troubles cliniques.....	37

b. Histopatologie	37
c. Anomalie des neurotransmetteurs	39
d. Autres anomalies	43
B. Causes possibles.....	44
a. L'hypothèse aluminique	44
b. L'origine virale et l'origine alimentaire	48
c. L'origine génétique	49
d. L'altération du métabolisme	50
3.2.2. La sclérose amyotrophique latérale.....	53
4. MECANISMES D'ACTION DE L'ALUMINIUM	54
4.1. L'aluminium modifie la conformation d'un certain nombre de molécules.....	54
4.2. L'aluminium modifie l'activité d'hormones, d'enzymes ou de médiateurs d'enzymes.....	55
4.3 L'aluminium modifie la perméabilité des membranes à un certain nombre de composés	56
BUT DU TRAVAIL	58
<u>PREMIERE PARTIE</u> : Etude in vitro de l'effet du chlorure d'aluminium sur l'activité de la choline acétyltransférase chez le Rat au cours du développement	59
INTRODUCTION	60
1 MATERIEL ET METHODE.....	61
1.1 Animaux.....	61
1.2 Principe de la méthode.....	61
1.3 Mode opératoire.....	62
1.3.1 Dissection du cerveau basal antérieur et du	

neostriatum.....	62
1.3.2 Homogénéisation.....	62
1.3.3 Activation de l'homogénat	62
1.3.4. Incubation de l'enzyme.....	62
1.3.5 Détermination de la radioactivité.....	63
1.3.6 Evaluation de l'activité spécifique de l'enzyme	64
2 PROTOCOLE EXPERIMENTAL.....	64
2.1 Expérience préliminaire	
évaluation de l'activité spécifique de l'enzyme au cours du	
développement.....	64
2.2. Expérience 1	
Effet de concentrations croissantes en aluminium sur	
l'activité de la CAT au cours du développement.....	64
2.3. Expérience 2	
Effet du pH sur l'activité de la CAT au cours du	
développement.....	65
3. RESULTATS	65
3.1 Variation de l'activité de la CAT en fonction de l'âge	65
3.2 Effet de l'aluminium sur l'activité de la CAT.....	66
3.3 Effet du pH sur l'activité de la CAT.....	66
4.DISCUSSION	68
4.1 Variation de l'activité de la CAT en fonction de l'âge	68
4.2. Effets de l'aluminium sur l'activité de la CAT.....	70
4.3. Effet du pH sur l'activité de la CAT.....	73

DEUXIEME PARTIE : Intoxications aluminiques

par voie orale	74
-----------------------------	-----------

Chapitre 1. Etude de l'effet d'intoxications aluminiques prénatales sur le Rat en développement	75
--	-----------

INTRODUCTION	75
---------------------------	-----------

1 MATERIEL ET METHODE.....	75
-----------------------------------	-----------

1.1 Origine et caractères des femelles.....	75
---	----

1.2. Intervention chirurgicale	75
--------------------------------------	----

1.3 Protocole	77
---------------------	----

1.3.1. Première expérience.....	77
---------------------------------	----

A. Répartition des femelles en quatre lots.....	77
---	----

B. Intoxication	78
-----------------------	----

1.3.2. Expérience complémentaire	78
--	----

1.3.3. Suivi des mères et de leurs jeunes.....	78
--	----

1.4.Méthodes de dosage.....	79
-----------------------------	----

1.4.1 Dosage de la créatinine.....	79
------------------------------------	----

1.4.2. Dosage de l'aluminium.....	79
-----------------------------------	----

A. Principe de l'appareil	80
---------------------------------	----

B Les avantages de la méthode.....	80
------------------------------------	----

C. Etalonnage de l'appareil.....	80
----------------------------------	----

D Dosage des échantillons.....	81
--------------------------------	----

1.4.3. Evaluation de l'activité de la CAT	81
---	----

2. RESULTATS ET DISCUSSION	81
---	-----------

2.1. Evolution pondérale des animaux entre l'opération et le début de l'intoxication	
résultats et commentaire	81

2.2 Evaluation de la créatinine sérique des rates	
résultats et commentaire.	82

2.3. Evolution pondérale et masse de nourriture ingérée durant le traitement	83
2.3.1. Résultats	83
A. Gain de poids.....	83
B. Masse de nourriture ingérée	84
2.3.2. Discussion.....	85
2.4 Quelques observations sur la gestation et sur les jeunes rats à la naissance	86
2.4.1. Taux de fécondité et durée de la gestation	86
2.4.2. Taille des portées et poids des jeunes à la naissance.....	87
2.5. Teneur en aluminium	89
2.5.1. Aluminémie des mères au 20ème jour de gestation.....	89
2.5.2. Concentrations en aluminium dans le cerveau et le foie des rats âgés de 2 et 7 jours	90
2.5.3. Concentrations en aluminium plasmatique chez les rats âgés de 14 jours.....	92
2.5.4. Concentrations en aluminium plasmatique chez les mères 14 jours après la parturition.	93
2.6. Activités de la CAT chez les jeunes	94
3. CONCLUSION générale sur les effets d'une intoxication prénatale par voie orale.....	96
 Chapitre 2. Etude de l'effet d'intoxications aluminiques postnatales précoces sur le Rat en développement.....	 97
 1 MATERIEL ET METHODE.....	 98
1.1 Animaux.....	98
1.2. Protocole d'intoxication.....	98

1.3. Mesures et analyses.....	99
2. RESULTATS ET DISCUSSION	100
2.1 Premières expériences	
dosages d'aluminium et activité de la CAT cérébrale	100
2.1.1. Intoxication au lactate d'aluminium	101
A. Teneurs en aluminium du plasma et des homogénats hépatiques et cérébraux.....	101
a. Résultats.....	101
b. Discussion.....	102
B. Activité de la CAT.....	103
b. Résultats	103
c. Discussion	104
2.1.2. Intoxication au chlorure d'aluminium	104
A. Teneurs en aluminium du plasma et des homogénats hépatiques et cérébraux.....	104
a. Résultats.....	104
b. Commentaire	105
B. Activité de la CAT.....	105
a. Résultats.....	105
b. Commentaire	106
2.2 Seconde expérience	
évolution pondérale, dosages des variables biologiques et séparation des protéines plasmatiques.....	106
2.2.1. Effet du chlorure et du lactate d'aluminium sur l'évolution pondérale.....	106
A. Résultat des mesures.....	106
B. Discussion.....	108
2.2.2. Dosage de quelques variables plasmatiques.....	109
A. Résultats.....	109
B. Commentaires.....	111
2.2.3. Etude des protéines plasmatiques.....	113
A Résultats	113
B. Commentaire	117

3. CONCLUSION sur les effets de l'intoxication au chlorure et au lactate d'aluminium du jeune rat au stade postnatal précoce.	118
--	------------

Chapitre 3. Etude de l'effet d'intoxications aluminiques par voie orale chez le Rat adulte	120
---	------------

1. INTOXICATION PAR INTUBATION GASTRIQUE	120
---	------------

1.1. Matériel et méthodes	120
1.1.1 Animaux	120
1.1.2. Protocole d'intoxication	120
1.1.3. Mesures et analyses	122

1.2. Résultats et discussion	122
------------------------------	-----

1.2.a Intoxication au lactate d'aluminium	122
---	-----

1.2.1. Teneurs en aluminium du plasma et des homogénats hépatiques et cérébraux	122
---	-----

A. Résultats	123
--------------	-----

B. Commentaire	123
----------------	-----

1.2.2. Activité spécifique de la CAT	124
--------------------------------------	-----

A. Résultats	124
--------------	-----

B. Commentaire	125
----------------	-----

1.2.3. Evolution pondérale et masse de nourriture ingérée	125
---	-----

A. Résultat des mesures	125
-------------------------	-----

B. Commentaire	126
----------------	-----

1.2.4. Dosage de quelques variables plasmatiques	126
--	-----

A. Résultats	126
--------------	-----

B. Commentaire	127
----------------	-----

1.2.b. Intoxication au chlorure d'aluminium	128
---	-----

1.2.1. Teneurs en aluminium du plasma et des homogénats hépatiques et cérébraux	128
---	-----

A. Résultats	129
--------------	-----

B. Commentaire	129
----------------	-----

1.2.2. Activité de la CAT	129
---------------------------	-----

A. Résultats.....	129
B. Commentaire	129
1.2.3. Evolution pondérale et masse de nourriture ingérée	
.....	129
A. Résultat des mesures.....	129
B. Commentaire	130
1.2.4. Dosage de quelques variables plasmatiques.....	130
A. Résultats.....	130
B. Commentaire	131
C. Conclusion.....	131
2. INTOXICATION PAR LA NOURRITURE.....	134
2.1. Matériel et méthode.....	135
2.1.1. Animaux.....	135
A. Origine et caractères.....	135
B. Chirurgie	135
2.1.2. Protocole d'intoxication.....	135
2.1.3. Mesures et analyses.....	136
A. Types de mesures et d'analyse	136
B. Techniques employées	136
2.2. Résultats et discussion	137
2.2.1. Evolution pondérale entre le jour de l'opération et le début de l'intoxication	137
2.2.2. Evolution pondérale et masse de nourriture ingérée durant l'intoxication.....	137
A. Résultats des mesures.....	137
B. Discussion.....	139
2.2.3. Evolution du taux de créatinine sérique résultat et commentaire.....	140
2.2.4. Dosage de l'aluminium.....	141
A. Taux aluminiques dans le plasma, les structures cérébrales et le foie	141
a. Résultats de mesures	141
b. Discussion.....	143
B. Taux d'aluminium urinaire.....	145
b. Résultat des mesures.....	145

c. Commentaire.....	146
2.2.5. Activité de la CAT.....	146
A. Résultat.....	146
B. Commentaire	146

Chapitre 4. Evaluation des éléments constitutifs des cellules épithéliales intestinales par microanalyse de rayons X au cours du développement, de la gestation, de la lactation, et suite à une intoxication orale par un sel d'aluminium	148
---	------------

INTRODUCTION.....	148
--------------------------	------------

1. MATERIEL ET METHODE	148
-------------------------------------	------------

1.1. Animaux.....	149
-------------------	-----

1.2. Intoxication.....	149
------------------------	-----

1.3. Microanalyse de rayon X.....	149
-----------------------------------	-----

1.3.1. Prélèvement et préparation des échantillons.....	149
---	-----

1.3.2. Détection des éléments	150
-------------------------------------	-----

A. Le spectre	150
---------------------	-----

B. L'image X.....	151
-------------------	-----

2. RESULTATS	152
---------------------------	------------

2.1. Variation des principaux éléments chimiques de l'épithélium intestinal durant le développement pré et post-natal.....	152
--	-----

2.1.1. Evolution de la minéralisation.....	152
--	-----

2.1.2. Evolution de la concentration des éléments.....	152
--	-----

2.1.3. Distribution des éléments.....	154
---------------------------------------	-----

2.2. Variation des principaux éléments chimiques de l'épithélium intestinal chez la femelle vierge, la femelle gestante et la femelle en lactation.....	155
---	-----

2.2.1. Minéralisation chez la femelle gestante et la femelle en lactation.....	155
--	-----

2.2.2. Concentration des éléments chez la femelle gestante et chez la femelle en lactation.	155
--	-----

2.2.3. Distribution des éléments chez la femelle gestante, la femelle en lactation et la femelle vierge.....	156
2.3. Impact des intoxications aluminiques sur la concentration des principaux éléments.....	158
3. DISCUSSION.....	158
 <u>TROISIEME PARTIE : intoxications aluminiques</u>	
par voie intrapéritonéale.....	162
 Chapitre 1. Cinétique des taux sanguins d'aluminium chez le Rat jeune et adulte après une injection IP unique de chlorure d'aluminium	
	163
INTRODUCTION	163
1 MATERIEL ET METHODE.....	163
1.1 Les animaux.....	163
1.2. L'intoxication	164
1.2.1. Rats adultes.....	164
1.2.2. Rats jeunes.....	164
1.3. Les dosages.....	165
2. RESULTATS	165
2.1. Evolution de l'aluminémie chez le jeune rat.....	165
2.2. Evolution de l'aluminium plasmatique et urinaire chez le rat adulte.	165
3. DISCUSSION.....	166
 Chapitre 2. Effet d'une intoxication aiguë unique de chlorure d'aluminium par voie IP sur l'activité de la CAT	

chez le Rat jeune et adulte.....	169
---	------------

INTRODUCTION.....	169
--------------------------	------------

1. MATERIEL ET METHODE.....	169
------------------------------------	------------

1.1. Animaux.....	169
-------------------	-----

1.2. Protocole d'intoxication.....	170
------------------------------------	-----

1.3. Mesures et analyses.....	170
-------------------------------	-----

2. RESULTATS.....	171
--------------------------	------------

2.1. Rats âgés de 15 jours.....	171
---------------------------------	-----

2.1.1. Concentration en Al du plasma et de l'homogénat cérébral.....	171
---	-----

2.1.2. Activité spécifique de la CAT.....	171
---	-----

2.2. Rats adultes.....	172
-------------------------------	------------

2.2.1. Concentration en Al du plasma et de l'homogénat cérébral.....	172
---	-----

2.2.2. Activité spécifique de la CAT.....	173
---	-----

3. DISCUSSION.....	173
---------------------------	------------

Chapitre 3. Effets d'intoxications "subaiguës" au chlorure d'Al administré par voie IP chez le Rat adulte.....	175
---	------------

INTRODUCTION.....	175
--------------------------	------------

1. MATERIEL ET METHODES.....	175
-------------------------------------	------------

1.1. Animaux.....	175
-------------------	-----

1.1.1. Origine, caractères et conditions d'élevage.....	175
---	-----

1.1.2. Intervention chirurgicale.....	176
---------------------------------------	-----

1.2. Protocole.....	176
---------------------	-----

1.2.1. Première expérience.....	176
A. Répartition des rats en 4 lots.....	176
B. Intoxication.....	176
C. Suivi durant l'intoxication.....	177
D. Mesures et analyses 24 h après le fin du traitement	177
1.2.2. Seconde expérience.....	177

2. RESULTATS ET DISCUSSIONS.....178

2.1. Première expérience.....	178
2.1.1. Evolution pondérale des rats au cours des 15 jours précédant le traitement.....	178
A. Résultat des mesures.....	178
B. Commentaire	179
2.1.2. Evolution pondérale et masse de nourriture ingérée durant le traitement	179
A. Résultats des mesures.....	179
B. Discussion.....	180
2.1.3. Dosages de quelques variables plasmatiques liées à la nutrition	182
A. Résultats.....	182
B. Discussion.....	183
2.1.4. Séparation des protéines plasmatiques par électrophorèse.....	184
2.1.5. Diurèse et quantité d'eau ingérée au cours du traitement.....	185
A. Résultat des mesures.....	185
B. Discussion.....	187
2.1.6. Quantité d'aluminium éliminée quotidiennement dans l'urine	188
A. Résultats.....	188
B Discussion.....	188
2.1.7. Concentration en Al du plasma et des homogénats hépatiques et cérébraux	189
A. Résultats.....	189
B. Discussion.....	191

2.1.8. Activité de la CAT cérébrale	194
A. Résultats	194
B. Discussion	194
2.2. Seconde expérience	197
2.2.1. Masse de nourriture ingérée et évolution pondérale résultats et commentaire	197
2.2.2. Concentrations en Al du plasma et des homogénats hépatiques et cérébraux résultats et commentaire	197
2.2.3. Dosage de quelques variables plasmatiques résultat et commentaire	198
2.2.4. Activité de la CAT cérébrale résultat et commentaire	199
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	201
BIBLIOGRAPHIE	205

ABBREVIATIONS

Ach	acétylcholine
AchE	acétylcholinestérase
ADN	acide désoxyribonucléique
ANOVA	analyse de variance
BHE	barrière hémocéphalique
CAT	cholineacétyltransférase
CMA	concentration maximale admissible
coll.	collaborateurs
c.p.m.	coups par minute
DBH	dopamine bêta hydroxylase
DFO	desferrioxamine
d.p.m.	désintégrations par minute
DTA	démence de type Alzheimer
EEG	électroencéphalogramme
EPD	encéphalopathie progressive des dialysés
g	gramme
GABA	acide γ aminobutyrique
h	heure
IP	intrapéritonéale

IV	intraveineuse
j	jour
Kd	kilodalton
KV	kilovolt
KEV	kiloélectrovolt
M	molaire
M/l	mole par litre
mCi	millicuries
mg	milligramme
ml	millilitre
mM	millimolaire
mV	millivolt
min	minute
NBM	noyau basal de Meynert
NEN	New England Nuclear
NGF	facteur de croissance des nerfs
nmoles	nanomoles
NS	non significatif
p	probabilité d'erreur
pA	picoampère
ppm	partie par million

PRA	phospharibosylamine
PRPP	phosphoribosyl-pyrophosphate
PTH	parathormone
P/V	poids / volume
PLSD	test "Least significant difference" de Fisher (Winer 1971)
μg	microgramme
μl	microlitre
μmole	micromole
SAL	sclérose amyotrophique latérale
TBHB	acide hydroxy 3 tribomo 2 4 6 benzoïque

•

Introduction

**L'Aluminium : principales sources d'exposition,
métabolisme et toxicité**

1 PRINCIPALES SOURCES D'EXPOSITION

1.1 Exposition aux composés aluminiques présents à l'état naturel dans les écosystèmes

L'aluminium est souvent présent dans l'eau et se retrouve ainsi dans tous les réseaux alimentaires.

1.1.1. L'aluminium contenu dans les roches et dans le sol

L'écorce terrestre renferme 8,13% d'aluminium ; c'est le troisième élément après l'oxygène et le silicium. Il occupe la première position parmi les métaux, bien avant le fer (5,1%). L'ion Al^{3+} est un composant majeur d'un grand nombre de minéraux présents dans les roches et dans le sol : Silicates d'aluminium (Kaolin, argiles), Oxyde d'aluminium (bauxite), silicoaluminates (feldspath, micas, zéolithes). A cause de sa petite taille (son rayon ionique n'est que de 0,54 Å d'après Martin 1986) et de son haut potentiel d'oxydoréduction (+1,66V), il attire fortement les anions, constituant ainsi des sels très stables.

1.1.2 L'aluminium présent dans les eaux de surface

La solubilité des composés précédents dépend du pH ; elle est faible lorsqu'il est neutre, mais augmente quand il devient acide ou basique.

Dans les solutions à pH inférieur à 5 Al^{3+} existe sous la forme octaédrique hexahydratée $\text{Al}(\text{H}_2\text{O})_6^{3+}$ subit des déprotonations successives pour donner $\text{Al}(\text{OH})_2^+$ puis $\text{Al}(\text{OH})_2^+$. Les solutions neutres donnent un précipité d'hydroxyde d'aluminium $\text{Al}(\text{OH})_3$ qui se redissout dans les solutions basiques, donnant naissance à des ions $\text{Al}(\text{OH})_4^-$.

Généralement, la concentration en Al^{3+} des eaux de surface est assez faible car le pH est assez proche de la neutralité. Mais elles peuvent être localement acidifiées par certains fertilisants du sol et surtout par les pluies acides. Ainsi, selon la nature du sol, selon le degré d'acidité des eaux de

pluies, ou encore selon la nature des plantes (les conifères sont acidifères) et selon la saison, la quantité d' Al^{3+} dissout dans les eaux peut varier de 10 $\mu\text{g/l}$ à 1000 $\mu\text{g/l}$ (Platts et coll 1977 ; Birchall et Chapell 1987).

L'aluminium à l'état soluble peut passer dans les différents niveaux de la chaîne trophique. L'acidité des lacs et des rivières, avec pour conséquence une augmentation de leur teneur en Al^{3+} dans les régions granitiques perturbe plus ou moins gravement le métabolisme des animaux. Malley et coll (1988) ont provoqué expérimentalement l'acidification d'un lac dans lequel ils ont ajouté de l'aluminium ; ils ont constaté une modification de la composition ionique du sang et des tissus du bivalve *Anodonta grandis grandis*.

En milieu acide, l'aluminium, lorsqu'il est abondant dans l'eau, entraîne la mort de l'amphipode *Hyaella azteca* (France et Stokes. 1987) et réduit la survie de certaines espèces de Poissons (Brown. 1983).

Lorsque le pH est supérieur à 7, l'aluminium repasse à l'état soluble et peut entraîner des effets comparables aux précédents. Par exemple l'éclosion des œufs du Poisson *Brachydanio rerio* est soit retardé, soit avancé suivant la concentration en aluminium (Dave. 1985).

Lorsqu'il est abondant dans la rhizosphère, il peut ralentir la croissance de certaines plantes. Godbald et coll. (1988) ont montré qu'il inhibe l'élongation racinaire de *Picea abies* en entrant en compétition avec l'absorption du calcium et du magnésium.

La quantité d'aluminium présente dans les feuilles de thé peut varier de 2 à 6 mg/l (Flaten et Ødegård). Dans trois régions du monde : la péninsule de Kii au Japon, le sud de l'île de Guam (Iles Mariannes) et l'ouest de la Nouvelle Guinée, la teneur en aluminium est importante à la fois dans le sol (il s'agit de bauxite), dans l'eau et dans certaines plantes alimentaires comme le riz. Or on a retrouvé dans ces régions des quantités importantes d'aluminium chez les malades atteints de démence parkinsonnienne et de sclérose amyotrophique latérale.

Les sels d'aluminium sont avec les sels de fer des réactifs utilisés lors des traitements de clarification des eaux de surface destinés à la préparation de l'eau de consommation, d'où une augmentation possible de la teneur en aluminium de celle-ci. Sa qualité est néanmoins très contrôlée dans la plupart

des pays du monde. En Europe, il existe actuellement des normes sur la teneur en aluminium dans les eaux suivant leur utilisation : soit, pour les eaux de consommation, un niveau guide de 50 µg/l et une concentration maximale admissible (CMA) de 200 µg/l (CEE ; loi du 15 juillet 1980). Cette CMA est la même que celle préconisée par l'Organisation Mondiale de la Santé dans son rapport publié en 1984 et intitulé : "Guide pour la qualité des eaux de boisson".

1.2 Expositions liées aux utilisations industrielles.

Le métal est employé seul ou dans des alliages pour diverses constructions; la poudre d'aluminium est utilisée dans certaines peintures ou en pyrotechnie.

L'alumine, l'alumine hydratée et les sels d'aluminium sont utilisés, selon leurs propriétés, en verrerie, en teinturerie, en céramique, dans les peintures, le tannage de peaux ...

L'homme est surtout exposé aux poussières ou aux fumées rejetées lors des différents procédés de fabrication (concassage, électrolyse, soudage...). Les dérivés organiques peuvent provoquer des brûlures cutanées. Enfin, les rejets industriels contaminent les écosystèmes.

1.3 Expositions liées aux usages pharmaceutiques

La propriété de l'aluminium à former des complexes insolubles avec les phosphates, associée à une absorption supposée très faible, a été utilisée en pharmacopée pour lutter contre l'hyperphosphatémie dont souffrent, en particulier, les insuffisants rénaux. Afin de réduire leur absorption de phosphates, on prescrit à ces malades de grandes quantités de gels d'alumine.

Les sels d'aluminium exercent une activité antiacide que l'on utilise pour soigner les ulcères à l'estomac. Les médicaments antiacides sont le plus souvent des mélanges de plusieurs substances connues pour s'opposer à l'acidité gastrique soit par neutralisation seule, soit par le combinaison d'action neutralisante et de pouvoir tampon ; le sel d'aluminium le plus utilisé est l'hydroxyde d'aluminium.

Malgré sa présence en grandes quantités dans l'environnement, l'aluminium n'avait jamais été reconnu comme toxique avant 1972. Berlyne et coll. (1972) font pour la première fois la démonstration expérimentale de la toxicité de l'aluminium. Alfrey et coll. (1976) découvrent que l'aluminium est directement responsable de l'encéphalopathie des dialysés. Quelques années plus tard Parkinson et coll. (1981) découvrent qu'il est également à l'origine de l'ostéomalacie et de l'anémie microcytaire, maladies qui précèdent généralement l'encéphalopathie.

Dans un premier temps, seul l'aluminium contenu dans l'eau de dialyse, alors non contrôlée, est incriminé. On sait depuis que les gels d'alumine prescrits aux malades urémiques sont aussi une source de contamination.

Actuellement l'aluminémie des dialysés est très contrôlée mais l'aluminium est maintenant soupçonné d'avoir une responsabilité dans deux maladies dont l'origine reste inconnue : la sclérose amyotrophique latérale et la démence de type Alzheimer.

Les données actuelles concernant la toxicité de l'aluminium seront envisagées après avoir décrit son métabolisme.

2 METABOLISME

2.1 Pénétration dans l'organisme

La pénétration transcutanée étant négligeable (Alfrey, 1983), les deux principales voies naturelles sont la voie pulmonaire et surtout la voie digestive.

2.1.1 Pénétration par la voie pulmonaire

La concentration atmosphérique en aluminium peut varier de 0,1 à 25 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ d'air suivant le lieu. Les personnes travaillant dans les industries de l'aluminium sont les plus exposées. Mc Laughlin et coll. (1962) citent le cas

d'un ouvrier décédé d'encéphalopathie et qui avait été exposé aux poussières d'aluminium pendant 13 ans et demi. Il était atteint d'une fibrose et des taux d'aluminium 18 fois supérieurs à la normale ont été trouvés dans ses poumons. Le pourcentage de cas pathologiques recensés est cependant très faible par rapport au nombre d'ouvriers travaillant dans l'industrie de l'aluminium.

Szczekocki et coll. (1978) ont trouvé une relation linéaire entre la concentration en oxyde d'aluminium dans l'air et la quantité d'aluminium présent dans le sérum d'ouvriers exposés à ces poussières d'alumine et également une relation linéaire entre l'aluminium sérique et l'aluminium urinaire. Sjögren et coll. (1983) ont abouti aux mêmes conclusions à partir d'études sur des ouvriers fabricant des poudres à base d'aluminium et de sulfate d'aluminium. La concentration urinaire en aluminium dépend à la fois de la durée de l'exposition et de la quantité d'aluminium présent dans l'air (Sjögren et coll. 1988).

Les poussières inhalées sont phagocytées par les macrophages alvéolaires et généralement dissoutes par des phagolysosomes. Le métal est ensuite libéré dans le sang (Berry et coll. 1978). Lorsque la quantité inhalée est très importante, il y a accumulation dans les poumons et le taux peut être alors dix à vingt fois supérieur au taux normal. Il se concentre préférentiellement dans le hile et les lobes supérieurs, et engendre presque toujours une fibrose.

Mussi et coll. (1984) démontrent, en réalisant des études chez des ouvriers exposés à l'aluminium, que celui-ci pénètre plus facilement au travers des poumons à l'état gazeux qu'à l'état de poussières.

2.1.2 Pénétration par la voie digestive

La quantité normalement ingérée peut varier de 10 à 100 mg d'aluminium par jour (Campbell et coll. 1957), dont 16 % serait présent à l'état naturel dans les aliments, 80 % proviendrait d'additifs et 4 % seulement de la contamination par les ustensiles de cuisine (Lee, 1989).

La quantité absorbée est très faible par rapport à la quantité ingérée car l'aluminium forme dans le tractus gastro-intestinal des complexes insolubles éliminés dans les fèces.

D'après Alfrey (1984), elle ne serait que de 15 µg/j. Mais chez les patients urémiques à qui l'on prescrit des gels d'alumine et chez les personnes atteintes d'ulcères à l'estomac qui prennent des antiacides, la quantité d'aluminium absorbée peut être beaucoup plus importante.

Berlyne et coll. (1970) avaient déjà décelé des taux élevés d'aluminium chez des insuffisants rénaux à qui l'on avait prescrit des résines d'aluminium par intermittence ; ils préconisaient alors de ne pas employer ce type de résine qui, selon eux, pouvait entraîner une hyperaluminémie chez 30 % des patients.

Depuis que l'aluminium est reconnu comme responsable des encéphalopathies progressives des dialysés (Alfrey et coll. 1976) les mécanismes de son absorption ont fait l'objet de nombreuses études chez l'Homme et de nombreux travaux expérimentaux chez l'animal.

A Etudes cliniques

Si l'absorption de l'aluminium par la voie digestive a été longtemps discutée, on sait aujourd'hui qu'elle n'est pas négligeable grâce, notamment, à de nombreuses études cliniques faites chez l'adulte et chez l'enfant.

a - Chez l'adulte

α Chez le sujet dont la fonction rénale est normale, une ingestion d'aluminium entraîne une hyperaluminurie

Recker et coll. (1977) évaluent le taux d'aluminium dans l'urine de sujets non urémiques avant et après un traitement oral au carbonate d'aluminium durant trois jours et montrent que ce taux peut augmenter de quatre à dix fois suivant les individus.

β Chez le sujet urémique non dialysé, l'ingestion d'aluminium entraîne une hyperaluminémie

Brahm (1986) compare le taux d'aluminium sérique chez des patients urémiques non dialysés avant et après traitement avec des gels d'alumine. Après 6 mois, l'aluminémie est de 35 µg/l alors qu'au début elle n'était que de 3 µg/l. de plus les taux varient suivant la dose journalière ingérée et augmentent nettement lorsque celle-ci est supérieure à 3 g. Enfin, comme

dans les travaux de Recker et coll., il y a des variations importantes d'une personne à l'autre.

γ Chez le sujet urémique, dialysé, l'ingestion d'aluminium entraîne une élévation de l'aluminémie.

Buge et coll. (1978) citent le cas d'une personne hémodialysée atteinte d'hyperphosphorémie à qui l'on a fait ingérer, en 43 mois, environ 3,12 kg d'aluminium métal sous forme d'hydrocarbonate d'alumine. L'apparition de signes d'encéphalopathie a entraîné l'interruption du traitement. Son aluminémie était alors de 300 µg/l. Après 9 mois d'interruption, les troubles ont disparu et l'aluminémie était retombée à 145 µg/l.

Campistol et coll. (1989) décrivent le cas d'un malade adulte urémique qui a développé une encéphalopathie après avoir pris de fortes doses d'antiacides sous forme de sucralfate (mélange de sulfate de sucrose et d'hydroxyde d'aluminium). Il avait été hémodialysé pendant trois ans auparavant. Son taux sérique d'aluminium est passé de 40 µg/l à 400 µg/l au bout de 30 jours de traitement.

Knoll et coll. (1984) font ingérer de l'hydroxyde d'aluminium à des patients volontaires dialysés et non dialysés. Une seule dose de 2,4 g entraîne une aluminémie dont la valeur maximale, atteinte entre une heure et six heures après la prise suivant les individus, est de 50 µg/l de sang pour les non dialysés et 70 µg/l pour les dialysés.

Si les cas d'encéphalopathie liés à la seule prise de sels d'aluminium sont assez rares chez l'adulte, il n'en va pas de même chez l'enfant et le nourrisson.

b Chez l'enfant et le nourrisson

α Chez les enfants urémiques dialysés par la technique de dialyse péritonéale ambulatoire-continue, la prise de gels d'alumine entraîne un hyperaluminémie.

Depuis une dizaine d'années, les enfants urémiques sont de plus en plus nombreux à être dialysés par la technique de la dialyse ambulatoire continue. Ce procédé ne permet pas de contrôler l'hyperphosphatémie, or celle-ci est

très élevée chez les plus jeunes qui ingèrent beaucoup de phosphates avec le lait. De ce fait, on leur donne de grandes quantités de gels d'aluminium.

Salusky et coll. (1984) rapportent les résultats d'un dosage sanguin effectué chez 16 enfants en dialyse péritonéale ambulatoire, dont l'âge varie de 1,5 à 14,2 années. Un groupe est dialysé durant $7,9 \pm 2,1$ mois et l'autre groupe pendant $16,6 \pm 2,3$ mois. Chaque groupe a pris respectivement 98 ± 20 et 104 ± 32 mg d'Al/kg/j sous forme d'hydroxyde ou de carbonate d'aluminium.

À la fin du traitement, l'aluminémie était de $52,2 \pm 11,4$ et $59,8 \pm 10,4$ µg/l comparé à $8,2 \pm 1,1$ µg/l chez les témoins ; elle a été corrélée avec la quantité ingérée, et inversement corrélée avec le poids corporel et l'âge. Les taux les plus élevés ont été trouvés chez les enfants les plus jeunes, non seulement parce qu'ils ingéraient davantage d'aluminium, mais sans doute aussi parce que leur barrière intestinale était plus perméable.

Milliner et coll. (1987), à partir d'études similaires, montrent aussi que l'aluminémie est corrélée avec la dose ingérée et que les enfants les plus jeunes ont les taux les plus élevés. Winney et coll. (1986) conseillent de ne pas dépasser la dose de 30 mg d'Al/kg/j chez les enfants et de 40 à 45 mg/kg/j chez les adultes, lorsqu'ils sont régulièrement dialysés. Cependant Salusky et coll. (1991) qui étudient l'évolution de l'aluminémie chez 70 enfants (moyenne d'âge : $14,1 \pm 3,7$ années) régulièrement dialysés par la voie péritonéale et qui ingèrent de l'hydroxyde d'aluminium à la dose de 30 mg d'Al/kg/j pendant 12 mois, trouvent des taux de 22 µmoles/l, alors que des témoins qui prennent du carbonate de calcium n'ont que 0,5 µmole/l. Ces résultats montrent que, même à des doses faibles, l'aluminium est absorbé et finit par s'accumuler.

β Chez les enfants et les nourrissons urémiques non dialysés, la quantité d'aluminium absorbée est si importante qu'elle peut, à elle seule, avoir un effet toxique grave.

Nathan et Pedersen (1980) rapportent le cas d'un enfant urémique non dialysé décédé à l'âge de 6 ans d'encéphalopathie consécutive à la prise orale d'hydroxyde d'aluminium. Le traitement avait débuté à l'âge de 2 ans. À 6 ans, on lui en avait prescrit environ 960 g. À l'autopsie, la quantité d'aluminium présente dans sa matière grise s'est révélée très élevée : 47 µg/g de poids sec.

Randall (1983) décrit aussi le cas d'une fillette âgée de 11 mois atteinte d'encéphalopathie à qui l'on avait prescrit du carbonate d'aluminium, et dont l'aluminémie était de $319 \mu\text{g/l}$.

Griswold et coll. (1983) décrivent également le cas d'un enfant urémique atteint d'encéphalopathie et d'ostéomalacie ayant pris de l'hydroxyde d'aluminium de l'âge de 6 mois à l'âge de 31 mois. A 31 mois, son aluminémie était de $334 \mu\text{g/l}$.

Andreoli et coll. (1984) citent le cas de trois enfants atteints d'azotémie à qui l'on a prescrit $100 \text{ mg d'aluminium/kg/j}$ depuis l'âge de un mois et qui ont développé une ostéomalacie.

Ainsi lorsque la barrière intestinale est immature, l'aluminium est davantage absorbé et l'absorption est inversement corrélée avec l'âge. Ceci a été bien démontré par les travaux récents de Tsou et coll. (1991). Ces auteurs ont comparé les effets de l'ingestion d'une même quantité d'aluminium ($123 \pm 16 \text{ mg d'Al/kg/j}$) pendant la même durée (4,7 semaines) sur les taux d'aluminium sériques de nourrissons ayant la même créatinémie, mais d'âge différent : les groupes dont l'âge moyen était de 5,8 mois et 9,8 mois avaient une concentration sanguine d'Al respectivement de 37 et $4 \mu\text{g/l}$.

Enfin il ne faut pas négliger les risques d'intoxication par le lait en poudre. Freudlich et coll. (1985) citent le cas de deux enfants décédés d'une intoxication aluminique par le biais du lait. Ils avaient une forte teneur en aluminium dans leur cerveau. Le lait en poudre contenait $230 \mu\text{g/l}$ d'aluminium.

Hewitt et coll. (1987) décrivent également des exemples d'enfants intoxiqués par le lait en poudre; ils constatent que la teneur peut varier de 35 à $2080 \mu\text{g/l}$ selon les préparations, et qu'elle est plus forte dans les préparations destinées aux enfants prématurés, la prise pouvant varier de 10 à $400 \mu\text{g/kg/j}$.

Les études cliniques présentées ci-dessus, et notamment celles concernant les enfants prouvent combien il est indispensable de prendre en compte l'absorption intestinale et de contrôler l'aluminémie. Selon Bishop (1987), l'absorption pourrait être 10 à 100 fois plus importante chez l'enfant que chez l'adulte.

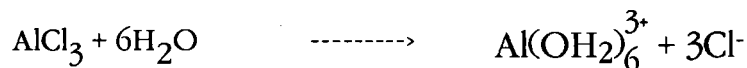
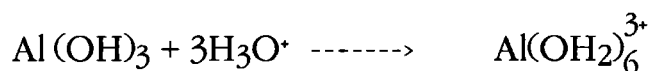
De nombreuses expériences d'intoxication par voie orale ont été réalisées chez l'animal. Le paragraphe suivant ne décrit que celles relatives aux mécanismes de l'absorption.

B- Travaux expérimentaux

a- La quantité d'aluminium absorbée dépend de l'importance de la fraction se trouvant à l'état soluble dans l'intestin.

- la solubilité de l'aluminium dépend du pH

Les sels contenus dans les antiacides et les gels d'aluminium sont très solubles dans l'estomac. Selon Partridge et coll. (1989) l'hydroxyde d'aluminium et le chlorure d'aluminium réagissent respectivement de la façon suivante :



Dans l'intestin grêle le pH augmente et les cations solubilisés par le pH acide de l'estomac précipitent à nouveau. A pH 6, la solubilité de l'aluminium est inférieure à 1 µmole/ml.

- La solubilité de l'aluminium dépend des ions d'accompagnement

La solubilité peut être fortement augmentée par certains composés fréquents dans les aliments, comme le citrate de sodium. Selon Slanina et coll. (1984), des rats intoxiqués par intubation gastrique au citrate d'aluminium ont un taux d'aluminium dans le tissu osseux 41 fois plus élevé que des rats intoxiqués à l'hydroxyde d'aluminium dans les mêmes conditions. Ils interprètent leurs résultats de deux façons :

- le citrate augmente la solubilité de l'aluminium ;

- le citrate est un chélateur de l'aluminium ; il facilite son passage au travers de la muqueuse.

Martinez-Paloma et coll. (1980), cité par Molitoris et coll. (1989) ont montré, à partir de cultures cellulaires, que le citrate diminue la résistance électrique transmembranaire et ouvre les *tight junctions* des cellules épithéliales, contrairement au chlorure d'aluminium et au lactate d'aluminium. De plus la pénétration de l'aluminium grâce au citrate dépend de la température. Enfin le citrate est aussi un chélateur du calcium.

Selon Molitoris et coll. (1989), l'aluminium présent dans l'intestin se lie préférentiellement à la transferrine et passe avec le citrate lorsque la transferrine est saturée.

Weberg et Berstad (1986) donnent des tablettes d'antiacides à des patients ayant une fonction rénale normale. Lorsque ces tablettes sont prises en même temps que du jus d'orange ou de l'acide citrique, les taux d'aluminium sériques sont 50 fois plus élevés que lorsqu'elles sont prises avec de l'eau.

Bakir et coll. (1986) décrivent le cas de quatre patients urémiques dont deux étaient dialysés qui décédèrent d'encéphalopathie après avoir été soignés par une combinaison d'hydroxyde d'aluminium et de solution de Shohl (tampon d'acide citrique et de citrate de sodium) ; leur aluminémie était très élevée (de 380 à 1140 μg d'Al/l).

Partridge et coll. (1989) suggèrent de surveiller la nourriture des patients à qui l'on prescrit des composés aluminiques par voie orale.

A l'inverse du citrate, certains composés présents dans les aliments comme les phosphates ou le fluor (Spencer et coll. 1990) forment des complexes insolubles avec l'aluminium et limitent son absorption.

Les ions d'accompagnement expliquent sans doute les variations individuelles que l'on constate toujours dans les études cliniques. Par exemple les faibles taux d'aluminium (5 μg /l) trouvés par Allain et coll. (1990) dans le sang de sujets volontaires qui avaient ingéré de fortes doses de sulfate d'aluminium (4 g/j pendant trois semaines) sont probablement dus à l'intervalle de temps qui a séparé l'ingestion du sel des repas, ou encore à la nature des aliments..

b- L'absorption se fait en deux temps

Selon Skalsky et Carchman (1983), ainsi que Adler et Berlyne(1985), l'aluminium pénètre dans la lumière intestinale d'abord par transport actif jusqu'à un palier de saturation à partir duquel il entre par diffusion, en fonction de la concentration.

Van der Voet et De Wolff (1986) étudient *in situ* l'influence du pH sur l'absorption du chlorure d'aluminium en perfusant un fragment d'intestin comprenant le jejunum et l'iléon, irrigués par du sang de la veine porte. Les essais sont effectués aux pH 4 et 7, et à trois concentrations différentes. Ils constatent des faits suivants :

- l'absorption s'effectue en deux temps : l'aluminium est d'abord retenu par la muqueuse, puis relargué dans le sang,
- la rétention et le relargage augmentent de façon linéaire avec la concentration du perfusat,
- l'absorption est globalement plus forte à pH 4 qu'à pH 7,
- la rétention n'est pas influencée par le pH mais à pH 4, davantage d'aluminium est relargué dans le sang.

c- Au cours de l'absorption, l'aluminium entre en compétition avec différents ions

α Le magnésium et surtout le calcium ont une influence sur l'absorption

Des études portant sur la sclérose amyotrophique latérale, à la fois cliniques (Garruto et coll. 1990), et expérimentales sur le singe de la race *Cynomolgus* (Garruto et coll. 1989) montrent qu'une déficience en magnésium et en calcium dans les aliments entraîne une augmentation de l'absorption de l'aluminium, lequel s'accumule alors dans divers tissus. Cependant les résultats les plus probants sont ceux des expériences de perfusion de fragments d'intestin.

Provan et Yokel (1990) montrent, à partir d'une perfusion *in situ* chez le Rat, qu'une réduction de Ca^{2+} dans le perfusat s'accompagne d'une

disparition de l'aluminium présent dans ce même liquide et de son apparition concomitante dans le sang portal. Yokel et Mc Namara (1990) obtiennent des résultats similaires chez le Lapin. Ils constatent aussi que le taux de calcium total sanguin n'est réduit que de 1% quand l'intestin est perfusé avec de l'hydroxyde d'aluminium, alors qu'il est diminué de 15% quand ils utilisent du citrate d'aluminium. Selon Adler et Berlyne. (1985), au niveau du duodénum, le calcium entre en compétition avec l'aluminium au cours de la phase de transport actif ; en effet le palier de saturation qui correspond à la fin de cette phase est plus vite atteint si le perfusat ne contient pas de vitamine D. De plus la présence d'aluminium dans le liquide de perfusion entraîne une réduction de l'absorption du calcium en présence de vitamine D, mais pas en son absence.

Ces résultats suggèrent, que l'aluminium est absorbé à la fois par un mécanisme non saturable et par un mécanisme saturable, sous le contrôle de la vitamine D, en compétition avec le calcium. Selon Demantis et coll. (1986), l'administration de vitamine D₃ à des patients en hémodialyse s'accompagne d'une hyperaluminémie. Feinroth et coll. (1982), cité par Adler et Berlyne. (1985) avaient déjà montré, à partir d'intestin éversé de Rat, que l'aluminium est absorbé par un mécanisme saturable inhibé par le dinitrophénol, l'absence de glucose ou encore une température de 4°C.

D'après Provan et Yokel (1988), l'aluminium pourrait passer par la CaATPase, localisée au niveau de la membrane basale de l'intestin, peu différente de la pompe à calcium. En effet le vanadate, qui inhibe cette pompe, stimule le prélèvement par l'enterocyte de l'aluminium contenu dans la barrière intestinale.

Toujours en relation avec le calcium, Mayor et coll. (1977) et Randall et coll. (1982) montrent que, chez le Rat, l'injection de parathormone augmente le taux d'aluminium sérique. L'hyperparathyroïdie dont les urémiques sont presque constamment atteints, pourrait avoir un effet sur l'aluminémie. Cependant l'aluminium peut s'accumuler dans les glandes parathyroïdiennes et réduire la sécrétion de parathormone.

β Le rôle du sodium est discuté

Provan et Yokel (1988) qui ont travaillé sur des coupes d'intestin de jejunum de Rat, ont montré que l'absorption de l'aluminium est réduite de 50% par les inhibiteurs des canaux sodium comme le verapamil, ou lorsque

le milieu ne contient pas de sodium. Inversement elle peut être augmentée de plus de 200% par les activateurs des canaux sodium, ou encore par le vanadate, qui inhibe la pompe à calcium, mais aussi le pompe Na^+/K^+ - ATPase localisée au niveau basal. Le gradient de Na^+ , la Ca^{2+} - ATPase, et la pompe Na^+/K^+ - ATPase pourraient intervenir en complémentarité.

Cependant d'après Van der Voet et De Wolff (1987), la perfusion d'un fragment d'intestin de Rat avec une solution dépourvue de sodium stimule l'absorption de l'aluminium, prouvant ainsi qu'il existe une corrélation négative entre l'absorption du sodium et celle de l'aluminium.

Le rôle exact du sodium est à clarifier, d'autant plus que les insuffisants rénaux ont souvent un régime pauvre en sel.

γ Des métaux comme le zinc et le fer stimulent l'absorption de l'aluminium

Pour Wenk et Stemmer (1983), lorsque l'alimentation du Rat est enrichie en zinc, de l'aluminium s'accumule dans le cerveau et dans le foie.

Van der Voet et De Wolff (1990) perfusent un fragment d'intestin de Rat avec des solutions croissantes de chlorure d'aluminium additionnées de chlorure ferreux ou de chlorure ferrique et constatent que :

- le fer à l'état ferrique ne modifie pas l'absorption
- le fer à l'état ferreux stimule l'absorption par la muqueuse intestinale mais réduit le relargage dans le sang, par comparaison avec le témoin. Autrement dit la muqueuse a tendance à retenir l'aluminium qui pourrait précipiter avec le fer ferreux. Le fer ferreux pourrait aussi stimuler la synthèse de ferritine et par conséquent augmenter la rétention de l'aluminium par la muqueuse, celui-ci se fixant alors à la transferrine.
- D'après Huang et coll. 1992, cités par Drüeke (1993) il existe une corrélation inverse entre les concentrations sériques en ferritine et les concentrations normales en aluminium chez les patients dialysés. D'autre part les patients dialysés qui dans leur sang ont des concentrations faibles en fer et en ferritine ont une aluminémie plus élevée que ceux dont les taux en fer et en

ferritine sont normaux ou importants (Vanuytsel et coll. 1992, cités par Drüeke 1992). Ceci suggère donc que plus la quantité de fer présente dans le sang est importante, plus la quantité d'aluminium absorbée est faible. Cependant, d'après Ittel et coll. 1992, la quantité de fer présente dans le corps ne semble pas avoir d'influence sur l'absorption.

En résumé, les paramètres qui influencent l'absorption de l'aluminium sont :

- le degré de maturité de la barrière intestinale,
- le type de sel : sels minéraux, sels organiques (Kaehny et coll. 1977),
- les paramètres qui modifient la solubilité de ces différents sels : pH et ions d'accompagnement présents dans les aliments. Les sels d'aluminium eux-mêmes sont plus ou moins solubles.

Les mécanismes impliqués dans l'absorption, encore mal connus, font intervenir :

- le calcium principalement, car il a le même transporteur que l'aluminium,
- d'autres ions : le fer ferreux, le zinc et peut-être le sodium,
- la vitamine D et la parathormone,
- la transferrine et le citrate.

L'absorption de l'aluminium est difficile à évaluer réellement. Les méthodes les plus utilisées actuellement sont l'absorption atomique avec four graphite et la spectrométrie d'émission à plasma d'argon. Ces deux méthodes présentent une limite de détection relativement basse (de l'ordre de 5 µg) et une reproductibilité. Toutefois, dans les conditions physiologiques, les quantités d'aluminium absorbées par l'intestin sont généralement faibles et si expérimentalement on utilise des doses comparables, les contaminations représentent alors une proportion non négligeable. C'est ainsi que pour comprendre les mécanismes de

l'absorption, de fortes doses d'aluminium sont employées dans les études *in vitro* et *in vivo* mais alors certains mécanismes biochimiques sont sans doute perturbés et dans ce cas les résultats obtenus ne correspondant pas à la réalité. La méthode qui paraît être la plus fiable est celle très récente qui utilise l'Al-26 avec un spectromètre accélérateur de masse (Meirav et coll. 1991).

Enfin, du point de vue localisation anatomique, l'absorption de l'aluminium est maximale au niveau du jejunum (Provan et Yokel 1988).

2.1.3. Pénétration par la voie parentérale

L'aluminium pénètre dans l'organisme par la voie parentérale pendant les transfusions (plasmaphérèse), à l'occasion d'une nutrition parentérale et au cours de l'hémodialyse ou de la dialyse péritonéale ambulatoire.

A. Entrée par la voie intraveineuse (I.V.)

a. Plasmaphérèse

Selon Milliner et coll. (1985), les solutions d'albumine utilisées en plasmaphérèse peuvent contenir jusqu'à 1 200 µg/l d'aluminium. Le taux d'aluminium plasmatique augmente fortement au cours des transfusions. Lorsque les malades sont déficients rénaux, cet aluminium n'est éliminé que très lentement et peut s'accumuler dans les tissus.

b . Nutrition parentérale

α Chez l'adulte

Klein et coll. (1982) citent le cas de malades adultes nourris par voie parentérale depuis plusieurs années et qui ont des taux d'aluminium élevés dans le sérum, dans l'os et dans l'urine. La contamination serait due à la caséine.

Messing et coll. (1986) ont évalué le taux d'aluminium dans les différents solutés utilisés en nutrition parentérale chez l'adulte. Ces taux varient considérablement d'un soluté à l'autre ; ils estiment que l'apport moyen est de 5 µmoles /j et préconisent d'effectuer des expertises toxicologiques sur les différentes solutions.

Ainsi chez l'adulte l'aluminium contenu dans les solutions nutritives finit par s'accumuler dans les tissus lorsque celles-ci sont administrées pendant une période suffisamment longue. Ceci a été confirmé expérimentalement chez l'animal : Henry et coll. (1984) rapportent une augmentation de la concentration du métal dans le foie, le rein, la rate et l'os chez des chiens ayant reçu des injections I.V. d'aluminium à raison de 1 mg/kg/j pendant trois à cinq semaines.

β Chez le nourrisson

Selon Koo et coll. (1986), il existe une corrélation directe entre l'aluminurie et les taux d'aluminium trouvés dans des solutions nutritives administrées par voie I.V. à des nourrissons âgés de 29 à 41 semaines. Quant à l'aluminémie elle passe de 6 µg/l à 318 µg/l en 43 jours. Le rapport aluminium/créatinine, multiplié par trois, révèle que l'élimination est incomplète. Il n'y a pas de différence entre les enfants prématurés et les autres enfants.

Sedman et coll. (1985) rapportent une étude réalisée sur 18 enfants prématurés nourris uniquement par voie parentérale. Au bout de 3 semaines, la quantité d'aluminium contenu dans le tissu osseux des enfants décédés est 10 fois supérieure à celle d'enfants nés à terme et nourris normalement. Chez deux enfants, l'aluminémie dépasse 100 µg/l.

Bishop et coll. (1989) décrivent le cas d'un enfant nourri dès sa naissance par voie parentérale et qui décéda d'encéphalopathie à l'âge de 93 jours. L'entrée de l'aluminium a été estimée à 645 µg après 45 jours de nutrition. L'autopsie révéla que sa matière grise contenait 20 fois plus d'aluminium que celle d'un témoin de même âge. Selon ces auteurs, les nourrissons peuvent retenir jusqu'à 80% de l'aluminium qui parvient dans leur milieu intérieur. La contamination par l'aluminium des solutions nutritives destinées aux nouveaux nés présente donc un grand risque d'intoxication.

B. L'hémodialyse et la dialyse péritonéale

Alfrey et coll. (1976) émettent pour la première fois l'hypothèse que l'encéphalopathie progressive des dialysés est due à l'aluminium contenu dans l'eau de dialyse. Flendrig et coll. (1976) rapportent un véritable fait expérimental : dans leur centre de dialyse à Eindhoven, 6 patients décèdent

d'encéphalopathie en l'espace de 4 ans ; le dialysat, réchauffé par des anodes en aluminium contient 1 mg/l d'aluminium.

La concordance entre la fréquence de survenue de l'encéphalopathie et la forte teneur en aluminium de l'eau de dialyse est confirmée par Platts et coll. (1977). Le passage de l'aluminium du dialysat vers le compartiment plasmatique, passage d'autant plus important que le premier est riche en aluminium, est prouvé par Kaehny et coll. (1977) ; ils confirment que cet excès de métal, ne pouvant être éliminé correctement par le rein déficient, ne repasse pas dans le dialysat car il se lie à des fractions non dialysables comme les protéines et s'accumule dans l'organisme au fil des dialyses.

Cartier et coll. (1978) montrent précisément qu'il existe une corrélation entre le taux d'aluminium contenu dans le bain de dialyse et le taux d'aluminium présent dans le sang en fin de séance de dialyse. Winney et coll. (1984) prouvent aussi que l'aluminémie dépend directement de la teneur en aluminium du bain de dialyse suivant que l'on utilise de l'eau non traitée, de l'eau traitée par osmose inverse ou de l'eau distillée.

Généralement de telles corrélations ne sont pas observées car l'aluminémie évaluée à un moment donné dépend des expositions antérieures, mais aussi de différentes contaminations. Ainsi, selon des travaux récents (Piccoli et coll. 1989) une faible teneur aluminique du bain de dialyse n'exclut pas une aluminémie élevée : l'aluminémie des 1 026 patients du centre de dialyse de Veneto en Italie est en moyenne de 52 µg/l ; chez 1/4 d'entre eux elle est comprise entre 60 et 100 µg/l et pour 15 % elle est supérieure à 100 µg/l. La teneur en aluminium des liquides utilisés pour la dialyse est pourtant faible (9,1 µg/l dans l'eau, 13,3 pour le bicarbonate et 15,7 pour l'acétate).

Le volume total du "bain de dialyse" mis au contact avec le sang du patient en une année peut être estimé à 15 000 l. Plus de 95 % de ce volume est de l'eau. C'est donc bien l'eau de dilution qui présente le facteur de risque le plus important si sa contamination en aluminium est élevée. Si l'on considère par exemple une aluminémie de 20 µg/l, dont 20 % est diffusible, la valeur limite acceptable doit être de 4 µg/l pour éviter la diffusion du toxique dans le sens bain de dialyse-sang. Actuellement, les techniques de traitement des eaux permettent de tendre vers de concentrations inférieures à ce chiffre, proches de 0 µg/l.

Smith et coll. (1980) citent le cas d'un patient traité par dialyse péritonéale chez qui l'on a comparé l'aluminémie avec la teneur en aluminium de l'eau utilisée, avant et après le traitement. Avant le traitement, l'eau de dialyse contenait 20 µg/l d'aluminium ; l'aluminémie était de 10 µg/l. Après le traitement, l'eau de dialyse ne contenait plus que 10 µg/l alors que l'aluminémie atteignait 244 µg/l !

Les taux d'aluminium sérique sont plus élevés chez les patients traités par dialyse péritonéale que chez les patients hémodialysés (Gilli et coll. 1980 ; Milliner et coll. 1988). La raison est que l'on utilise davantage d'eau pour l'hémodialyse que pour la dialyse péritonéale.

2.2. Transport par le sang

Selon Deloncle et coll. (1990), 99 % de l'aluminium présent dans le sang se trouverait dans le plasma, mais d'après d'autres études, plus anciennes, (Mayor et coll. 1977 ; Van der Voet et De Wolff 1985) il serait en quantité équivalente dans le plasma et dans les érythrocytes.

Environ 80 % est fixé à des protéines et 20 % se trouve sous forme de sels en suspension colloïdale (Savory et Wills 1984). Bien entendu, seule cette seconde fraction est ultrafiltrable ; l'aluminium forme des sels avec les ions hydroxydes, les ions phosphates et surtout avec le citrate dont la concentration plasmatique est de 0,1 mmole/l.

Pendant longtemps on a considéré qu'une fraction de l'aluminium est liée à l'albumine (Bertholf et coll. 1984). Actuellement, on admet que la seule protéine plasmatique à fixer l'aluminium est la transferrine.

D'après Martin (1986), l'albumine ne peut entrer en compétition avec l'ion citrate pour fixer l'aluminium, ni même avec les précipités d'hydroxyde et de phosphate d'aluminium. Comme la différence de force de liaison entre Al^{3+} et Fe^{3+} avec la transferrine est de 10 unités logarithmiques en faveur du fer, ce dernier ne peut être déplacé par l'aluminium. Mais la transferrine n'est saturée qu'à 30 % par le fer, c'est donc un ligand potentiel. La transferrine humaine lie deux moles d'aluminium par mole de protéines (Cochran et coll. 1984).

La question s'est posée de savoir si le citrate et la transferrine entrent en compétition pour fixer l'aluminium.

La concentration normale de la transferrine, protéine dont le poids moléculaire est de 77 000 daltons, est de 3 g/l. Avec deux sites de liaison occupés à 30 % par le fer, la concentration "théorique" disponible pour l'aluminium est de 50 µg/l (Martin 1986) c'est-à-dire la moitié de celle du citrate. Mais à pH 7,4, l'affinité de la transferrine pour l'aluminium est trois fois plus grande que le citrate. Toujours selon Martin (1986), lorsque la concentration en aluminium totale est de une micromole par litre de plasma, la concentration en aluminium libre, en présence de transferrine, n'est que de $10^{-14,6}$ mole/l. Enfin, lorsque, *in vitro*, le quotient molaire $\frac{F(\text{citrate, transferrine})}{F(\text{aluminium})}$ est identique à celui du plasma, le citrate cède à la fois le fer et l'aluminium à la transferrine. Dans les conditions physiologiques, la transferrine pourrait être le transporteur ultime de l'aluminium que lui céderait par exemple le citrate après l'absorption.

2.3 Elimination

2.3.1. Fécale

Nous avons déjà signalé que la plus grande quantité d'aluminium ingéré forme des sels insolubles dans le tractus digestif, qui sont donc éliminés sans avoir pénétré dans le milieu intérieur. Selon Ondreicka et coll. (1966) plus de 70 % de l'aluminium entré par la voie orale se retrouve dans les fèces. C'est donc la principale voie d'élimination.

2.3.2. Urinaire

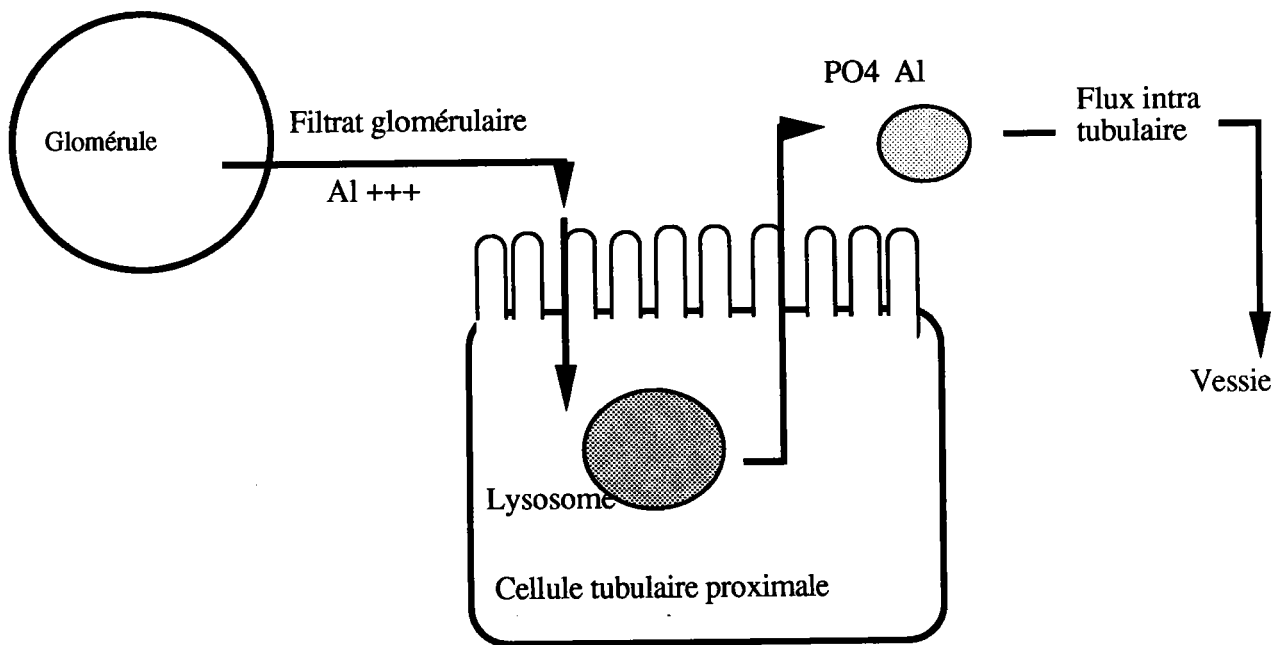
L'excrétion urinaire chez une personne en bonne santé serait en moyenne de 15 µg/j (Kaehny et coll. 1977).

Pour Mussi et coll. (1984), les taux urinaires sont une bonne indication du niveau d'intoxication lorsque l'exposition est faible.

Höhr et coll. (1989) perfusent un rein isolé de Rat. Quand la concentration en aluminium du perfusat est de 0,04 µg/ml, la clearance est de 0,6 ml/min. Quand la concentration est de 12,4 µg/ml, la clearance est de 0,06 ml/min. Ainsi la clearance diminue quand la teneur en aluminium du perfusat augmente ; ce phénomène pourrait s'expliquer par une fixation accrue de l'aluminium sur les protéines.

Chez le Lapin, la clearance est d'environ 50 ml/h/kg (Yokel et Mc Namara 1985). Chez l'Homme, l'excrétion normale est de 20 à 50 $\mu\text{g/j}$ et la clearance atteindrait 38 % de celle de l'inuline [Weinberger et coll. (1972), cité par Yokel et Mc Namara (1985)].

D'après Galle (1981), chez les Mammifères, la séquence des "événements" aboutissant à l'élimination rénale de l'aluminium est la suivante: après filtration glomulaire, le métal est réabsorbé par le tube proximal et se concentre dans les cellules tubulaires, au niveau des lysosomes, en précipitant avec les phosphates. Dans un second temps, les précipités sont déversés dans la lumière tubulaire ; le fait qu'ils soient insolubles évite une nouvelle réabsorption. Il s'agit donc d'un mécanisme d'élimination rénale assez particulier, identique à celui de l'uranium, et qui ne nécessite pas de transfert actif.



D'après Galle (1981)

2.3.3. Autres voies d'élimination

Chez le Rat, la bile serait une voie d'élimination importante (Klein et coll. 1988), alors que chez le Chien, 0,1% seulement serait éliminé par la bile (Kovalchik et coll. 1978, cité par Höhr et coll. 1989).

L'élimination par la sueur et les phanères est très peu connue. Naylor et coll. (1990) rapportent des valeurs de $6,42 \pm 2,22 \mu\text{g/g}$ trouvées dans les cheveux de 76 sujets âgés de 21 à 83 ans, mais ne constatent pas de corrélation significative avec l'âge ou la prise alimentaire. Ces résultats suggèrent tout de même que les phanères sont une voie d'élimination.

L'importance relative de chacune des différentes voies précitées est assez mal connue ; les proportions varient d'une publication à l'autre. Quoiqu'il en soit, on constate que lorsque la voie urinaire est déficiente la non-élimination de l'aluminium entraîne un stockage dans les tissus.

2.4. Mobilisation et fixation de l'aluminium par les tissus

2.4.1. Taux d'aluminium dans les organes

La quantité d'aluminium présent dans un tissu à un moment donné dépend à la fois du taux d'aluminium sérique, du temps d'exposition et de la capacité de ce tissu à fixer le métal, ou, au contraire, à l'exclure.

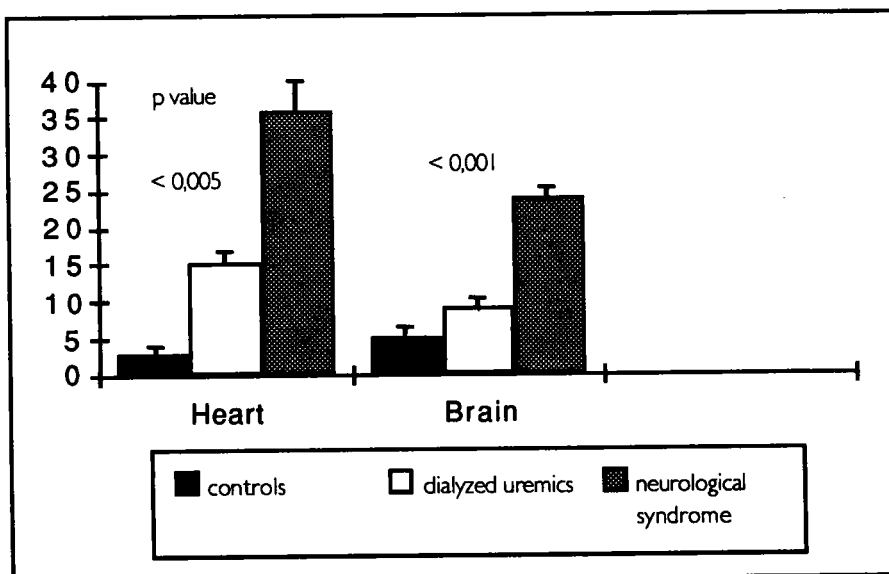
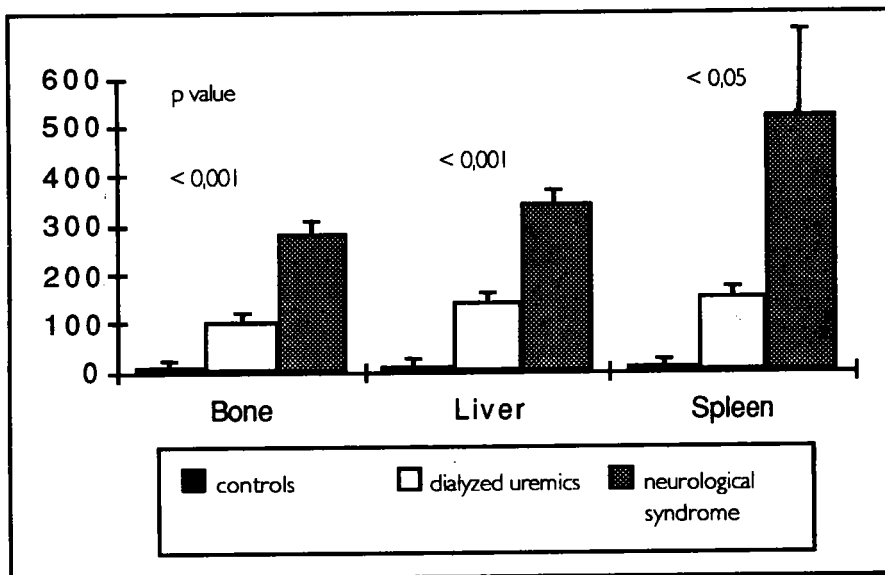
Les points suivants seront envisagés :

- Les taux d'aluminium dans différents tissus de la population saine,
- les taux d'aluminium dans les tissus de personnes fortement intoxiquées, ainsi que la localisation intracellulaire du métal,
- les mécanismes connus qui font qu'un tissu va concentrer ou non l'aluminium présent dans le sang.

Nous nous limiterons la plupart du temps aux cas cliniques. Les résultats expérimentaux seront présentés en même temps que ceux de notre travail, à titre de comparaison.

A. Chez les individus d'une population saine

Alfrey (1983) évalue les taux d'aluminium dans différents tissus de personnes décédées de mort violente, non intoxiquées à l'aluminium :



d'après Alfrey, 1983.

"Tissue concentration in controled and dialysed uremic patients dying of neurological syndrome, dialysed encephalopathy and other causes."

Taux d'aluminium tissulaire (Alfrey, 1983)

	foie	rate	os	cœur	muscle	poumons	cerveau substance blanche
moyenne	4.1	2.6	3.3	1.0	1.2	43	2.2
écart-type	1.7	2.1	2.9	0.8	1.2	43	1.3

Al en mg/kg de tissu sec et dégraissé

Seuls les poumons ont des taux d'aluminium relativement élevés (43 mg/kg de poids sec). D'après l'auteur, ce sont les seuls organes dans lesquels la concentration augmente avec l'âge, mais pour Mc Dermott et coll. (1977), ainsi que pour Martyn et coll. [1989, cité par Graves et coll. (1990)], le même phénomène se produit dans le cerveau.

B. Chez les individus soumis à une intoxication chronique

Les individus soumis à une intoxication chronique sont essentiellement des dialysés. Ils peuvent être intoxiqués à la fois par le bain de dialyse et par la voie orale car il ingèrent des gels d'alumine en quantité importante. Le risque est accentué par le fait qu'ils n'éliminent pas le métal, et la persistance d'une aluminémie prolongée entraîne une accumulation dans certains tissus. L'aluminium se concentre alors surtout dans la rate, le foie, l'os, le cœur et la substance grise du cerveau. Dans le squelette et dans le foie, les taux peuvent atteindre 100 fois la valeur normale. La quantité est fonction de l'intoxication. A titre indicatif Alfrey (1983) donne les concentrations tissulaires trouvées chez des témoins, des patients urémiques dialysés et des patients ayant développé une encéphalopathie.

Sjögren et coll. (1988), en mesurant la vitesse d'élimination urinaire d'aluminium inhalée sous forme de poussière par des ouvriers, arrivent à la conclusion suivante : une première fraction, sans doute ultrafiltrable, est rapidement éliminée tandis que l'autre se fixe dans les tissus.

Après l'anémie microcytaire, l'ostéomalacie est la maladie qui apparaît en second lieu au cours des intoxications chroniques. Dans le squelette, l'aluminium se dépose à l'interface entre l'os calcifié et l'ostéoïde, au niveau du front de minéralisation, ce qui entraîne une hyperostéoïdose (augmentation du volume ostéoïde et des surfaces ostéoïdes). Andress et

coll. (1986) citent le cas de malades hémodialysés depuis plus de 8 ans avec les dialysats très pauvres en aluminium, et chez qui une biopsie osseuse a démontré que le toxique occupait 25 % de la surface de l'os trabéculaire.

Si la personne n'est pas soignée, le stade ultime de l'intoxication aluminique chronique est l'encéphalopathie. Alfrey et coll. (1976), évoquant pour la première fois la responsabilité de l'aluminium dans les encéphalopathies, rapportent des taux d'aluminium de $8,9 \pm 4,3 \mu\text{g/lg}$ de poids sec trouvés dans la substance grise du cerveau. Arieff et coll. (1979) citent des valeurs pouvant atteindre 25,5 mg/kg de poids sec dans la substance grise et rapportent que la substance grise contient au moins deux fois plus d'aluminium que la substance blanche. Cartier et coll. (1978) indiquent des taux de $5,5 \pm 1,6 \mu\text{g/g}$ de poids sec trouvés dans la substance grise d'hémodialysés, contre $1,5 \pm 0,9 \mu\text{g/g}$ chez les témoins, et ne trouvent pas de différence entre les deux groupes dans la substance blanche. De plus, contrairement à Alfrey et coll. (1976), ils ne trouvent pas de corrélation entre les teneurs en aluminium et la durée de la dialyse.

Chez des patients décédés de sclérose amyotrophique latérale, on a décelé des concentrations en aluminium de $33,7 \pm 18,5 \text{ ppm}$ dans l'hippocampe, le thalamus, le noyau caudal, contre $17,7 \pm 3,4 \text{ ppm}$ chez les témoins.

La desferrioxamine (DFO) fait régresser les intoxications aluminiques en chélatant l'aluminium fixé dans les tissus. Le complexe DFO - Al a un poids moléculaire d'environ 650 et est stable ; il peut être éliminé par hémodialyse.

De nombreuses publications montrent que, même lorsque le dialysat et le sang ont des taux aluminiques faibles, un traitement à la desferrioxamine entraîne une élévation de l'aluminémie, révélant une chélation soit à partir de la transferrine, soit de stocks tissulaires.

2.4.2. Localisation intracellulaire

Dans le tissu osseux, l'aluminium a une localisation principalement extracellulaire mais dans les cas d'ostéomalacie sévère il peut se concentrer dans les ostéoblastes, au niveau des mitochondries (Plachots et coll. 1984). Selon ces auteurs cette localisation pourrait être un des facteurs à l'origine du trouble de la minéralisation.

Galle et coll. (1979), à l'aide de la microsonde de Castaing (méthode de microanalyse par sonde électronique) et de la microanalyse ionique, localisent l'aluminium contenu dans les neurones au niveau des lysosomes. Dans ces organites, il a précipité avec les phosphates. Les microcristaux ont la forme d'aiguilles de 0,006 micromètre de diamètre et 0,08 micromètre de longueur. Sa concentration est de l'ordre de 1 %, c'est-à-dire mille fois supérieure à celle mesurée sur l'ensemble de la matière grise par la même méthode.

Les mêmes auteurs (Galle et coll. 1983) trouvent que dans les cellules parathyroïdiennes de malades en dialyse chronique, l'aluminium est également concentré dans les lysosomes ; ils trouvent aussi des dépôts dans les lysosomes des hépatocytes d'un malade décédé d'intoxication par l'aluminium. L'aluminium est localisé tantôt dans les lysosomes primaires, tantôt dans les phagolysosomes secondaires.

Bommer et coll. (1983, cités par Ganrot (1986)) localisent également l'aluminium dans les lysosomes, au niveau de la rate.

Verbueken et coll. (1988) analysent plusieurs tissus à l'aide du LAMMA, combiné au microscope électronique afin de relier les résultats des mesures analytiques aux ultrastructures. Ils trouvent que dans le foie, la thyroïde, les parathyroïdes, le cortex cérébral l'aluminium est localisé dans les lysosomes en association avec le fer.

Chez les chats atteints d'encéphalopathie suite à des injections intracrâniennes d'aluminium, De Boni et coll. (1974) localisent l'Al dans les noyaux des cellules cérébrales. A partir de lymphocytes humains en culture sur un milieu dans lequel ils ajoutent de l'aluminium, ils obtiennent des résultats identiques. L'aluminium est fixé sur la chromatine des noyaux en interphase et sur les chromosomes des cellules mitotiques. Truchet (1976) remarque que, à la suite d'une intoxication, l'aluminium s'accumule dans les noyaux d'hépatocytes et de cellules épithéliales de Grenouille, de thyrocytes de Lapin. Bonhomme et coll. (1989) constatent que, chez le Rat, au cours de la régénération cellulaire consécutive à une hépatotomie partielle, la concentration en aluminium augmente dans le noyau des hépatocytes pendant la phase S (phase de synthèse d'ADN).

Walker (1989) étudie la réactivité de l'aluminium avec la chromatine ; ses résultats peuvent être ainsi résumés : l'aluminium précipite la chromatine et ,

lorsque sa concentration est suffisante, protège l'ADN contre la DNase. A des concentrations micromolaires, l'aluminium entraîne, selon les auteurs, des changements considérables de la structure de la chromatine, et celle du cortex cérébral apparaît plus sensible que celle du foie.

Au niveau cellulaire, l'aluminium s'accumule donc principalement dans les lysosomes et sur la chromatine du noyau.

2.4.3. Mécanisme de la concentration de l'aluminium dans les tissus

A. Rôle du fer

Ganrot (1986) a fait le rapport molaire $\text{Fe}^{3+} / \text{Al}^{3+}$ dans les différents organes à partir de valeurs trouvées chez des individus en bonne santé. Le tableau ci-dessous reprend une partie des résultats.

Organe	$\text{Fe}^{3+} / \text{Al}^{3+}$	Organe	$\text{Fe}^{3+} / \text{Al}^{3+}$
rate	424	poumon	6.5
foie	144	peau	3.2
rein	123	cheveux	1.35
cœur	113	estomac	51
cerveau	103	jejunum	40
muscle	102	thyroïde	26

Les valeurs élevées trouvées dans la rate, le foie et les reins sont dues principalement aux fortes concentrations en fer de ces organes. Les rapports importants dans le cœur, le cerveau, le muscle sont dues aux faibles concentrations en aluminium, et les rapports faibles dans l'intestin, les poumons, les cheveux sont liés à des teneurs aluminiques relativement élevées.

Les organes les plus riches en fer (rate, foie et moelle hématopoïétique en particulier) sont ceux qui concentrent le plus l'aluminium dans leurs cellules. Comme le fer et l'aluminium sont pris en charge par le même transporteur, la transferrine, on peut émettre l'hypothèse que ces organes sont riches en récepteurs de la transferrine et que l'aluminium pénètre dans les tissus par ce même "canal". Dans le cytoplasme, elle se dissocie du fer puis repasse dans le sang où elle est à nouveau utilisée. (Partridge 1987).

B- Autres composés connus pour favoriser la fixation tissulaire

Deloncle et coll. (1990) signalent que l'aluminium peut traverser la membrane de l'érythrocyte et la barrière hémocéphalique en formant un complexe avec le glutamate.

Wenk et Stemmer (1983) constatent que lorsque des rats sont nourris avec un aliment synthétique riche en aluminium et en zinc, l'aluminium s'accumule dans le cortex et l'hippocampe mais la publication ne permet pas de savoir si le zinc favorise l'absorption ou le franchissement de la barrière hémocéphalique.

L'aluminium se concentre plus fortement dans l'os chez les hémodialysés diabétiques insulino-dépendants que chez les hémodialysés ; parallèlement, un traitement à la desferrioxamine induit une aluminémie plus importante chez les premiers que chez les seconds.

Dans les lysosomes, l'aluminium pénètre par diffusion passive sous forme soluble ionisée puis précipite sous forme de phosphate insoluble en milieu acide, grâce à la présence des phosphatases acides dans ces organites. (Berry et coll. 1978). Les phosphatases acides présentes dans les tissus favorisent donc l'accumulation de l'aluminium. A certaines concentrations, les phosphatases acides et alcalines de l'os peuvent même être stimulées par le chlorure et le sulfate d'aluminium (Lieberherr et coll. 1982).

3. TOXICITE DE L'ALUMINIUM

Certaines maladies sont dues à l'intoxication aluminique. Pour d'autres maladies, dont on ne connaît pas l'origine, l'aluminium peut être une cause possible ou, en tout cas, un facteur favorisant. L'aluminium est toxique par ses effets au niveau cellulaire et moléculaire dont certains sont connus. Ces différents points seront envisagés successivement.

3.1. Maladies provoquées par une intoxication aluminique

Comme nous l'avons dit, chez l'adulte, l'intoxication aluminique survient souvent dans des situations de dialyse mais l'enfant urémique, à qui l'on

prescrit uniquement des composés à base d'aluminium par voie orale, à forte dose, peut être également intoxiqué.

La maladie la plus fréquente et la plus grave est l'encéphalopathie, c'est la raison pour laquelle elle sera décrite avec davantage de précision que l'autre maladie qui lui est généralement associée : l'ostéomalacie.

3.1.1. L'encéphalopathie progressive des dialysés (E.P.D.)

L'encéphalopathie progressive des dialysés a été décrite pour la première fois par Alfrey et coll. (1972). Des taux sériques élevés en aluminium avaient antérieurement été remarqués par Berlyne et coll. (1970) chez les insuffisants rénaux. Alfrey et coll. (1976) ont confirmé la responsabilité de l'aluminium. Un certain nombre de symptômes se retrouvent de manière constante :

A. Troubles cliniques

Dans la grande majorité des cas, l'E.P.D. apparaît chez les insuffisants rénaux dialysés depuis plus de 2 ans (37 mois en moyenne), recevant en outre, dans 80 % des cas, des gels d'aluminium.

Les symptômes s'installent progressivement en quelques semaines. Pour certains, ils sont révélés ou aggravés par les séances d'hémodialyse. Après plusieurs semaines à plusieurs mois, les troubles deviennent permanents. On observe principalement :

- une dysarthrie à type de bégaiement, de trouble du débit verbal,
- une altération intellectuelle avec troubles du raisonnement, de la mémoire et crises d'épilepsie généralisées,
- des myoclonies pouvant intéresser la face, les membres supérieurs, les membres inférieurs.

B. Troubles paracliniques

Les modifications électroencéphalographiques sont constantes et peuvent précéder de plusieurs mois les signes cliniques ; elles constituent actuellement le meilleur test de dépistage sans être cependant spécifiques

de cette atteinte (Sabouraud et coll. 1978 ; Dien-Péron et coll. 1978 ; Buge et coll. 1978). Les ondes négatives et delta sont amples, rythmiques, intermittentes, à prédominance antérieure avec souvent des pointes-ondes bilatérales et synchrones.

C. Histopathologie

Les altérations neuropathologiques sont assez limitées et non spécifiques ; elles contrastent avec l'intensité des signes cliniques et la gravité de l'évolution. On constate souvent une prolifération astrocytaire, et une surcharge neuronale en lipofuschines dans la substance grise du cortex, dans l'hippocampe (structures riches en neurones cholinergiques), ainsi que dans le cervelet et le tronc cérébral (Sabouraud et coll. 1978 ; Buge et coll. 1979). Il n'y a pas de dégénérescence neurofibrillaire. La dégénérescence neurofibrillaire décrite par Sabouraud et coll. (1978) est liée à l'âge des patients et non à leur maladie.

L'aluminium se concentre essentiellement dans les lysosomes des neurones du cortex frontal et temporal, de l'olive et du noyau rouge, des noyaux gris ; il se fixe également sur la chromatine. Les concentrations en aluminium trouvées dans les substances grises à l'autopsie varient le plus souvent de 5 mg/kg à 20 mg/kg de poids sec (Mc Dermott et coll. 1978).

D. Atteinte des neurotransmetteurs

Sweeney et coll. (1985) évaluent le taux d'acide γ aminobutyrique (GABA) et l'activité de la cholineacétyltransférase (CAT) chez 5 patients décédés d'encéphalopathie des dialysés. Le taux de GABA est réduit de 30 à 50 % dans 5 régions du cerveau (cortex frontal occipital et cérébelleux, noyau caudal, thalamus dorsomédian) et l'activité de la CAT est réduite de 25 à 35 % dans le cortex cérébral. Perry et coll. (1977) avaient également observé une diminution de l'activité de la CAT dans le cortex, et une réduction du taux de GABA dans le cortex, le cervelet, le noyau caudé et le thalamus.

D'après Santos et coll. (1986) chez les jeunes enfants, on retrouve les troubles cliniques et pathophysiologiques que l'on observe chez les adultes mais généralement les symptômes neurologiques apparaissent 6 mois après le début de l'ingestion de fortes doses de gels d'aluminium. Des troubles plus spécifiques s'additionnent aux précédents :

- un retard de développement,
- une microcéphalie,
- une hypotonie,
- une dyskinésie,
- une difficulté à s'alimenter.

3.1.2. L'ostéomalacie

L'ostéomalacie précède généralement l'encéphalopathie. Ellis et coll. (1979) constatent que les insuffisants rénaux hémodialysés ont des teneurs en aluminium dans l'os beaucoup plus grande que les insuffisants rénaux non dialysés et que plus la dialyse a duré longtemps, plus la concentration en aluminium est importante. Expérimentalement, ils reproduisent une ostéomalacie en injectant du chlorure d'aluminium à des rats par voie intrapéritonéale pendant 53 jours.

Les signes cliniques les plus nets sont des douleurs osseuses et des fractures. La maladie n'est pas guérie par un traitement à la vitamine D. Ces malades ont la particularité d'avoir une hypercalcémie ou une tendance hypercalcémique alors même qu'ils ne reçoivent pas de vitamine D et qu'ils n'ont pas de signe d'hyperparathyroïdie. Cependant les patients atteints d'hyperparathyroïdisme ont moins d'aluminium que les autres : comme nous l'avons déjà signalé, une diminution de l'activité de PTH accroît la concentration en aluminium dans l'os et diminue le nombre d'ostéoblastes (Dunstan et coll. 1984 ; Malluche et coll. 1987). La vitesse de calcification diminue mais la vitesse d'apposition est plus ou moins conservée, ce qui conduit à une augmentation de l'épaisseur des lisérés ostéoïdes. La surface de l'ostéoïde augmente également ; il y a hyperostéoïdose. L'aluminium se dépose au front de minéralisation. Les paramètres de résorption (nombre d'ostéoclastes et surface de résorption) ne sont pas modifiés (Charhon et coll. 1984).

L'aluminium pourrait également être impliqué dans la maladie osseuse adynamique d'origine rénale, en association avec l'hypoparathyroïdisme (Drüeke, 1993). Cette ostéopahtie se caractérise par un déficit de formation de la matrice, et très exactement par une diminution de l'épaisseur de l'ostéoïde, alors que dans l'ostéomalacie il y a hyperostéoïdose.

3.1.3. Traitement des intoxications à l'aluminium

En phase aiguë, l'évolution de l'encéphalopathie est irréversible.

de gels d'alumine. Le seul médicament actuellement efficace pour prévenir l'ostéomalacie et l'encéphalopathie est la desferrioxamine (DFO). Dès 1979, Ackrill préconisait d'utiliser la DFO. L'administration de DFO entraîne un relargage de l'aluminium à partir des tissus, en particulier du tissu osseux, ce qui fait régresser l'ostéomalacie (Ackrill et coll. 1982) ; elle fait également régresser l'anémie microcytaire (Ackrill et coll. 1985).

Ackrill et coll. (1985) signalent cependant qu'il n'est pas prouvé que la DFO puisse déplacer l'aluminium du cerveau et que le chélateur a des effets secondaires : hypotension, douleurs abdominales, troubles gastrointestinaux, troubles de l'audition, de la vue, thrombocytopénie. Gomez et coll. (1990) comparent l'efficacité de différents chélateurs : EDDHA, acide pocilinique, DFO, acide citrique, acide malique, acide succinique sur la distribution et l'excrétion d'aluminium chez des rats qui reçoivent des injections répétées de nitrate d'aluminium. A l'analyse, les agents qui mobilisent le plus l'aluminium à partir des tissus sont la DFO et l'acide citrique. La concentration diminue dans la rate, l'os, le cerveau, les reins. Elle est réduite d'environ 1/3 dans le cerveau avec les deux chélateurs.

En 1979, 0,7 % des personnes dialysées décédaient d'encéphalopathie aluminique. Depuis que la teneur en aluminium de l'eau de dialyse a été très contrôlée, et depuis que l'on utilise la DFO, ce chiffre a été réduit de moitié, mais les enfants pré-dialysés à qui l'on prescrit de fortes doses gels d'alumine présentent toujours un haut risque.

En résumé :

Les deux organes qui accumulent le plus l'aluminium sont la rate et le foie, mais les organes les plus sensibles sont l'os et le cerveau. Ceci s'explique en partie par la localisation cellulaire de l'aluminium dans ces organes.

Dans le foie et dans la rate, l'aluminium se trouve uniquement dans les lysosomes. L'accumulation du métal dans ces organites est en fait une endoexcrétion. Il est neutralisé.

Dans le cerveau, l'aluminium se fixe en plus sur la chromatine ; la physiologie des cellules est donc davantage modifiée.

Dans le squelette, l'aluminium se substitue au calcium et affecte la minéralisation.

3.2. Maladies d'étiologie inconnue et dont l'une des causes pourrait être l'aluminium

3.2.1. La maladie d'Alzheimer

C'est la démence sénile de loin la plus fréquente : 5 à 6 % des personnes de plus de 65 ans ont des démences organiques et parmi elles 60 % sont atteintes de la démence de type Alzheimer (DTA) (Katzman et 1986) . Aux Etats-Unis, la prévalence de la maladie atteint 0,3 %. Au delà de 85 ans, 15 à 20 % des la population est touchée par la maladie, et le nombre le malades souffrant de DTA augmente dans des proportions importantes du fait du vieillissement de la population.

A. Pathologie

a. Troubles cliniques

La maladie d'Alzheimer débute, cliniquement, par des troubles de la mémoire, de l'orientation temporo-spatiale, du comportement. Ensuite apparaît un affaiblissement progressif des capacités intellectuelles, souvent accompagné de troubles aphaso-apraxo-agnosiques. L'évolution est irréversible. Les malades deviennent totalement dépendants de leur entourage et décèdent dans un délai de cinq ans en moyenne. Les premières années les personnes ont partiellement conscience de leur maladie, ce qui peut provoquer chez elles des dépressions.

En fait, il n'existe pas d'anomalie comportementale véritablement caractéristique de la maladie, ni aucun test de labotatoire permettant de diagnostiquer avec certitude qu'une personne souffre de la maladie d'Azheimer de son vivant. En revanche, à l'autopsie, on observe des modifications caractéristiques des tissus dans le cerveau.

b.Histopatologie

Chez les malades, on observe une perte de poids du cerveau et une dilatation ventriculaire avec atrophie du cortex. Du point de vue histologique, la DTA est caractérisée par deux lésions argentophiles : les neurones en dégénérescence neurofibrillaire et les plaques séniles (De Boni et coll. 1980). Ces anomalies sont surtout retrouvées dans le cortex cérébral et l'hippocampe qui sont les structures les plus sévèrement affectées .

- la dégénérescence neurofibrillaire

Elle correspond à l'accumulation de filaments de 100 Å de diamètre, assemblés par paires de filaments hélicoïdaux, présents à la fois dans les neurones en dégénérescence et dans les plaques séniles. Il y a une relation directe entre la gravité de la maladie et la densité de ces lésions (Defossez et coll. 1986). Pour Lamour et Davous (1983), ces filaments possèdent des antigènes communs avec les neurofilaments normaux, suggérant une parenté biochimique entre ces deux structures, mais pour Defossez et coll. (1983), les mêmes études immunohistochimiques ne révèlent pas de parenté. Les filaments hélicoïdaux ont des propriétés structurales particulières, comme le montre leur extrême insolubilité. Ces neurofilaments anormaux ne sont pas spécifiques de la DTA et se retrouvent dans d'autres affections du système nerveux : maladie de Parkinson, Syndrome de Down, leucoencéphalite sclérosante subaiguë... Par ailleurs, chez le vieillard ne présentant aucun signe de la maladie d'Alzheimer, on peut observer de tels filaments dans l'hippocampe.

- les plaques séniles (ou neuritiques)

Ce sont des formations arrondies extraneuronales constituées, dans la partie centrale, d'agrégats amorphes de protéines que l'on appelle amyloïdes parce qu'elles confèrent au tissu l'apparence de l'amidon. La substance amyloïde est formée par l'agrégation sous la forme β plissée d'une protéine amyloïde d'un poids moléculaire de 4,2 kDa : la protéine amyloïde A4 (β PA4) (Benowitz et coll. 1989). À la périphérie des plaques neuritiques, on observe une prolifération gliale, des débris cellulaires et des terminaisons axonales contenant des filaments du type de la dégénérescence neurofibrillaire. Elles sont présentes surtout dans les couches superficielles du cortex. Ces plaques présentent une forte réaction histochemique pour l'acétylcholinestérase au début de leur évolution, suggérant la participation de terminaisons cholinergiques dans leur genèse. Les plaques neuritiques se forment aussi dans un grand nombre de maladies de l'homme et des animaux.

Si les neurofilaments anormaux et les plaques neuritiques se forment à d'autres occasions (d'après Ulrich 1982, 25 % des cerveaux de gens non déments en possèdent à partir de l'âge de 55 ans), on n'observe généralement pas toutes les modifications en même temps et le nombre de

structures anormales n'est pas aussi important que dans le cas des personnes atteintes de la DTA. D'autres perturbations tissulaires s'observent également presque toujours ; elles sont décrites par De Boni et coll. (1980) :

- ▶ une altération de la morphologie des dendrites qui deviennent plus fines, plus effilées. De nouvelles dendrites apparaissent de manière anarchique.
- ▶ une dégénérescence granulovasculaire des cellules pyramidales de l'hippocampe et des cellules des gyri temporaux médians. Les vacuoles ont de 3 à 5 mm de diamètre, contenant au centre un granule argentophilique et hématoxylique.
- ▶ une altération de la conformation de la chromatine. L'hétérochromatine devient beaucoup plus abondante que l'euchromatine dans les neurones et les cellules gliales. Cette hétérochromatisation est associée à une perturbation de la synthèse des protéines.
- ▶ des pertes neuronales affectant surtout les neurones de grande taille.

Les anomalies dendritiques, les pertes neuronales sont probablement des phénomènes qui apparaissent secondairement. On les retrouve aussi dans les processus naturel de vieillissement.

Au début du siècle, Alois Alzheimer (1907) définissait une entité anatomoclinique : la maladie d'Alzheimer, qui était une démence spécifiquement présénile, apparaissant vers l'âge de 40 à 50 ans. Tant sur le plan clinique que sur le plan histopathologique, il existe très peu de différences entre la maladie d'Alzheimer et la démence sénile dite de type Alzheimer (Constantinis, 1978), la distinction reposant essentiellement sur l'âge de l'apparition de la maladie avec une frontière fixée arbitrairement à 65 ans. Actuellement, ces affections sont réunies sous l'appellation "Démence de Type Alzheimer" (DTA).

c. Anomalie des neurotransmetteurs

α. Le déficit cholinergique

L'atteinte des systèmes cholinergiques ascendants dans la DTA a été montré tant dans les aires terminales que dans les noyaux d'origine par l'analyse biochimique, les comptages cellulaires et l'examen immunocytoologique. L'analyse biochimique effectuée sur des prélèvements autopsiques consiste à doser la cholineacétyltransférase (CAT) utilisée comme marqueur spécifique des neurones cholinergiques.

β déficit dans les aires terminales

L'activité de la CAT est toujours diminuée quel que soit l'âge au début de la maladie ou la durée de l'évolution. Cette diminution prédomine dans le cortex cérébral : néocortex et cortex hippocampique, et dans l'amygdale (Davies et Maloney, 1976 ; Perry et coll. 1983 ; Nordberg et coll. 1983 ; Yates et coll. 1983 ; Etienne et coll. 1986 ; Yates et coll. 1989). Un déficit moins important a été observé par certains dans le striatum (Rossor et coll. 1982 ; Candy et coll. 1983 ; Yates et coll. 1983). Le taux de cette baisse d'activité se situe selon les auteurs et les cas pathologiques entre 25 et 90 % ; elle est plus importante dans les formes préséniles que dans les formes séniles.

γ . atteintes des noyaux cholinergiques

Il existe à la fois une diminution de l'activité de la CAT et une diminution du nombre de neurones dans le noyau basal de Meynert. La diminution de l'activité de la CAT est toujours très importante : de 50 à 99 % (Perry et coll. 1982 ; Rossor et coll. 1982 ; Candy et coll. 1983 ; Nagai et coll. 1983 ; Mc Geer 1984). Dans les formes préséniles, la raréfaction neuronale est équivalente : de 70 à 90 % (avec à la fois une augmentation du Km et une diminution de la Vmax) alors que la perte neuronale n'est que de 33 %.

Selon Mc Geer et coll. (1984), le noyau de Meynert contiendrait 400 000 à 500 000 neurones cholinergiques chez le jeune adulte, environ 140 000 chez une personne âgée non démente et de 45 000 à 1 000 dans le cas de la DTA ; pour ces auteurs, la maladie apparaît lorsque le seuil de 100 000 est franchi.

Koshima et coll. (1986) extrait l'enzyme du cortex par chromatographie sur colonne de Séphadex, à la fois chez des personnes décédées de DTA et chez des témoins de même âge ; l'enzyme apparaît être une molécule

hétérogène, et c'est la fraction qui a le poids moléculaire la plus élevé qui semble la moins touchée par la maladie.

Candy et coll. (1983) trouvent que l'activité de l'acétylcholinestérase (AChE) est diminuée dans les noyaux des neurones du noyau basal de Meynert et est nulle dans le néocortex. Ces résultats sont à mettre en rapport avec la dégénérescence primaire des neurones. Toutefois l'AChE a été moins étudiée que la CAT car elle est non spécifique des neurones cholinergiques.

Les récepteurs cholinergiques, muscariniques en particulier, sont en quantité normale dans la DTA (Perry et coll. 1977).

En conclusion il existe dans la DTA une atteinte cholinergique qui concerne électivement les voies baso-cortico-amygdaliennes et septo-hippocampiques, et modérément les systèmes innervant les noyaux gris centraux.

Le rôle des systèmes cholinergiques dans les processus mnésiques est bien connu. Ainsi se dégage peu à peu une relation entre l'altération des systèmes cholinergiques et les déficits cliniques constatés dans les DTA, au premier plan desquels se situent les troubles de la mémoire.

L'anomalie des autres neurotransmetteurs est souvent moins évidente.

δ Les autres neurotransmetteurs

- Le système aminergique

- Le système noradrénergique

Comme pour le système cholinergique, des altérations ont été mises en évidence dans les aires terminales corticales et dans le locus coeruleus qui innerve ces mêmes voies. Sur des prélèvements biopsiques effectués au niveau des aires corticales chez des patients atteints de la forme présénile de la maladie, Berger et coll. (1980) constatent une chute de 90 % du taux de noradrénaline endogène dans le cortex frontal. Toujours à partir de biopsies provenant de formes préséniles Beuton et coll. (1982), Cross et coll. (1983), cités par Berger (1984) mettent en évidence une baisse d'activité de la dopamine β hydroxylase (DBH), enzyme de synthèse de la noréadrénaline, de

40 % en moyenne dans le cortex hippocampique, frontal, temporal et occipital.

Il faut préciser qu'il est difficile d'évaluer l'activité de la DBH à partir d'autopsies comme on le fait pour la CAT car la noradrénaline endogène et l'activité de la DBH diminuent rapidement dans les heures qui suivent la mort (Cross et coll. 1983).

Mann et Yates (1983) constatent une raréfaction neuronale de 50 à 90 % plus grande que la perte de 25 à 40 % liée au vieillissement. Les fibres noradrénergiques restantes sont segmentées et se terminent par de gros renflements fusiformes ou arrondis, presque toujours au voisinage des plaques séniles (Berger et coll. 1984). D'autres études montrent au contraire que très peu de malades ont une raréfaction cellulaire (Formo 1978 ; Bondareff et coll. 1982). L'interprétation des anomalies du système noradrénergique suscite encore des controverses.

- L'acide gamma-aminobutyrique (GABA)

Constantinidis et coll. (1984) constatent une réduction du GABA et des récepteurs du GABA dans le cortex. Rossor et coll. (1982) avaient fait les mêmes constatations. Mohr et coll. (1986) montrent à leur tour une diminution du GABA dans la maladie d'Alzheimer, mais une stimulation des synapses gabaergiques n'a aucun effet thérapeutique sur la DTA. Le système sérotoninergique ne semble pas affecté par la maladie.

• Aminoacides et peptides

Rossor et coll. (1980) observent une baisse de 47 % du taux de somatostatine dans le cortex temporal seulement, dans 15 cas de forme sénile. En revanche, Davies et Terry (1981), cités par Berger (1984) mettent en évidence une réduction plus grande et plus diffuse (75 % dans le cortex frontal, temporal moyen et hippocampique, 58 à 68 % dans les autres régions corticales). Le parallélisme constant des déficits en somatostatine et en CAT a fait émettre à ces auteurs l'hypothèse d'une colocalisation.

En conclusion, une atteinte peptidergique n'a été démontrée dans la maladie d'Alzheimer que dans le cortex cérébral et ne paraît concerner, dans l'état actuel des connaissances, que la somatostatine.

d. Autres anomalies

α. Perturbations du métabolisme du glucose

Friedland et coll. (1985) rapportent une diminution de 27 % du métabolisme du glucose chez des patients atteints de DTA.

Hoyer et coll. (1988), étudiant le métabolisme du glucose chez des personnes atteintes de DTA depuis peu de temps, trouvent qu'il est réduit de 44% alors que la production de lactate est multipliée par quatre. Le flux sanguin cérébral et la consommation d'oxygène sont normaux. Selon ces auteurs, le dérèglement pourrait avoir lieu au début de l'oxydation, par exemple au niveau de la pyruvate déshydrogénase. Marcus et coll. (1989) étudie la capacité de mobilisation du glucose par des microvaisseaux isolés du cerveau de malades atteints de DTA : il montre que cette capacité est diminuée et que la raison est une diminution de l'activité de l'hexokinase.

Dans ces structures, la réaction modifiée est la phosphorylation du glucose (Fukuyama et coll. 1989).

Friedland et coll. (1989) trouvent également que la réduction de l'utilisation du glucose est liée à une diminution de l'activité de l'hexokinase, mais aussi à la perte des neurones. Son processus de transport à travers la barrière hémocéphalique n'est pas modifié.

Pour Wieniewski et Koslowski (1982), les plaques neuritiques contiennent une protéine sérique donc la perméabilité des microvaisseaux est modifiée dans la DTA. Harik et Gunigal (1984) montrent que le locus coeruleus a un effet protecteur sur la BHE, or nous avons relaté une perte neuronale dans cette structure - mais ceci n'est pas une preuve.

Rozemuller et coll. (1988) ne détectent pas de protéines d'origine plasmatique dans le neuropile et pour ces auteurs la BHE n'est pas altérée. De même pour Leonardi et coll. (1985), cités par Vinters et Partridge (1986) et pour Shlageter et coll. (1987), la BHE est intacte.

L'angiopathie cérébrale amyloïde est une microangiopathie qui affecte 90 % des gens atteints de DTA (Ranalli et Bergeron 1984) ; or cette affection se traduit en particulier par une altération de la perméabilité de la BHE. Mais l'angiopathie est associée à d'autres maladies dégénératives.

B. Causes possibles

Depuis que la DTA a été individualisée, un grand nombre d'hypothèses ont été avancées pour expliquer son déclenchement. Il pourrait s'agir d'une maladie d'origine endogène : soit génétique, soit métabolique. La cause pourrait être aussi exogène : un virus, la malnutrition, un toxique.

Sans en écarter aucune, il faut bien admettre que certaines hypothèses sont actuellement plus plausibles que d'autres. Elles seront néanmoins toutes envisagées et discutées. Enfin nous évoquerons la possibilité d'une origine mixte c'est-à-dire à la fois exogène et endogène.

a. L'hypothèse aluminique

α. Arguments en faveur de cette hypothèse

1] On a trouvé de l'aluminium dans le cerveau de patients atteints de DTA

La quantité moyenne d'aluminium contenue dans le cerveau de personnes normales, ne possédant pas de filaments en dégénérescence est, exprimée par rapport au poids sec, de $1,9 \pm 0,7$ mg/kg (Crapper et coll. 1976) et $2,2$ mg/kg (Alfrey et coll. 1976). Mc Dermott et coll. (1977) rapportent des valeurs de $1,53 \pm 0,5$ mg/kg pour l'ensemble du cerveau et $1,67 \pm 0,6$ mg/kg pour le cortex frontal et l'hippocampe de personnes saines.

Crapper et coll. (1976), évaluant les taux d'aluminium chez 10 patients atteints de DTA, trouvent que, dans les 1/3 des aires néocorticales, les concentrations en aluminium sont plus élevées que chez les témoins ; la moyenne des différentes valeurs trouvées chez les malades est de $3,8$ mg/kg de poids sec ($n = 585$).

Plusieurs autres auteurs rapportent des taux plus élevés dans le cerveau de personnes décédées de DTA que chez des personnes de même âge non atteintes de cette maladie (Crapper et coll. 1973, Trapp et coll. 1978 ; Yoshimasu et coll. 1985 ; Ward et Mason 1986 cités par Krishnan et coll. 1988).

Kruck et coll. (1986), cités par Krishnan et coll. (1988) signalent que l'aluminium contenu dans le cerveau de malades atteints de DTA peut être ramené de $4,07$ mg/kg de poids sec (concentration à laquelle il est toxique) à

2,84 mg/kg de poids sec (concentration proche des valeurs normales) par des injections intramusculaires de DFO.

Les concentrations en aluminium trouvées dans le cerveau sont de 20 à 30 % supérieures à celles des témoins. A titre de comparaison, dans l'encéphalopathie progressive de dialysés, elles sont augmentées de 500 % ou davantage.

Cependant pour Mc Dermott et coll. (1977), et Markesbery et coll. (1981), les patients atteints de DTA n'ont pas plus d'aluminium dans le cerveau que les autres ; par contre la concentration augmente avec l'âge.

2] De l'aluminium a été détecté au niveau des lésions histologiques de la DTA

Duckett et Galle (1976) cités par Krishnan et coll. (1988), Candy et coll. (1986) détectent le métal dans la partie centrale des plaques neuritiques, par microanalyse aux rayons X. Kobayashi et coll. (1987), cités par Graves et coll. (1990) trouvent de l'aluminium au niveau des neurofilaments en dégénérescence d'une personne atteinte de DTA ayant travaillé pendant trente ans dans une raffinerie d'aluminium. Joshi et coll. (1985), cité par Krishnan et coll. (1988), montrent que de l'aluminium est associé à la ferritine. D'après Crapper Mc Lachlan (1986), dans la DTA, l'aluminium apparaît au niveau de quatre ultrastructures : les neurofilaments en dégénérescence, l'ADN nucléaire, les plaques amyloïdes, la ferritine et, selon ces auteurs, si le métal n'est pas toujours détecté, c'est que la technique employée n'est pas assez sensible.

3] Expérimentalement des intoxications aluminiques peuvent induire des lésions histopathologiques et des troubles comportementaux analogues à ceux de la DTA

Crapper et coll. (1973) pratiquent des injections intracrâniennes de chlorure d'aluminium à des chats en même temps qu'ils étudient leur vitesse d'acquisition. Ensuite ils sacrifient les animaux et font une histologie du cerveau. Les résultats de cette étude peuvent être ainsi résumés : pour une concentration en aluminium du cerveau dix fois supérieure à celle des témoins et peu différente de celle trouvée chez les patients atteints de DTA, la vitesse d'apprentissage est réduite et les neurones contiennent des dégénérescences neurifibrillaires. Il ya une relation linéaire entre d'une part

le nombre et la distribution des neurones contenant des neurofilaments en dégénérescence, et d'autre part les performances réalisées. Il existe également une corrélation significative entre la concentration en aluminium dans certaines régions du cerveau et la teneur en neurofilaments des neurones.

La même année, Crapper et coll. (1973) font des injections intracrâniennes (intracisternales et intracorticales) chez le Lapin. Ils observent de la même façon des neurofilaments dégénérés et des troubles comportementaux. En ce qui concerne le comportement l'évolution se fait en trois temps : dans un premier temps l'activité locomotrice diminue, puis les animaux deviennent apathiques, se déplacent rarement. Enfin ils sont pris de myoclonies, de convulsions généralisées et meurent au stade épileptique. Le nombre de microtubules diminue, ce qui perturbe le transport des substances nécessaires à l'activité synaptique, avec pour conséquence sans doute la modification des potentiels d'action postsynaptiques constatée par les auteurs. L'amplitude des potentiels visuels diminue, en relation avec le nombre de neurones affectés. L'électroencéphalogramme est peu altéré jusqu'à un stade avancé de l'encéphalopathie. Crapper et coll. (1975) montrent que la fréquence de décharge des neurones impliqués dans l'activité visuelle est augmentée à la suite d'une stimulation.

Wisniewski et coll. (1982) injectent de la poussière d'aluminium dans le cerveau de lapins et observent des troubles cliniques et histologiques identiques à ceux observés par les auteurs précédents, mais ils apparaissent plus tardivement (quelques mois contre quelques semaines). Ils remarquent aussi que les neurofilaments persistent plus de 12 mois après l'injection.

Bugiani et Ghetti (1982) provoquent, à la suite d'injections intracrâniennes de chlorure d'aluminium à des Lapins, une encéphalomyélopathie lente et progressive de la corne antérieure de la moelle épinière et de la substance grise cérébrale, accompagnée d'une atrophie musculaire. Ceci peut constituer une interprétation des observations cliniques de Crapper et coll. (1973).

Wisniewski et coll. (1984) observent aussi que dans les moelles épinières de lapins ayant reçu des injections intracisternales d' AlCl_3 , les axones et les dendrites présentent des épaississements.

Lipman et coll. (1988) provoquent une encéphalie progressive chez des rats après une seule injection intracrânienne de tartrate d'aluminium. La dose injectée (0,2057 mg d'aluminium métal) reproduit les concentrations en aluminium trouvées dans le cerveau des dialysés. Elle entraîne des modifications du comportement (frayeur, discoordination locomotrice), de la fonction d'apprentissage et de mémorisation, et des troubles de l'électrocorticogramme. Les animaux meurent entre 30 et 35 jours après l'intoxication. La concentration en aluminium de la matière grise est 5 à 6 fois supérieure à celle des témoins ; il n'y a pas de neurofilaments en dégénérescence.

4] L'aluminium modifie l'activité des enzymes du métabolisme de l'acétylcholine : l'acétylcholinestérase (AChE) et la cholineacétyltransférase (CAT)

Patocka (1971) montre que l' Al^{3+} active l'AChE plasmatique et érythrocytaire de Bœuf en présence de NaCl. Yates et coll. (1980) observent chez le Lapin à la fois une diminution de l'activité de CAT et de AChE après l'injection intracisternale de $AlCl_3$. Chez le même animal, et après le même type d'injection, Kosik et coll. (1983) constatent une diminution de l'activité de la CAT dans le nerf sciatique. Marquis (1982), Marquis et Lerrick (1982) montrent que AChE extraite de l'organe électrique de *Electrophorus electricus* est inhibée par Al^{3+} ; l'inhibition est non compétitive. L'activité de l'enzyme diminue également chez le jeune Rat dont la mère a bu de l'eau enrichie en aluminium, mais augmente chez l'adulte (Marquis 1982).

5] Lorsque l'eau de boisson est enrichie en aluminium, la prévalence de la DTA augmente.

Martyn et coll. (1989), cités par Graves et coll. (1990) rapportent une étude réalisée à partir de 88 districts en Angleterre et au Pays de Galles qui montre que la prévalence de la DTA augmente chez les personnes de plus de 70 ans dans les zones où la concentration aluminique de l'eau de boisson est supérieure à 0,01 mg/l depuis plus de dix ans.

β Arguments tendant à s'opposer à l'hypothèse aluminique

Le problème de la dégénérescence neurofibrillaire

- La dégénérescence neurofibrillaire n'est pas spécifique de la DTA. Une telle dégénérescence s'observe chez le vieillard ne présentant aucun signe de la maladie. Simplement les zones de dégénérescence sont beaucoup moins nombreuses.

- Expérimentalement, des injections intracrâniennes de sels d'aluminium induisent des dégénérescences chez le Lapin, le Chat, l'Ane mais pas chez le Rat (King et coll., 1975).

Notons toutefois, à propos du Rat, que Langui et coll. (1988) ont observé l'apparition de neurofilaments dans le péricaryon et les dendrites de neurones provenant d'animaux âgés de un jour et cultivés sur des fibres astrogliales en présence de $AlCl_3$. Mais ces filaments ne sont pas associés à des protéines ni à des microtubules comme ceux de la DTA.

Van Welsum et coll. (1989) n'ont pas observé de telles dégénérescences en cultivant de cellules fœtales d'hippocampe de Rat sur un milieu artificiel contenant de l'aluminium ; ils ont toutefois remarqué une modification de l'ultrastructure des microtubules. Cependant Schmidt et coll. (1991) contestent le fait que l'Al puisse avoir un effet sur la polymérisation de la tubuline.

- Les neurofilaments observés dans la DTA sont assemblés par paires de filaments hélicoïdaux de 10 nm de diamètre. Les filaments induits par l'aluminium dans le modèle animal ont une structure différente : ce sont de simples fibres, de 10 nm de diamètre également. De plus, chez l'animal, on n'observe pas de plaques séniles.

- Dans l'encéphalopathie aluminique, où les concentrations en aluminium trouvées dans la substance grise sont environ dix fois plus importantes que celles trouvées dans la maladie d'Alzheimer, il n'y a pas de dégénérescence neurofibrillaire, ni de plaques neuritiques.

S'il est vrai que l'aluminium est le seul métal trouvé en quantité relativement abondante dans le cerveau des malades atteints de la DTA, son accumulation pourrait être la conséquence et non la cause de la maladie.

b. L'origine virale et l'origine alimentaire

Terry (1982) inocule à des souris le virus "scrapie". Les animaux développent des signes neuropathiques analogues à ceux de la DTA : neurofilaments, plaques séniles. Ils constatent également un changement de perméabilité de la barrière hémocéphalique.

Abalan (1984) émet l'hypothèse que la maladie pourrait être due à l'alimentation, liée ou non à l'absorption.

Ces deux hypothèses paraissent actuellement peu probables. Les recherches les plus récentes s'orientent plutôt vers les causes endogènes : génétiques ou métaboliques.

c. L'origine génétique

A partir de l'âge de 40 ans, les personnes atteintes du Syndrome de Down (Trisomie 21) développent les mêmes symptômes que les malades atteints de DTA et à l'autopsie, le cerveau contient des plaques neuritiques et des neurofilaments en dégénérescence. On a alors imaginé que la DTA était gouvernée par un gène allèle situé sur le chromosome 21.

St George-Hyslop et coll. (1987), cités par Silverman et coll. (1990), en étudiant l'arbre généalogique de quatre familles dans lesquelles de nombreuses personnes sont atteintes de la DTA, localisent effectivement le gène sur les deux chromosomes 21, au niveau des loci D21S1/D21S11 et D21S16.

Le dépôt de la protéine amyloïde dans les plaques neuritiques et le long des vaisseaux cérébraux est l'une des caractéristiques de la DTA. Tanzi et coll. (1987), cités par Benowitz et coll. (1989) montrent que le précurseur de cette protéine est gouverné par un gène situé sur le chromosome 21.

Roses et coll. (1988), cités par Silverman et coll. (1990), à partir d'une étude portant sur huit familles comportant de nombreux cas de DTA, excluent la possibilité d'un lien avec le chromosome 21. David et coll. (1987) ne parviennent pas non plus à localiser le gène sur le chromosome 21 en utilisant une sonde génétique.

Nee et coll. (1987) rapportent que dans certaines familles comportant des jumeaux homozygotes de plus de 80 ans, un seul est atteint de la DTA. Ceci prouve que si le facteur génétique intervient, il n'est pas le seul.

Les dépôts de protéine amyloïde semblent être plutôt une conséquence de la maladie. Une théorie suggère que le précurseur de cette protéine provient de la dégénérescence des neurones et qu'il se dépose

secondairement au niveau des plaques. Une autre théorie propose une origine extracérébrale de la protéine ; le précurseur proviendrait du sang et passerait au travers de la barrière hémocéphalique endommagée. Il se déposerait dans les vaisseaux créant ainsi une angiopathie particulière et au niveau des plaques séniles. Ce modèle de la "protéine anormale" suppose que la barrière hémocéphalique soit altérée. L'idée selon laquelle la protéine amyloïde n'est pas fabriquée par les neurones est renforcée par le fait qu'elle a été trouvée dans la substance blanche (Behrouz et coll. 1990).

d. L'altération du métabolisme

Pour Friedland et coll. (1985), ainsi que pour Hoyer et coll. (1988) qui ont étudié des patients au stade primaire de la maladie, l'origine serait due à une diminution du métabolisme du glucose.

D'après Mufson et coll. (1989), la réduction de l'uptake du glucose par les microvaisseaux du cerveau pourrait avoir un lien avec la réduction de la quantité d'acétylcholine.

La réduction de la quantité d'acétylcholine, due à une réduction de l'activité de la CAT pourrait être liée à une réduction du (NGF). Ce facteur, fabriqué dans le cortex et l'hippocampe, deux structures particulièrement affectées par la maladie, stimule les neurones cholinergiques après transport rétrograde. Chez le jeune Rat, il augmente l'activité de la CAT lorsqu'il est injecté dans le cerveau alors que chez le Rat âgé, des lésions de l'hippocampe réduisent les neurones cholinergiques de plus de 50 % (Mobley et coll. 1986, cité par Appel et coll. 1988). De même Appel et coll. (1988) rapportent que lorsque des neurones cholinergiques d'embryon de Rat sont cultivés dans un milieu additionné d'extrait d'hippocampe, l'activité de la CAT double.

La réduction de la sécrétion du NGF ou la réduction du métabolisme du glucose pourraient avoir un rôle déterminant dans la dégénérescence des neurones cholinergiques, mais les données actuelles, trop peu nombreuses, ne permettent pas de dire s'il s'agit de causes ou de conséquences de la maladie.

Enfin d'après Hertz (1989), la DTA serait la conséquence d'une déficience des interactions métaboliques et fonctionnelles entre les neurones et les astrocytes au niveau du cortex cérébral, de l'hippocampe et du noyau basal

magnocellulaire, mais l'origine serait la dégénérescence des neurones ascendants adrénergiques du locus coeruleus et/ou des neurones sérotonergiques du raphé.

La DTA pourrait être due à la fois à des facteurs exogènes et endogènes :

- Selon Tzourio et coll. (1991), la DTA pourrait avoir à la fois une origine génétique et une origine environnementale. Dans la forme génétique, la transmission est de type autosomal dominant. Quant à la forme environnementale, elle serait le résultat de l'exposition d'une fraction de la population à un certain nombre de facteurs de risque bien précis.

- L'hypothèse de Roberts prend en compte le vieillissement, une prédisposition génétique et une intoxication par les aluminosilicates.

Selon Roberts (1986), les aluminosilicates présents dans l'environnement franchiraient la muqueuse olfactive, suite à une altération des mécanismes de défense liée au vieillissement, et atteindraient le système olfactif du cerveau par transport rétrograde. Une fois parvenus dans le cerveau, ils catalyseraient la mort cellulaire en accélérant la production de la protéine amyloïde, chez les personnes présentant une prédisposition génétique.

Il existe un certain nombre d'arguments en faveur de cette hypothèse : les aluminosilicates sont très abondants dans l'environnement, l'aluminium et le silicium ont été co-localisés au centre des plaques séniles parfois même sous forme d'aluminosilicates et leur teneur augmente avec l'âge dans le cerveau.

La zéolite peut catalyser l'hydrolyse des polypeptides en sous-unités plus petites qui s'agrègent alors d'elles-mêmes en formant des ponts peptidiques, comme on l'observe dans les plaques neuritiques.

Cependant il n'est pas prouvé que les aluminosilicates puissent atteindre le système nerveux. Corwin et coll. (1986) ont pratiqué des tests de détection, de discrimination et d'identification d'odeurs et montré que l'altération de la fonction olfactive n'est pas plus importante que celle d'autres fonctions sensibles, et n'est pas plus prononcée dans la DTA que dans d'autres maladies. D'ailleurs la pathologie de la DTA ne se limite pas aux zones olfactives.

- Selon une autre hypothèse, l'aluminium interviendrait lors de la synthèse de la protéine amyloïde.

Cette hypothèse prend en compte la capacité de l'aluminium à se lier avec l'aspartate et le glutamate. Le métal franchirait la BHE en formant un complexe avec le glutamate comme il le fait au travers de la membrane de l'érythrocyte (Deloncle et coll. 1990). Parvenu dans le cerveau, il se lierait à la fois à la protéine amyloïde, à son précurseur et aux neurofilaments. En effet les neurofilaments contiennent deux groupements adjacents d'acide aspartique. La protéine amyloïde séquencée par Glenner et Wong (1984) contient un acide aspartique adjacent à un acide glutamique, et son précurseur codé par le chromosome 21 est lui-même riche en acide aspartique et en acide glutamique (Delamarche 1989, cité par Deloncle 1990).

L'agrégation de la protéine et des neurofilaments serait provoquée par l'aluminium. Quant au précurseur, il n'atteindrait pas la membrane comme il le fait normalement et serait alors produit en excès par un mécanisme de feed-back (Deloncle et coll. 1990).

Cette hypothèse prend en compte un grand nombre d'observations, mais elle est également discutable. Puisque l'aluminium forme un complexe avec le glutamate, les neurones cibles devraient être les neurones glutaminergiques de l'aire associative, de l'hippocampe et de l'amygdale. Si le métal a bien été localisé au niveau des structures précédentes, les neurones les plus affectés par la DTA ne sont pas les neurones glutaminergiques, mais les neurones cholinergiques. On notera ici l'intérêt de rechercher l'impact de l'aluminium sur les neurones cholinergiques.

L'aluminium pourrait aussi intervenir de manière indirecte en facilitant le passage de peptides sériques qui interviendraient dans la synthèse de la protéine amyloïde. En effet un certain nombre d'hypothèses prennent en compte une altération de la BHE et plusieurs travaux ont montré qu'il modifie sa perméabilité. Selon Banks et Kastin (1983), une injection d'aluminium à la dose de 100 mg/kg dans la carotide de Rats augmente la pénétration de la β endorphine de 80 %. Chez la souris, la même dose administrée par voie I.P. inhibe le transport des enképhalines, de la beta casomorphine et du Tyr-Pro-Leu-Gly-amide (peptide aux propriétés antiopiacées) de 90 % (Banks et coll. 1987). Le prélèvement par le cerveau du GABA, de la glycine et de la choline sériques sont également affectés par l'aluminium (Lai et coll. 1980). Par contre le flux sanguin cérébral, les propriétés hémodynamiques cérébrales, la quantité de sang dans le cerveau et l'hématocrite du sang cérébral ne sont pas modifiés par un traitement à l'aluminium ; de même, les *Tight junctions* demeurent intactes : l'aluminium

stimule la diffusion transmembranaire et modifie de façon sélective les systèmes de transport saturables sans altérer l'intégrité des membranes (Banks et Kastin 1989).

3.2.2. La sclérose amyotrophique latérale

La sclérose amyotrophique latérale (S.A.L.) est une maladie qui était particulièrement fréquente dans les années soixante dans trois régions du monde bien précises : l'île de Guam dans l'archipel des îles Mariannes, l'Ouest de la Nouvelle-Guinée et la péninsule de Kii au Japon. Par exemple, dans l'île de Guam, l'incidence était de 50 à 100 fois supérieure à celle des Etats-Unis, et un chamorro sur cinq décédait de cette maladie. Aujourd'hui, l'incidence est seulement de quelques fois supérieure à celle des autres pays, mais l'étiologie reste inconnue.

La maladie apparaît vers l'âge de 35 ans, se développe en 3 à 5 ans, et les malades décèdent le plus souvent aux environs de 50 ans. Du point de vue histologique, les neurones affectés sont principalement les motoneurones du cerveau et les neurones de la corne antérieure de la moelle épinière : ces cellules présentent une dégénérescence neurofibrillaire, et les neurofilaments ont la même ultrastructure que ceux de la DTA. Les plaques séniles sont rares.

L'environnement pourrait jouer un rôle déterminant dans l'apparition de la S.A.L. Ces trois régions présentent en effet les mêmes caractéristiques géologiques : des sols riches en aluminium et en manganèse, et pauvres en calcium. Dans l'île de Guam, l'eau contient de 100 à 400 µg/l d'aluminium. Or à l'autopsie des personnes décédées de la maladie, l'aluminium apparaît environ deux fois plus concentré que chez les témoins dans plusieurs régions du cerveau et quatre fois plus concentré dans la moelle épinière (Yoshimasu et coll. 1980, cités par Ganrot 1986).

Du point de vue cytotologique, l'aluminium s'accumule dans le noyau et dans le péricaryon des neurones (Perl et coll. 1982).

Plusieurs expériences ont été menées afin de tester cette hypothèse. Yoshida et coll. (1990) nourrissent des ânes avec un régime déficient en calcium et en magnésium, mais riche en aluminium, pendant un an. Au bout d'un an, les animaux sont sacrifiés ; les neurones de la moelle épinière présentent une dégénérescence neurofibrillaire et un gonflement des

axones. La concentration en aluminium dans le tissu nerveux augmente faiblement, de façon non significative. Garruto et coll. (1989) avaient observé des résultats similaires chez le singe. Yase (1980) signale que le taux sérique de parathormone est environ trois fois plus élevé chez les malades atteints de S.A.L. que chez les témoins et la PTH stimule l'absorption de l'aluminium. Celui-ci pourrait intervenir dans l'origine de la maladie, sans doute avec d'autres facteurs. Le fait que l'incidence de la maladie a fortement diminué ces dernières années suggère que probablement plusieurs facteurs environnementaux interviennent.

4.MECANISMES D'ACTION DE L'ALUMINIUM

L'aluminium exerce un certain nombre d'effets sur les molécules biologiques, prouvés expérimentalement. Ces effets peuvent contribuer à l'apparition des maladies citées précédemment.

4.1. L'aluminium modifie la conformation d'un certain nombre de molécules

La calmoduline est une protéine qui module les processus cellulaires dans lesquels le calcium est le second messager. L'activation de l'AMPc dépend de la calmoduline car la phosphodiesterase est calcium-calmoduline dépendante. Les ATPases sont également stimulées par la calmoduline. Elle est très concentrée dans le tissu nerveux, et plus particulièrement dans le cortex frontal. Le calcium, en se liant à l'hélice α de la protéine, augmente sa surface hydrophobe. L'aluminium se lie à la calmoduline avec dix fois plus d'affinité que le calcium et réduit la surface hydrophobe de l'hélice α ; la protéine est inactivée (Siegel et Haug 1983).

Chez les êtres vivants, tous les acides aminés sont sous la forme L, mais des rats dont les aliments sont enrichis en aluminium ont du D-Aspartate dans le cerveau, au niveau de la myéline (Anderson et coll. 1990). Cette racémisation de l'aspartate a également été trouvée au niveau des plaques séniles et des filaments en dégénérescence (Payan et coll. 1985, cités par Anderson et coll. 1990). Dans cette expérience, les auteurs observent aussi une gliose, une perte de neurones et des changements neurofibrillaires.

In vitro, la polymérisation de la tubuline extraite du cerveau de Rat est totalement bloquée à la concentration en AlCl_3 de 10 mM (Bonhaus et coll. 1980). D'après Yokel et coll. (1988), dans la DTA, les sites de liaison du GTP

à la sous-unité β de la tubuline, indispensables à la polymérisation, sont considérablement réduits, ce qui serait à l'origine de la dégénérescence. La responsabilité de l'aluminium dans la DTA pourrait se situer à ce niveau.

4.2. L'aluminium modifie l'activité d'hormones, d'enzymes ou de médiateurs d'enzymes

In vivo, chez le Rat, la quantité d'AMPc augmente dans le cortex cérébral après une intoxication aluminique suffisante (Richart et coll. 1985, cités par Johnson et Jope 1986).

In vitro, la quantité d'AMPc synthétisée peut être multipliée par dix en additionnant AlCl_3 au milieu (Johnson et Jope 1986). Laussac et Laurent (1980) étudient les interactions entre l'aluminium et l'ATP par résonance magnétique nucléaire. Entre les pH 4,4 et 7,5, l'aluminium se lie fortement aux groupements phosphates β et γ de l'ATP. Entre les pH 6 et 10,2, l'aluminium forme un second complexe avec l'ATP, plus labile ; il est alors lié aux groupements phosphates α et β . Rappelons que l'aluminium se lie aussi aux groupements phosphates de la chromatine, entraînant une modification de son activité de synthèse.

L'aluminium inhibe l'activité de la Na-K-ATPase et, à un degré moindre, celle de la Mg-ATPase (Lai et coll. 1980).

Harrison et coll. (1972) montrent que l'aluminium inhibe l'hexokinase dans différents organes dont le cerveau ; Al^{3+} pourrait entrer en compétition avec Mg^{2+} , le complexe Al-ATP n'étant plus un substrat pour l'enzyme (Trapp 1986). Yoshino (1990) montre effectivement que l'hexokinase purifiée à partir du cerveau humain est inhibée par l'ion aluminium de manière compétitive, par rapport au substrat Mg-ATP.

Lorsque des rats intoxiqués à l'aluminium par voie orale à raison de 1000 ppm par jour pendant 120 jours reçoivent en plus dans leurs aliments du cuivre et du zinc à des doses suboptimales, l'activité de la dopamine betahydroxylase et de la phényléthanolamine N méthyltransférase diminue dans le cortex frontal, l'hippocampe et le cervelet. L'aluminium interagit avec le cuivre et le zinc dans l'activité des enzymes (Wenk et Stemmer, 1983).

Marquis et Black (1984) étudient, *in vitro*, la toxicité de Al^{3+} sur l'activité de l'acétylcholinestérase partiellement purifiée à partir du noyau caudal de

Boeuf. A des concentrations en aluminium allant de 1 à 10 μM , l'activité de l'enzyme augmente sans que l'affinité de son site catalytique pour le substrat ne soit modifiée. Aux fortes concentrations (de 5 à 200 μM), l'activité est inhibée de manière compétitive.

4.3 L'aluminium modifie la perméabilité des membranes à un certain nombre de composés

L'interaction possible de l'aluminium avec d'autres éléments chimiques dans la membrane plasmique, de l'entérocyte ou au niveau de la barrière hémocéphalique a été signalée. Plusieurs expériences montrent que l'aluminium stimule ou inhibe l'entrée ou la sortie de molécules et d'ions dans les neurones ainsi que dans les cellules de glandes endocrines.

Morrissey et coll. (1983) montrent, à partir de cultures de cellules parathyroïdiennes bovines que des concentrations en aluminium allant de 0.5 à 2 mM dans un milieu pauvre en calcium inhibent progressivement la sécrétion de PTH ; à 2 mM, l'inhibition est de 68%. Selon les auteurs, l'aluminium ne modifie pas la synthèse protéique des cellules ni la conversion de l'hormone parathyroïdienne en hormone parathyroïdienne, mais agit directement sur la sécrétion de la protéine.

Dans le paragraphe 2 précédent, il a été dit que l'aluminium inhibe l'activité de la Na-K-ATPase et de la Mg-ATPase (Lai et coll. 1980). Ces deux enzymes interviennent dans le transport trans-membranaire de nombreux composés.

Banin et Meiri (1987) montrent que le chlorure d'aluminium stimule la libération d'acétylcholine par le neurone moteur de Grenouille *in vitro*. L'augmentation est dose dépendante et est indépendante de la concentration en calcium dans le milieu extracellulaire. L'amplitude des potentiels synaptiques est plus grande en présence d'aluminium. La concentration en aluminium du milieu de vie des cellules varie de 0 à 200 $\mu\text{g/ml}$, autrement dit elle "couvre la gamme" des teneurs trouvées dans le cerveau des personnes atteintes de DTA et d'encéphalopathie.

Sur des préparations synaptosomales provenant du cerveau de Rat, Lai et coll. (1982) découvrent que des concentrations d'aluminium allant de 20 à 250 μM stimulent l'*uptake* de la noradrénaline. A des concentrations supérieures à 300 μM , l'*uptake* est inhibé. L'effet de l'aluminium est

potentialisé par l'addition de calcium dans le milieu. L'*uptake* de la choline est également inhibé par l'aluminium.

Elble et coll. (1989), à partir d'une étude portant sur 66 malades atteints de DTA, trouvent que le taux de choline augmente dans le liquide cérebrospinal, en relation avec le degré d'avancement de la maladie. Ils suggèrent que cette augmentation pourrait être due à un détachement de la fraction liée à la membrane des neurones et à une réduction de l'*uptake* de la choline par les neurones cholinergiques.

BUT DU TRAVAIL

La responsabilité de l'aluminium dans l'encéphalopathie des dialysés a été prouvée mais son mode d'action demeure inconnu. De l'aluminium a été décelé dans certaines structures cérébrales des malades atteints de la Démence de type Alzheimer, et le métal pourrait jouer un rôle dans son étiologie. Ces deux maladies se traduisent, entre autres, par un trouble clinique important : la perte de mémoire. Or de très nombreux travaux attestent du rôle primordial de l'acétylcholine dans les fonctions mnésiques, et dans la Démence de type Alzheimer, les neurones cholinergiques sont particulièrement affectés. C'est la raison pour laquelle il a été décidé de rechercher l'impact de Al sur l'activité de la Cholineacétyltransférase cérébrale

Chez l'adulte atteint d'encéphalopathie aluminique, le toxique qui s'est accumulé dans le cerveau provient principalement du bain de dialyse mais aussi de l'absorption d'une fraction de l'aluminium administré par voie orale. Par contre chez le nourrisson et l'enfant, la seule prise de composés aluminiques *per os* peut suffire à provoquer une encéphalopathie ; ils apparaissent donc plus sensibles que l'adulte. C'est pourquoi l'effet de l'aluminium sur l'activité de la CAT a été recherché chez l'adulte et au cours du développement, à partir d'études *in vitro* puis d'intoxications orales et intrapéritonéales. Enfin comme il s'est avéré que les intoxications *in vivo* ont entraîné un retard de croissance chez les animaux traités, l'impact éventuel de l'aluminium sur un certain nombre de variables d'ordre nutritionnel a été examiné.

Première partie :

Etude *in vitro* de l'effet du chlorure d'aluminium sur
l'activité de la cholineacétyltransférase chez le Rat au cours
du développement

INTRODUCTION

L'aluminium est la cause de l'encéphalopathie des insuffisants rénaux jeunes et adultes, et pourrait être impliqué dans l'étiologie de la démence de type Alzheimer.

Dans la DTA, l'activité de la CAT est fortement diminuée, cette diminution étant due à une perte de neurones cholinergiques dans le noyau basal antérieur de Meynert. Une réduction de l'activité de la CAT a également été observée chez les dialysés atteints d'encéphalopathie des dialysés, bien qu'elle soit moins marquée.

Dans les deux maladies, les fonctions d'apprentissage et de mémorisation sont affectées et chez l'Homme le rôle de l'acétylcholine dans les processus mnésiques a été montré par de nombreuses études pharmacologiques et biochimiques (Drachman 1977, Dundee et Pandit 1972, cités par Mayo 1989).

Chez le Rat, plusieurs méthodes d'investigation ont permis de décrire avec précision les systèmes cholinergiques et de prouver leur implication dans les mécanismes de mémorisation.. L'essentiel de l'innervation cholinergique des différentes zones du cerveau provient du cerveau basal antérieur, en particulier du noyau basal de Meynert (NBM). 90 % des neurones présents dans ce noyau sont cholinergiques ; ils ont été décrits par Ichikawa et Hirata (1986) qui ont utilisé des anticorps monoclonaux contre la CAT. La stimulation électrique du NBM entraîne une libération d'acétylcholine dans le cortex ipsilatéral (Kurosawa et coll. 1989) et sa destruction par injection d'acide iboténique (Pepeu et coll. 1986 ; Wenk et coll. 1986) ou d'acide quinolinique (Beninger et coll. 1989) s'accompagne d'une diminution de l'activité de la CAT et d'une perturbation de la mémoire. Bartus et coll. (1982) avaient déjà montré que chez les rats âgés le déficit d'apprentissage et de mémorisation était lié à une diminution des fonctions cholinergiques.

Les techniques immunocytochimiques ont montré que la CAT se trouve non seulement au niveau du cerveau basal antérieur, mais aussi dans le neostriatum et l'hippocampe (Sofroniew et coll. 1982; Levey et coll. 1983 ; Nagai et coll. 1983 ; Armstrong et coll. 1983 ; Mc Geer 1984 ; Wainer et Rye 1984).

La première partie du travail a donc consisté à rechercher l'effet de l'aluminium sur l'activité de la CAT *in vitro*, à partir d'homogénats de cerveau basal antérieur et de neostriatum de Rat en développement.

1 MATERIEL ET METHODE

1.1 Animaux

Les expériences sont réalisées sur des rats albinos de race Wistar (Iffa Credo, l'Arbresle France) issus d'un élevage réalisé au laboratoire.

Les animaux sont sevrés à l'âge de 21 jours. Avant cette date, ils sont avec leur mère jusqu'au jour de l'expérience. Après sevrage, ils reçoivent comme leur mère une nourriture standard sous forme de croquettes (Extra Labo, Provins France) et de l'eau *at libitum*. Tous les rats sont élevés dans des cages en plastique dans une pièce dont l'air est conditionné, et la température constante (20 à 22 °C). L'éclairage circadien est normal ; la période lumineuse allant de 7 à 19h.

Les expériences sont menées à partir de rats âgés de 2 jours (6-7,7 g), 7 jours (11-16 g), 13 jours (19-24 g), 15 jours (22-35 g), 30 jours (90-110 g), 60 jours (270-310 g) et de rats mâles adultes (350-400 g).

1.2 Principe de la méthode

L'activité de l'enzyme est évaluée grâce à la méthode mise au point par Fonnum (1975). Il s'agit d'une microméthode utilisant la radioactivité dont le principe est le suivant : l'acétylcholinetransférase contenue dans l'homogénat de cerveau est mise en présence d'acétyl-

coenzyme A marqué au ^{14}C et de choline. Son activité est évaluée d'après la quantité d'acétylcholine ^{14}C formée.

1.3 Mode opératoire

1.3.1 Dissection du cerveau basal antérieur et du neostriatum

Après décapitation, l'encéphale est rapidement prélevé, puis le cerveau basal antérieur et le neostriatum sont disséqués en chambre froide. Ils sont pesés puis placés dans de l'EDTA à 0 °C. Tous les prélèvements ont lieu entre 9h et 11h du matin. Perry et coll. (1977) ont montré que chez l'Homme, l'activité de la CAT subit une variation circadienne, avec une valeur maximum supérieure de 50 % à l'aube du nyctémère.

1.3.2 Homogénéisation

L'homogénéisation est réalisée dans de l'EDTA 10 mM pH 7.4 à 1 200 tours/min à l'aide d'un appareil de POTTER-ELVEHJEM, muni d'un piston en téflon (Tissue Grinder, Size A, Arthur H. Thomas, Philadelphia, USA). L'homogénéisation s'effectue à 0 °C.

1.3.3 Activation de l'homogénat

L'enzyme contenue dans les structures subcellulaires est mise en solution par adjonction de 0,5 % Triton X-100 V/V. à l'EDTA 10 mM pH 7,4 à 0 °C après 10 minutes.

La solution est complétée avec de l'EDTA 10 mM pH 7,4 pour obtenir une concentration finale de 5 % (poids/volume).

1.3.4. Incubation de l'enzyme

Elle a lieu dans des microtubes (diamètre interne : 2mm hauteur : 23 mm) dans lesquels on met successivement, à l'aide de micropipettes Pedersen :

- 5 μ l d'une solution d'incubation contenant, en concentration finales : acétylcoenzyme A 0,2 mM (BOEHRINGER), chlorure de choline 8 mM (BDH), EDTA 20 mM pH 7,4 (BDH), NaCl 300 mM, physostigmine 0,1 mM (BDH) et tampon de phosphate de sodium 50 mM pH 7,4 ;
- 2 μ l d'une solution d'(acétyl 1 - 14 C) acétylcoenzyme A, 48,1 à 59,3 mCi / mol (NEN), correspondant en moyenne à 88 800 d.p.m. d'après le fournisseur ;
- 2 μ l d'homogénat.

Dans les échantillons de référence, l'homogénat est remplacé par 2 μ l d'eau.

Les microtubes sont placés au bain-marie à 37 °C pendant 15 min (il a été préalablement vérifié que durant cette période la vitesse de la réaction est constante).

1.3.5 Détermination de la radioactivité

Au bout de ces 15 minutes, chaque microtube est placé dans un flacon de comptage contenant 5 ml d'une solution de phosphate de sodium 10 mM pH 7,4, à 0 °C. Ce flacon est alors agité vigoureusement afin que le contenu du microtube passe dans la solution tampon, puis reçoit 2 ml d'acétonitrile contenant 10 mg de tétraphénylborate de sodium (Kalignost) et 10 ml de mélange scintillant (0,05 % PPO ; 0,02 % POPOP ; toluène q.s.p.). Il est ensuite agité lentement pendant une minute. Après 10 minutes, la phase aqueuse et la phase organique sont complètement séparées ; l'acétylcholine radioactive est passée dans la phase organique par échange cationique avec le tétraphénylborate de sodium. La radioactivité de l'acétylcholine est déterminée à l'aide d'un compteur à scintillation liquide LKB (1211 Minibeta). Les valeurs, données en c.p.m., sont converties en nmoles d'acétylcholine synthétisées par heure à l'aide d'un standard de référence.

1.3.6 Evaluation de l'activité spécifique de l'enzyme

Les protéines ont été dosées par la méthode de Lowry et coll. (1951) modifiée par Markwell et coll. (1978). Cette méthode permet le dosage des protéines dans des homogénats sans solubilisation préalable à la soude et autorise l'étude des échantillons contenant jusqu'à 2,5 mM d'EDTA.

L'activité spécifique de la CAT est exprimée en nmoles de Ach synthétisées/h/mg de protéines.

2 PROTOCOLE EXPERIMENTAL

2.1 Expérience préliminaire : évaluation de l'activité spécifique de l'enzyme au cours du développement.

L'activité spécifique de l'enzyme est évaluée chez les rats âgés de 2, 7, 13, 15, 30 et 60 jours et chez le rat adulte.

Chez les animaux âgés de 13 jours et plus, les expériences se font toujours à partir des structures cérébrales de deux animaux. A l'exception du stade adulte, ces deux animaux sont issus de la même portée. Chez les Rats âgés de 2 et 7 jours, l'homogénat est réalisé à partir du cerveau total car les structures ne sont pas bien individualisées.

2.2. Expérience 1 : Effet de concentrations croissantes en aluminium sur l'activité de la CAT au cours du développement

L'effet du chlorure d'aluminium sur l'activité de la CAT est recherché à l'âge de 15, 30 et 60 jours et à l'âge adulte. Les homogénats sont réalisés à partir de quatre animaux, issus de la même portée pour les rats de 15, 30 et 60 jours.

Le premier homogénat est effectué avec le cerveau basal antérieur et le neostriatum issus des hémisphères gauches des rats 1 et 2 et des hémisphères droits des rats 3 et 4. Cet homogénat, dans lequel on n'ajoute pas d'aluminium, est le témoin. Sa concentration en aluminium, déterminé par spectrométrie d'émission atomique (Spectra Span V, Beckman) est de $4,5 \cdot 10^{-7} \text{M}$. Le second homogénat, destiné à tester l'effet de l'aluminium, provient des structures des hémisphères droits

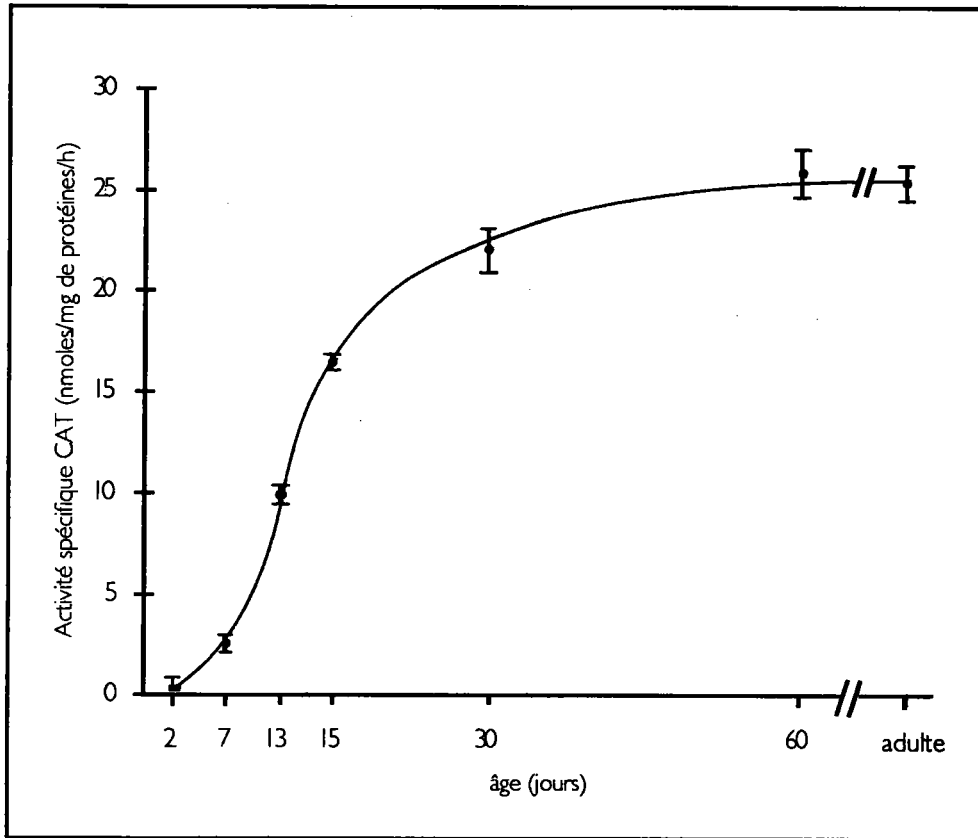


Fig 1 : Activité de la CAT dans le cerveau du Rat au cours du développement. Chaque point représente une moyenne $\pm$ SD obtenue à partir de 10 expériences.

des rats 1 et 2 et des hémisphères gauches des rats 3 et 4. Comme pour l'expérience préliminaire, l'homogénéisation se fait dans de l'EDTA 10 mM pH 7,4, renfermant cette fois-ci le sel d'aluminium ($\text{AlCl}_3, 6\text{H}_2\text{O}$) à différentes concentrations (10^{-4} ; 10^{-3} ; $5 \cdot 10^{-3}$ et 10^{-2} M).

2.3. Expérience 2 : Effet du pH sur l'activité de la CAT au cours du développement

Le but de cette expérience est de savoir si le pH modifie l'activité de la CAT de la même manière chez le rat âgé de 15 jours et chez le rat adulte.

Les structures provenant de deux cerveaux de rats de 15 jours et de rats adultes sont regroupées et homogénéisées suivant la méthode décrite dans l'expérience 1. L'homogénat témoin et l'homogénat contenant $\text{AlCl}_3, 6\text{H}_2\text{O}$ 10^{-2} M sont divisés en deux aliquots. Le premier aliquot, à pH 7,4, n'est pas modifié. Le second est ajusté à pH 8,3 avec NaOH 0,1 N. Lorsque les expériences se font à pH 8,3, la solution d'incubation est à pH 8,3 ainsi que le phosphate de sodium contenu dans le flacon de scintillation.

3. RESULTATS

3.1 Variation de l'activité de la CAT en fonction de l'âge

Les activités spécifiques de la CAT estimées à différents stades du développement sont représentés par la figure 1.

Dans le cerveau total, l'activité spécifique de la CAT exprimée en nmoles/h/mg de protéines est respectivement de $0,3 \pm 0,003$ et de $2,52 \pm 0,33$ chez les rats âgés de 2 et 7 jours. Dans le cerveau basal antérieur et dans le neostriatum, elle est respectivement de $9,87 \pm 0,32$; $16,4 \pm 0,30$; $22,35 \pm 1,57$; $25,76 \pm 1,12$ et $25,31 \pm 0,80$ chez les rats âgés de 13, 15, 30, 60 jours et chez le rat adulte.

Jusqu'à 7 jours, l'activité de la CAT est faible. Elle augmente rapidement (126,4 %) entre 13 et 30 jours, puis lentement (15,2 %) entre 30 et 60 jours. A l'âge de 60 jours, l'activité atteint une valeur maximale similaire à celle obtenue chez le rat adulte.

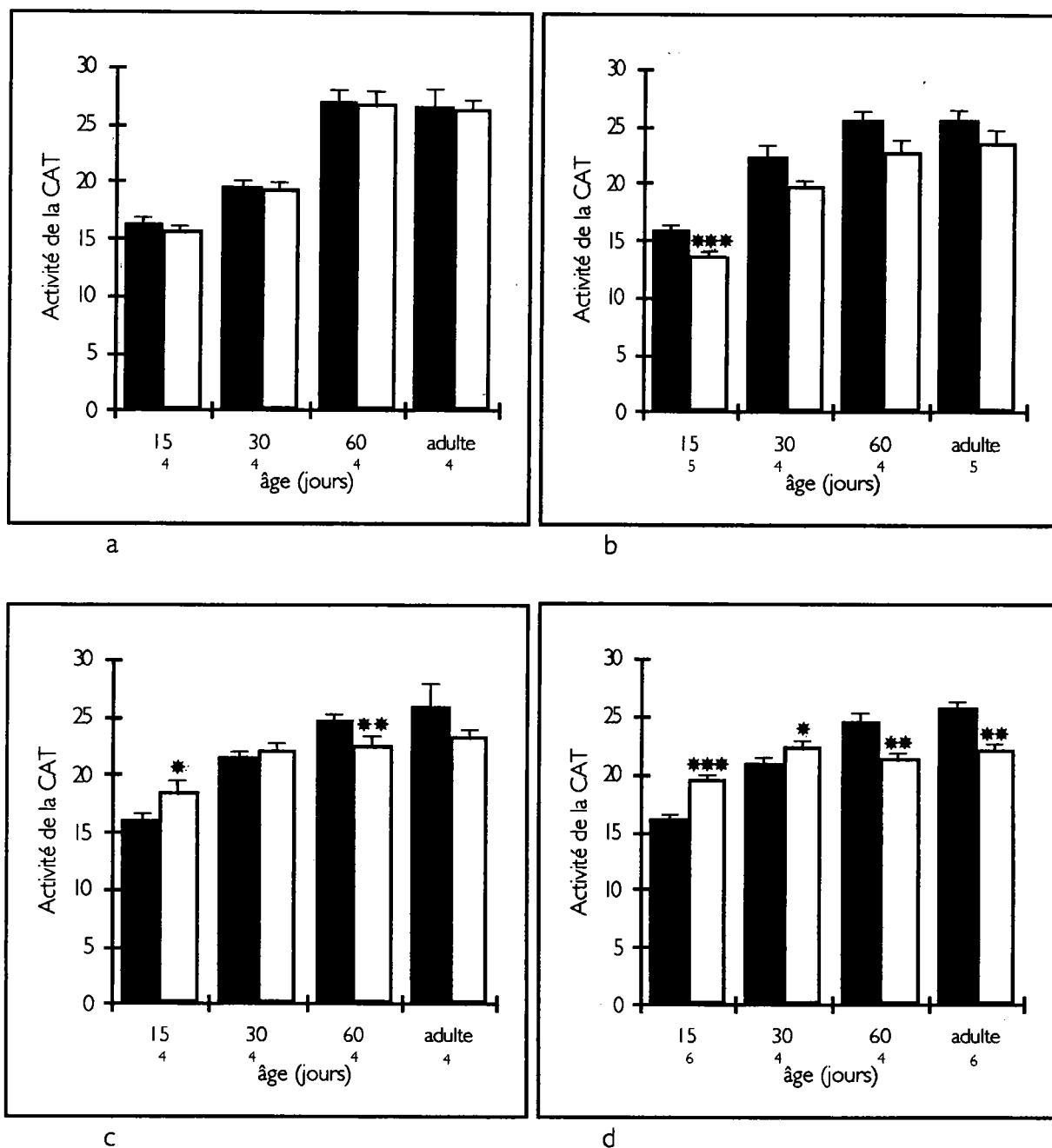


Fig 2 : Effet de l'aluminium sur l'activité de la CAT (en nmoles/mg de protéines /h).
 [Les petits chiffres sous l'axe des x correspondent au nombre d'expériences.]

■ Témoins □ Aluminium

Concentrations en aluminium : a $10^{-4}M$; b $10^{-3}M$; c $5 \times 10^{-3}M$ et d $10^{-2}M$.
 Différences significatives par rapport au témoin : * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ et
 *** $p < 0,001$.

3.2 Effet de l'aluminium sur l'activité de la CAT.

L'effet des différentes concentrations en aluminium sur l'activité de la CAT est représenté dans la figure 2 (a, b, c, d).

A la concentration de 10^{-4} M, le chlorure d'aluminium ne modifie pas l'activité de l'enzyme, quel que soit l'âge du rat. A la concentration de 10^{-3} M, l'activité est inhibée ; l'inhibition décroît en fonction de l'âge : elle passe de 13,6 % à 15 jours ($p < 0.001$) à 8,2 % au stade adulte (NS). A 30 j et à 60 j, la significativité au test de Student est respectivement égale à : $p = 0,0503$ et $p = 0,0464$.

Chez l'adulte, l'inhibition de l'activité de la CAT par l'aluminium augmente lorsque les concentrations sont supérieures à 10^{-3} M : 9,7 % à 5.10^{-3} M (NS) et 15,1 % à 10^{-2} M ($p < 0,01$). Au contraire, à ces dernières concentrations, le sel d'aluminium active l'enzyme dans les homogénats de rats âgés de 15 j : l'activation est de 15,1 % ($p < 0,05$) à 5.10^{-3} M et de 21,9 % ($p < 0,001$) à 10^{-2} M. L'activation est nettement atténuée à l'âge de 30 j : 2 % (NS) à 5.10^{-3} M et 6,8 % ($p < 0,05$) à 10^{-2} M. A 60 j, le chlorure d'aluminium inhibe l'enzyme : l'inhibition est respectivement de 9,6 % ($p < 0,01$) et 13,0 % ($p < 0,01$) aux concentrations de 5.10^{-3} M et 10^{-2} M. Ainsi, jusqu'à l'âge de 30 j, le chlorure d'aluminium a un effet activateur sur la CAT aux concentrations supérieures à 10^{-3} M.

3.3 Effet du pH sur l'activité de la CAT

Les effets du pH sur l'activité de la CAT ont été examinés en présence ou en absence du sel d'aluminium à la concentration de 10^{-2} M, à partir de structures cérébrales provenant de rats de 15 j et de rats adultes. La concentration de 10^{-2} M a été choisie car c'est elle qui induit les modifications les plus importantes de l'activité de la CAT. Les résultats sont présentés dans le tableau 1.

Tableau I : Effet du pH sur l'activité de la CAT (en nmoles/mg de protéines/h)

	rat âgés de 15 j			rat adulte		
	témoin	Al 10 ⁻² M	variation %	témoin	Al 10 ⁻² M	variation %
pH 7,4	17,48 ± 1,28 (6)	21,27** ± 1,29 (6)	+ 21,9	22,02 ± 0,52 (6)	18,69** ± 0,73 (6)	- 15,2
pH 8,3	20,82 ± 1,21 (6)	22,56* ± 0,82 (6)	+ 8,2	26,29 ± 1,41 (6)	24,44** ± 1,31 (6)	-7,0

Les valeurs représentent des moyennes +SD. Les nombres entre parenthèses correspondant au nombre d'expériences. Significativité par rapport au témoin :

* p < 0,05 ; ** p < 0,01.

Le test ANOVA révèle que les effets du pH et de l'aluminium sont très significatifs au jour 15 ($F(3,15) = 37,115$; $p < 0,0001$) et au stade adulte ($F(3,15) = 163,324$; $p < 0,0001$), ce qui autorise les comparaisons multiples à l'aide du test F de Scheffé.

Dans les homogénats témoins, les activités de la CAT sont nettement affectées par les variations de pH : à pH 8,3 elles augmentent respectivement de 19,3 ($p < 0,01$) et de 19,4 % ($p < 0,01$) par rapport aux valeurs obtenues à pH 7,4 chez le rat de 15 j et chez le rat adulte. Chez l'adulte, après adjonction d'Al 10⁻²M, l'activité de la CAT augmente de 30,8 % entre les pH 7,4 et 8,3 ($p < 0,01$). Au contraire, chez le rat âgé de 15 j, l'activité de la CAT ne varie pas de manière significative entre les deux pH quand le milieu contient de l'aluminium à la concentration de 10⁻²M.

4. DISCUSSION

4.1 Variation de l'activité de la CAT en fonction de l'âge

Les résultats obtenus concernant l'évolution de l'activité de la CAT au cours du développement sont analogues à ceux obtenus par d'autres auteurs, parmi lesquels Patel et coll. (1987) et Fiedler et coll. (1987) qui ont travaillé également à partir de rat. Cependant Mc Geer (1984) rapportent que les valeurs de l'activité spécifique de CAT mesurée à partir de l'homogénat de cerveau de rat ou de cerveau humain varient de 1 à 5 fois selon la technique utilisée.

Selon O'Neill et Sakamoto (1970), dans le cerveau immature d'un rat âgé de 10 jours l'activité de la CAT représente 20 % de celle de l'adulte ; elle est toutefois suffisante car l'enzyme est en excès et le turnover de l'acétylcholine est plus bas chez le jeune que chez l'adulte. D'après Szutowicz et coll. (1982), l'activité de la CAT dans les synaptosomes passe de 0,09 à 1,03 mmole/mn/g de protéines entre le jour 1 et le stade adulte.

Il est intéressant de noter que dans le cervelet du rat, l'évolution de l'activité de l'enzyme est très différente. Elle augmente rapidement après la naissance, atteint la valeur de l'adulte au bout de 3 à 7 jours, puis diminue jusqu'à l'âge de 20 jours où elle n'est plus qu'à 55 % de sa valeur maximale, et augmente à nouveau pour atteindre la valeur de l'adulte à l'âge de 40 jours (Gilad et Kapin 1979).

Dans le cerveau du rat, bien que la neurogénèse soit complète au jour 17 du stade embryonnaire (Semba et Fibiger 1988), l'activité de la CAT est encore faible à la naissance. Elle augmente fortement durant la période de maturation encore appelée période critique de développement du cerveau (Flexner 1955). Au cours de cette période, relativement courte par rapport à la durée de vie de l'animal, puisqu'elle ne dure que deux à trois semaines, la taille du cerveau augmente et surtout son activité s'intensifie, ce qui se traduit par de nombreux changements métaboliques, électrophysiologiques, histologiques et comportementaux.

Par exemple du point de vue histologique, la myélinisation est très rapide entre la naissance et le 24ème jour (Dobbing et Smart 1974), et il se produit en même temps des modifications au niveau du corps cellulaire et des dendrites : chez le rat âgé successivement de 10 j, 14 j, 18 j et 27 j, les dendrites des neurones du cerveau basal antérieur sont plus nombreuses et dépourvues de varicosités (Gould et coll. 1989). Ces auteurs montrent aussi que l'uptake de la choline augmente de manière similaire. L'autre précurseur de l'acétylcholine, l'acétylcoenzyme A, dérive du glucose. Gaitonde et Richter (1966) ont montré que la quantité de glucose utilisé par le cerveau augmente considérablement entre l'âge de 10 jours et l'âge de 21 jours, de même que la synthèse des acides aminés à partir du glucose, certains étant des neurotransmetteurs comme le glutamate, et le GABA.

Ces changements métaboliques sont concomitants de changements électrophysiologiques et comportementaux.

Les changements électrophysiologiques sont intéressants en ce sens qu'ils correspondent, pour le neurone, à sa capacité à transporter et libérer des neurotransmetteurs. Dans le cortex du rat, le potentiel de membrane apparaît dès le premier jour, les potentiels d'action dès le 4ème jour.

L'électroencéphalogramme se développe à partir du 6ème jour et atteint les caractères de l'adulte au cours de la troisième semaine. L'amplitude du potentiel de membrane atteint 70 mV entre l'âge de 30 jours et l'âge de 60 jours (Deza et Eidelberg 1967). Göb et coll (1986), utilisant des tests à l'aide de l'open field, montrent que le développement neuromoteur (activité ambulatoire, explorations verticales,...) est important à partir du 15ème jour et que la phase maximale de développement se situe vers le 27ème jour.

A l'âge de 60 jours, le niveau de l'activité de l'adulte est atteint. Plus tard, chez le rat âgé, cette activité diminuera à nouveau. D'après Michalek et coll. (1989) chez le Rat Wistar, l'activité de la CAT chez l'animal de 24 mois est de 30 % inférieure à ce qu'elle est à l'âge de 3 mois.

Ces résultats montrent l'intérêt de rechercher l'effet de l'aluminium sur l'activité de la CAT au cours de cette période du développement,

surtout lorsque l'on sait que l'acétylcholine à un rôle déterminant dans les fonctions cognitives.

4.2. Effets de l'aluminium sur l'activité de la CAT

A la concentration en Al de 10^{-4}M , l'activité de la CAT n'est pas modifiée quel que soit l'âge. A la concentration de 10^{-3}M , l'inhibition de l'enzyme diminue quand l'âge augmente et aux concentrations supérieures à 10^{-3}M , l'enzyme est activée jusqu'à l'âge de 30 jours environ puis elle est ensuite inhibée. A l'âge de 60 jours et à l'âge adulte, l'inhibition est pratiquement la même.

D'autres enzymes sont activées ou inhibées par l'aluminium suivant sa concentration. La déshydrogénase de l'acide g aminolévulinique de l'érythrocyte est activée par l'aluminium à une concentration maximale de 2 mM/l de sang et inhibée au delà de cette concentration (Meredith et coll. 1977). L'aluminium est également activateur des phosphatases acides et alcalines à faible concentration, et inhibiteur à forte concentration (Lieberherr et coll. 1982).

En ce qui concerne la CAT, les résultats peuvent être attribués aux caractéristiques physicochimiques de l'enzyme. Selon Malthes-Sørensen et Fonnum (1972), chez le Rat, la CAT se présenterait sous trois formes moléculaires différant par leurs points isoélectriques pH 7,3 ; 7,9 et 8,3. Ces trois formes existent chez le rat de 7 jours comme chez le rat adulte mais dans le cerveau mature la forme plus basique représente de 53 à 64 % du total alors que dans le cerveau immature elle ne représente que 19% (Atterwill et Prince 1978). Badamchian et coll. (1986), à partir de la fraction synaptosomale P2 de cerveau de rat préparée en utilisant des inhibiteurs protéolytiques distinguent également trois sous-fractions :

- une fraction liée à la membrane par liaison ionique, de poids moléculaire 73 kd comportant deux sous unités dont le poids moléculaire est respectivement de 28 - 29 kd et 50 - 51 kd, et les points isoélectriques de 8,1 et 7,5 ;

- une fraction cytoplasmique de poids moléculaire 66 kd et dont le point isoélectrique est à pH 7,8. Contrairement aux deux autres, cette fraction est hydrophobe. L'obtention des différentes sous fractions ne peut être liée à leur association ou non avec des lipides au moment de la préparation car l'addition de triton X - 100 ne modifie pas les résultats.

Blusztajn et Wurtman (1983) avaient déjà signalé l'existence d'une forme liée à la membrane.

Malthe-Sørensen (1976) montre que la CAT du cerveau de la Souris et du Singe se présente aussi sous trois formes moléculaires dont les points isoélectriques sont respectivement 7,1 - 7,5 - 8,4 et 7,0 - 7,35 et 8,35.

Bruce et Hersh (1987) étudient les propriétés de la CAT du cerveau de l'Homme et du cerveau de Rat. Ils détachent la fraction liée à la membrane par addition de triton X - 100 au milieu puis purifient cette fraction ainsi que la fraction soluble par chromatographie d'immunoaffinité. Ils trouvent un seul poids moléculaire pour les deux fractions (68 kd) et concluent qu'elles sont identiques.

Plus anciennement, Chao (1978) n'avait pas retrouvé ces multiples formes de CAT dans les extraits du cerveau de l'Homme, de la Souris, du Lapin, du Cochon de Guinée, du Chat, du Rat et du Bœuf, en utilisant la chromatographie d'exclusion-diffusion. L'auteur explique ses résultats en indiquant qu'il n'utilise pas le sulfate d'ammonium employé par d'autres dans leur méthode de fractionnement car il est responsable des multiples formes décelées par électrofocalisation, qui ne sont donc que des artefacts. Il appuie son argumentation en citant Banns (1976) qui a montré que la CAT du placenta humain présentait un ou plusieurs pics suivant que le sulfate d'ammonium avait ou n'avait pas été employé pour le fractionnement de l'enzyme.

Koshimura et coll. (1986) font l'analyse *post-mortem* de l'activité de la CAT chez l'homme atteint de la maladie d'Alzheimer par chromatographie sur colonne Sephadex G-200 et par centrifugation sur gradient de sucrose. Pour ces auteurs, la CAT est une molécule hétérogène aussi bien chez les malades que chez les témoins, et la

fraction ayant le poids moléculaire le plus élevé semble moins atteinte par la maladie.

La présence d'isoenzymes de la CAT dont les proportions se modifieraient au cours du développement comme c'est le cas pour la lactate déshydrogénase n'est donc pas totalement exclue. Elle pourrait être une explication des différences constatées entre le jeune et l'adulte.

L'activation de la CAT dans les homogénats de 15 jours aux fortes concentrations en chlorure d'aluminium peut être attribuée à une ou deux formes acides qui pourraient être les précurseurs de la forme basique prédominante chez l'adulte (Atterwill et Prince 1978). Au contraire, l'inhibition de l'activité de CAT dans les homogénats provenant de rat adulte peut être due à l'isoenzyme dont le point isoélectrique est de 8,3. Le milieu utilisé comporte du triton X-100 ; il détache la fraction liée à la membrane et, comme plusieurs auteurs l'ont montré, il n'altère pas les différentes formes. Il serait intéressant de savoir si la fraction soluble et les fractions liées à la membrane diffèrent dans leur réponse à l'aluminium.

Pour répondre à cette question, il faudrait réaliser une étude comparable sur la fraction synaptosomale.

Hetnarski et coll. (1980) ont ajouté du chlorure d'aluminium à de l'homogénat de moelle épinière de Lapin adulte et évalué l'activité de CAT à l'aide de la méthode de Fonnum. Une concentration de AlCl_3 du 10 $\mu\text{g/g}$ de tissu frais entraîne une inhibition d'environ 10 %. Une très forte concentration (550 $\mu\text{g/g}$ de tissu frais) inhibe l'enzyme de 20 %.

Les faibles variations d'activité observées peuvent s'expliquer de plusieurs manières. Il est évident qu'une grande partie de l'aluminium contenu dans l'homogénat se fixe sur divers composés, dont les phosphates, et n'atteint pas l'enzyme. L'aluminium pourrait aussi simplement modifier la conformation des sites catalytiques, lesquels pourraient être différents chez le jeune et chez l'adulte ; selon Mc Geer (1984), les sites catalytiques de la CAT sont très sensibles au pH et à la concentration en sels. C'est cette sensibilité des sites catalytiques au pH, associée à l'hypothèse selon laquelle il y aurait trois isoenzymes de

point isoélectrique différent qui a motivé la recherche de l'effet de l'aluminium sur l'activité de l'enzyme aux pH 7,4 et 8,3.

4.3. Effet du pH sur l'activité de CAT

L'effet du pH sur l'activité de l'enzyme a été examiné en présence et en l'absence de chlorure d'aluminium.

En l'absence d'aluminium, l'activité de la CAT chez le rat de 15 jours et chez le rat adulte est plus forte respectivement de 19,3 et de 19,4 % à pH 8,3 qu'à pH 7,4. Ces résultats sont en accord avec ceux de Glover et Potter (1971) et de Ryan et Mc Clure (1980) pour qui l'activité de l'enzyme est maximale entre pH 7,5 et pH 10,5. D'après la seconde équipe, l'activité de l'enzyme augmente de 10 % entre ces deux pH ; le maximum d'augmentation se situant à pH 9. Au contraire, lorsque le milieu contient de l'aluminium à la concentration de 10^{-2} M/l, l'activité de l'enzyme augmente nettement (30,8 %) entre les pH 7,4 et 8,3 chez l'adulte, mais pas chez le jeune (5,8 %). L'augmentation de l'acétylation par Al avec le pH chez l'adulte pourrait être due à une plus grande quantité de la forme basique chez ce dernier, comme l'ont souligné Atterwill et Prince (1978).

Deuxième partie :
Intoxications aluminiques par voie orale

Chapitre 1

Etude de l'effet d'intoxications aluminiques prénatales sur le Rat en développement

INTRODUCTION

Un grand nombre de métaux traversent le placenta hémochorial des primates et des rats et plusieurs d'entre eux exercent un effet toxique sur le fœtus, effet qui peut se prolonger au delà de la naissance (Ferm 1972). L'aluminium lui-même traverse le placenta (Rusoff et Gaddum 1937, cité par Benett et coll. 1975; Benett et coll. 1975). Il peut atteindre le cerveau du fœtus et altérer son développement car la barrière hémocéphalique est immature et les structures ne sont pas encore complètement différenciées.

En clinique, quand la mère prend des gels d'alumine par voie orale, le fœtus est exposé, surtout si elle est urémique car le métal est moins bien éliminé. Il est donc intéressant de rechercher les effets d'une intoxication pendant la gestation chez la rate normale et la rate urémique sur l'activité de la CAT dans le cerveau du jeune au cours du développement précoce.

1 MATERIEL ET METHODE

1.1 Origine et caractères des femelles

Les femelles de race Wistar, vierges, axéniques, sont fournies par Iffa Credo, l'Arbresle (France). Leur poids est compris entre 220 et 240 g.

1.2. Intervention chirurgicale

Les animaux sont répartis en deux lots de poids inégal. Ceux du premier lot, dont le poids est compris entre 220 et 230 g, ne sont pas

opérés ; ce sont les rats "normaux". Ceux de l'autre lot, dont le poids est compris entre 230 et 240 g sont rendus urémiques.

L'opération entraîne une perte de poids qui ne sera jamais rattrapée à la reprise de la croissance. Les animaux les plus gros, après néphrectomie, auront un poids peu différent des "normaux" au début de l'intoxication. Par ailleurs, comme la dose d'Al administrée est rapportée au poids, les rats des 2 lots recevront à peu près la même quantité de métal.

Les animaux sont opérés d'après la technique décrite par Chanutin et Ferris (1932) légèrement modifiée. Après anesthésie au pentobarbital sodique, la face ventrale est rasée puis une incision est pratiquée sur une longueur de 5 centimètres, légèrement à gauche de l'axe de l'animal. Le rein gauche est dégagé puis les branches supérieure et inférieure de son artère sont ligaturées sous la loupe binoculaire. (Fig 3).

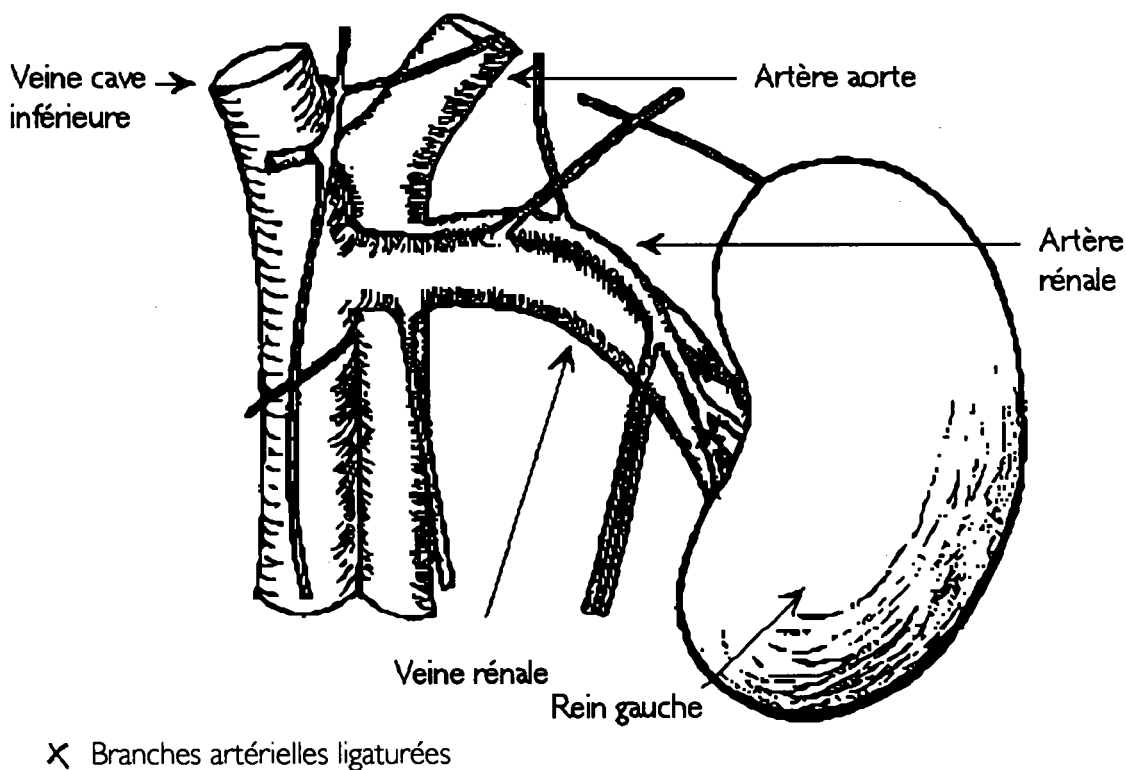


Fig 3 : Irrigation du rein gauche

Ensuite le rein droit est enlevé après ligature de ses vaisseaux.

D'après le volume rénal demeurant fonctionnel, les auteurs de la technique estiment que le rat est néphrectomisé aux 5/6.

La cavité abdominale puis la peau sont recousues et l'animal est placé dans une cage en plastique. La durée de l'opération est d'environ trente minutes.

Les auteurs préconisaient de pratiquer la néphrectomie en deux temps afin de réduire le saignement, donc la mortalité : au cours de la première intervention on sectionne les branches artérielles du rein gauche et au cours de la seconde, qui a lieu deux semaines plus tard, on enlève le rein droit. Beaucoup de laboratoires utilisent encore cette technique. Certes il est beaucoup plus difficile de ligaturer les branches artérielles que de les sectionner, mais il n'y a pas de saignement et la néphrectomie peut se faire en une seule fois.

Le taux de mortalité est de l'ordre de 10 %. De plus, une semaine après l'opération, les animaux subissent une prise de sang afin de doser leur créatinine. Si la néphrectomie se faisait en deux étapes, l'intervalle de temps qui séparerait la première opération du début de l'intoxication serait rallongé et l'écart pondéral entre les rats opérés et les rats normaux serait trop important.

1.3 Protocole

1.3.1. Première expérience

A. Répartition des femelles en quatre lots

Les femelles sont réparties en 4 groupes de 6 : deux groupes de rates témoins dont l'un est constitué par des femelles normales (non néphrectomisées) et l'autre par des femelles néphrectomisées, et deux groupes de rates intoxiquées avec, de la même façon, une groupe de femelles normales et un groupe de femelles néphrectomisées.

Les deux groupes de femelles normales d'une part et les deux groupes de femelles néphrectomisées d'autre part ont approximativement le même taux de créatinine sérique.

B. Intoxication

Trois jours après le dosage de la créatinine, les femelles sont mises en présence des mâles et la date de fécondation est repérée par frottis vaginal. Au jour 0 de gestation, elles sont placées dans une cage grillagée et l'intoxication débute. La moitié des rates normales et des rates urémiques est intoxiquée ; l'autre moitié sert de référence.

L'intoxication se fait par l'intermédiaire de la nourriture, durant toute la gestation. L'aluminium est ajouté sous forme de chlorure d'aluminium dissous dans de l'eau distillée à de la poudre de croquettes mélangée elle-même à de l'huile d'arachide, sur la base de 10 ml d'huile pour 30 g de poudre. La dose est de 300 mg d'Al/kg/j. La préparation se fait extemporanément et la nourriture, disposée dans une coupelle, est donnée chaque soir entre 18 et 19h.

Au début de la gestation, les femelles reçoivent chacune 16 g de nourriture. Le lendemain, si tout a été mangé, elles ont un gramme supplémentaire. Les aliments qui éventuellement restent dans la coupelle et ceux qui se trouvent dans le bac de récupération situé sous le grillage sont pesés, et leur masse est soustraite à celle donnée la veille.

Au 20ème jour, l'intoxication cesse et les animaux sont placés dans des cages en plastique jusqu'à la parturition.

1.3.2. Expérience complémentaire

Suite aux résultats de la première expérience, une seconde expérience est menée dans le but d'évaluer les taux de créatinine et d'aluminium sériques au jour 20 de gestation. Les femelles, au nombre de 5 par lot, sont intoxiquées dans les mêmes conditions que lors de la première expérience.

1.3.3. Suivi des mères et de leurs jeunes

Chaque femelle est pesée entre le jour de l'opération et le début de la gestation, puis durant toute la gestation. La masse de nourriture ingérée est également notée. Seules les portées comprises entre 10 et 12 sont

retenues, ceci afin de mieux comparer l'évolution pondérale des rates et le poids de leurs jeunes à la naissance.

Le nombre de jeunes de chaque groupe est comptabilisé à la naissance ainsi que les deux jours suivants afin de rechercher si la néphrectomie et l'intoxication par l'aluminium ont un effet sur la taille des portées et sur la mortalité. Les jeunes sont également pesés.

A partir du jour 2, certains d'entre eux sont prélevés dans les différents lots afin d'évaluer l'activité de la CAT cérébrale ; il n'est donc plus possible d'effectuer des pesées.

1.4.Méthodes de dosage

1.4.1 Dosage de la créatinine

La créatinine est dosée deux fois : une première fois pour constituer les différents groupes et une seconde fois au jour 20 de la gestation, lors de l'expérience complémentaire.

Le sang est prélevé par ponction oculaire des sinus caverneux. La créatinine est dosée par la méthode de Jaffé avec déprotéinisation (Popper et coll. 1937) ; il s'agit d'une méthode colorimétrique.

1.4.2. Dosage de l'aluminium

L'aluminium est dosé :

- dans le plasma de la mère au jour 20 de la gestation et dans celui du jeune âgé de 14 jours.
- dans le foie des jeunes âgés de 2 et 7 jours car cet organe concentre l'aluminium ; c'est un bon indicateur du niveau d'absorption. L'homogénéisation du foie se fait dans les mêmes conditions que celle des structures cérébrales ; la dilution est telle que le rapport P/V est de 5 %.

- dans le cerveau des jeunes âgés de 2,7 et 14 jours, à partir de l'homogénat qui sert à évaluer l'activité de la CAT.

L'aluminium est dosé à l'aide d'un spectromètre d'émission à plasma d'argon, Spectra V Beckman, dans le service de Chimie Générale Appliquée à la médecine du Professeur Burnel, à la Faculté de Médecine de l'Université de Nancy I.

A. Principe de l'appareil;

L'échantillon à doser est amené par de l'argon au sein d'un arc électrique créé par trois électrodes (une cathode de tungstène et deux anodes en graphite). Les atomes passent à l'état excité et le retour à l'état initial s'accompagne d'une émission de rayonnement de longueur d'onde spécifique de l'élément.

B Les avantages de la méthode

La température atteinte par le plasma d'argon étant très élevée (7 000 à 8 000°C), toutes les liaisons chimiques sont rompues et l'aluminium est dosé dans sa totalité sous la forme atomique. Il s'agit donc d'une méthode précise. Elle est également très sensible (la sensibilité dans l'eau est de 1 à 2 µg/l) et présente une bonne linéarité, ce qui permet de doser dans une gamme de concentrations très étendue. Dans la plasma la sensibilité atteint 5 à 6 µg/l.

C. Etalonnage de l'appareil

Les échantillons dosés sont soit du plasma, soit de l'urine (au cours d'autres intoxications), soit de l'homogénat de foie ou de cerveau réalisé dans de l'EDTA ou dans de l'eau.

Pour les dosages d'aluminium dans l'urine ou dans le plasma, l'étalonnage se fait avec des urines et du plasma humain (CRTS de Nancy). Pour les dosages sur des homogénats, l'étalonnage se fait avec de l'eau distillée.

Technique opératoire

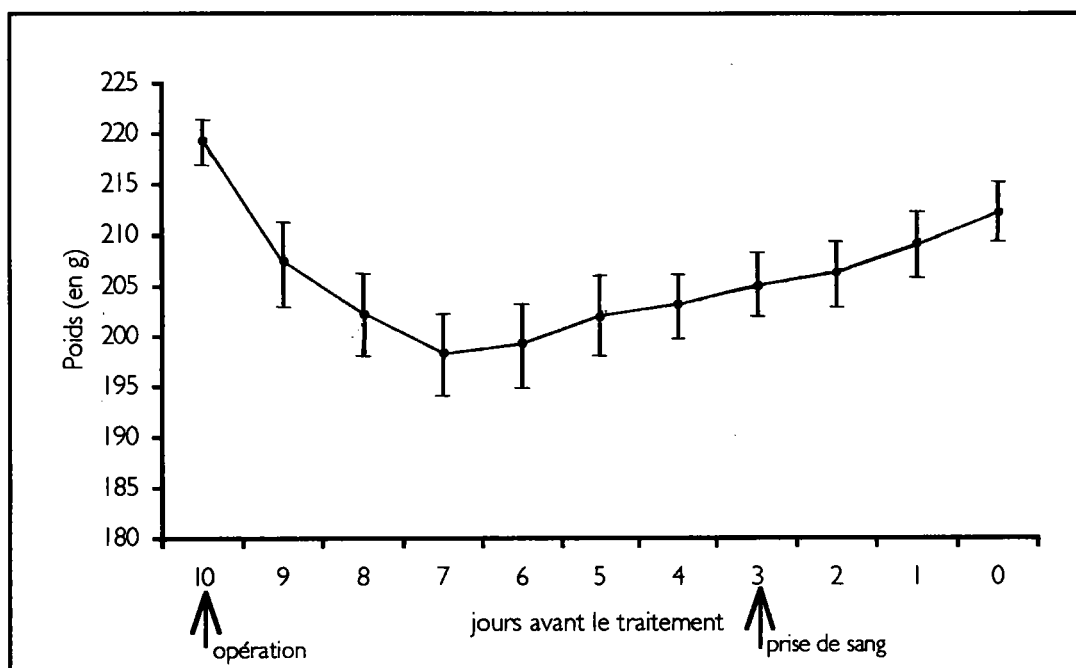


Fig 4a : Evolution pondérale des femelles urémiques avant l'intoxication

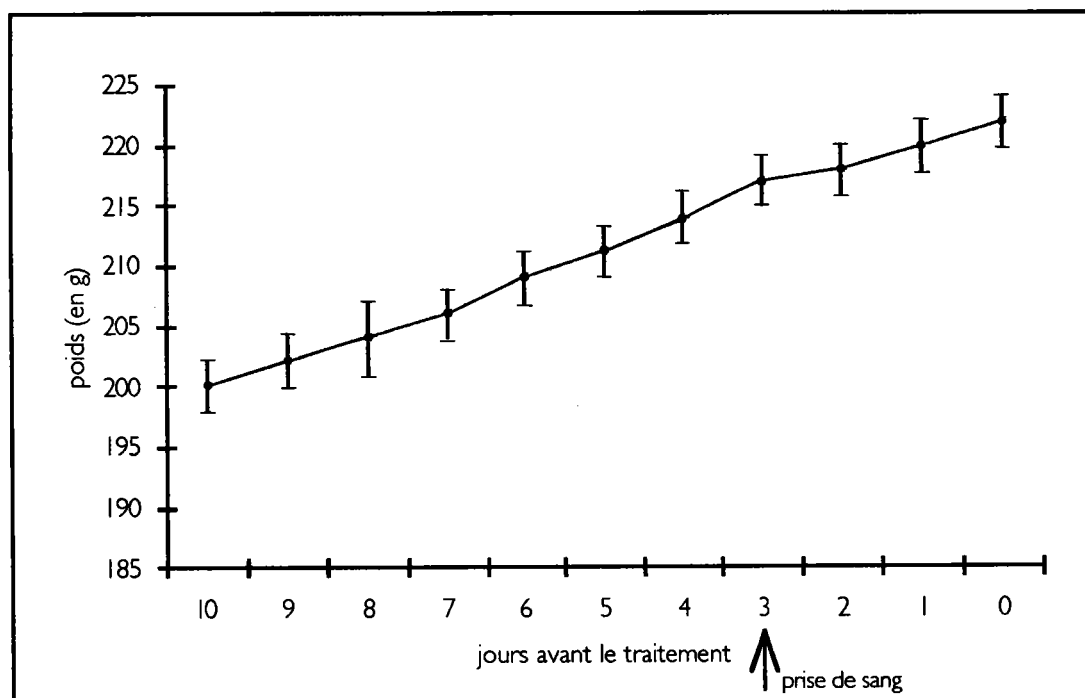


Fig 4b : Evolution pondérale des femelles normales avant l'intoxication.

L'étalonnage se fait avec trois points : un point haut, un point bas et un point intermédiaire ; le plasma d'argon contient la solution d'échantillon à doser, du triton à 1%, du chlorure de césium (afin d'avoir une bonne émission de lumière) et :

- une surcharge de 500 µg/l d'aluminium sous forme de chlorure d'aluminium pour le point haut,
- une surcharge de 50 µg/l d'aluminium sous forme de chlorure d'aluminium pour le point intermédiaire,

D Dosage des échantillons

Le système de prélèvement de la solution par l'appareil fait qu'un volume de 0,7 ml d'échantillon est nécessaire pour réaliser le dosage. C'est la raison pour laquelle certains dosages sur le plasma n'ont pu être effectué sur les jeunes animaux.

1.4.3. Evaluation de l'activité de la CAT

L'activité de la CAT est évaluée chez le jeune rat aux jours 2,7 et 14. L'homogénat est obtenu à partir de deux animaux à qui l'on prélève soit le cerveau total (jours 2 et 7), soit le cerveau basal antérieur et le neostriatum (jour 14). La technique employée est la méthode de Fonnum (1975) et les protéines sont dosées par la méthode de Lowry et coll. (1951), modifiée par Markwell et coll. (1978). Ces techniques ont été décrites dans la première partie.

2. RESULTATS ET DISCUSSIONS

2.1. Evolution pondérale des animaux entre l'opération et le début de l'intoxication : résultats et commentaire

Les résultats des mesures de l'évolution pondérale entre le jour de l'opération et le premier jour de traitement sont traduits par la figure 4a. Les femelles maigrissent d'environ 21 g durant les 3 jours qui suivent

l'opération, avec une perte de poids très importante au cours des deux premiers jours. L'amaigrissement est lié au traumatisme de l'opération et au fait que les animaux mangent très peu. Ensuite la croissance reprend ; elle est de 2 à 3 g par jour et pratiquement parallèle à celle des femelles non opérés (fig. 4b).

Seules les rates urémiques fécondées les jours 10 et 11 qui suivent la néphrectomie sont retenues ; l'écart pondéral entre celles-ci et les autres est alors d'environ 10 g.

Une des difficultés de l'expérience est précisément d'avoir suffisamment de femelles fécondées le 11ème jour, d'autant plus que seules seront prises en compte les portées comprises entre 10 et 12 jeunes.

2.2 Evaluation de la créatinine sérique des rates : résultats et commentaire.

Le taux de créatinine sérique des 12 femelles néphrectomisées, 7 jours après l'opération, est en moyenne de 103 ± 6 $\mu\text{moles/l}$; celui des 12 femelles non opérées est de 60 ± 5 $\mu\text{moles/l}$.

L'expérience complémentaire a permis de comparer la créatinine à cette date avec celle au jour 20 de gestation. Les résultats sont inscrits dans le tableau 1.

Tableau 1 : Créatinine 3 jours avant le traitement et au jour 20 de gestation (en $\mu\text{moles/l}$)

	3 jours avant le traitement	au jour 20 de gestation
femelles témoins normales n = 5	59 ± 5	60 ± 7
femelles traitées normales n = 5	60 ± 6	61 ± 7
femelles témoins urémiques n = 5	102 ± 4	115 ± 5
femelles traitées urémiques n = 5	104 ± 5	118 ± 6

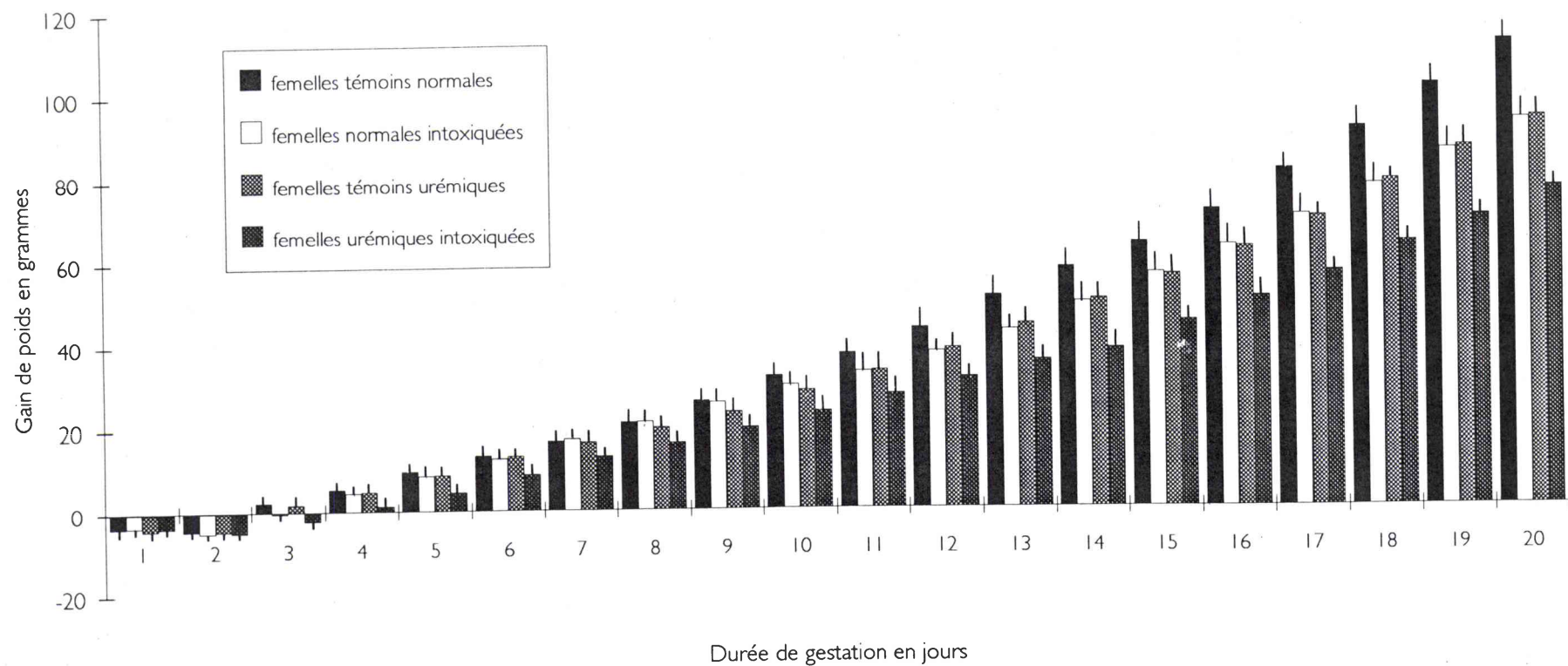


Fig 5 Gain de poids des femelles gestantes (données cumulées)

Entre le jour 7 qui suit l'opération et le jour 20 de gestation, c'est-à-dire en 30 jours, la créatinine augmente de 12,7 % chez les urémiques témoins ($p < 0,05$) et de 13,4 % chez les urémiques traitées ($p < 0,05$).

Concernant l'évolution du taux de créatinine chez les femelles urémiques, les résultats sont similaires à ceux de Gretz et coll. (1988) qui ont opéré les animaux selon la même technique et montré que sur 4 semaines la progression de la déficience rénale est homogène. Par ailleurs le traitement à l'aluminium ne semble pas influencer cette progression.

2.3. Evolution pondérale et masse de nourriture ingérée durant le traitement

2.3.1. Résultats

Seuls ont été pris en compte les résultats de la première expérience.

A. Gain de poids

Le gain pondéral des 4 groupes est représenté par la figure 5. Au 20ème jour de gestation, parmi les femelles normales, l'écart est de 16,9 % entre les témoins et les traitées, et parmi les urémiques l'écart est de 17 %. Si l'on compare uniquement les témoins entre eux, le gain pondéral des urémiques est inférieur de 16,4 % à celui des normaux. Enfin si l'on considère les animaux traités, le gain pondéral des urémiques est inférieur de 17,2 % à celui des normaux.

En fait les écarts de gain pondéral sont significatifs à partir du 18ème jour, comme le montre le tableau 2 qui traduit les résultats des comparaisons multiples à l'aide du test PLSD de Fisher ; ce test a été utilisé car l'analyse de variance indique que l'effet du traitement est très significatif : $F(3,20) = 27,231$; $p < 0,0001$.

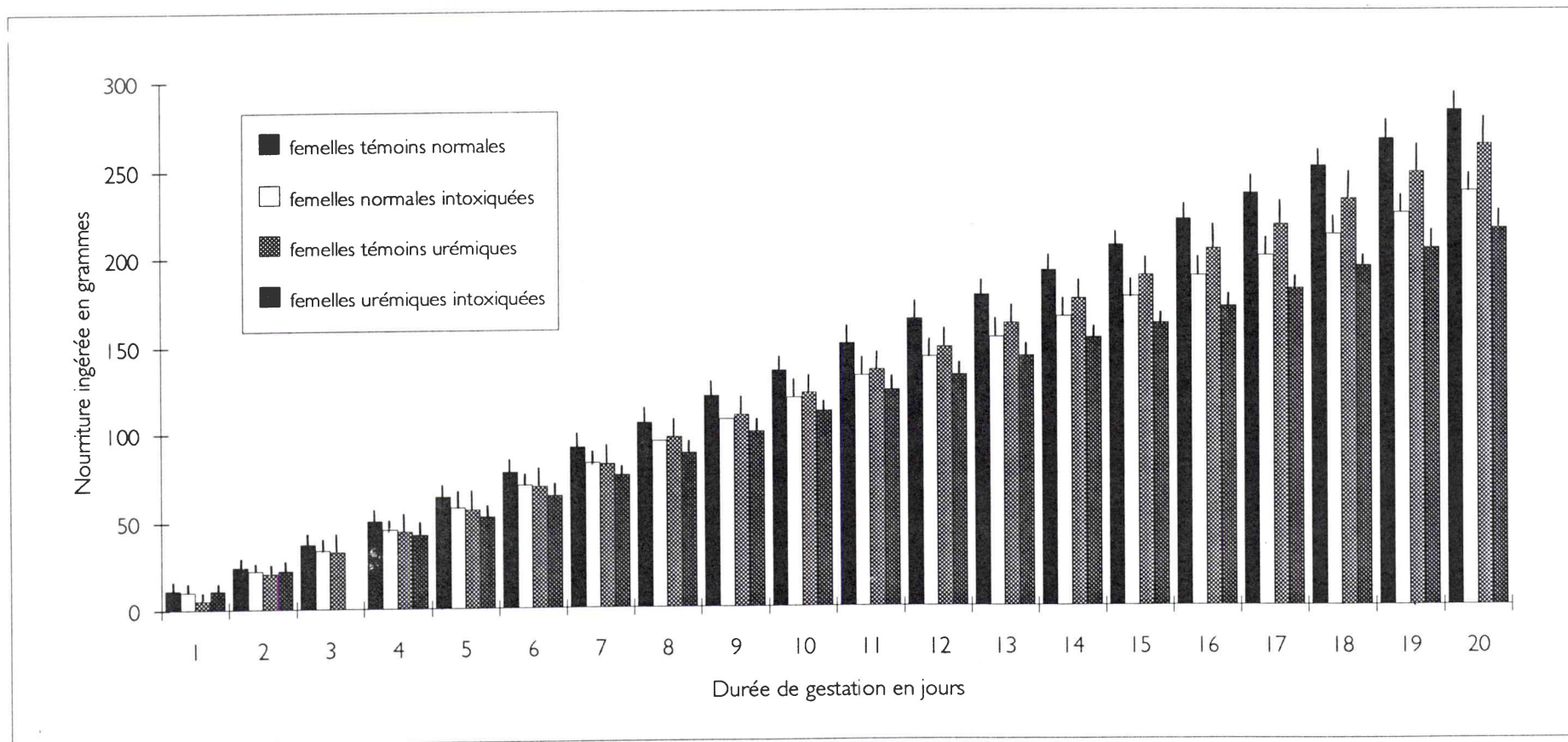


Fig 6 Nourriture ingérée durant la gestation (valeurs cumulées)

Tableau 2 : Résultats du test PLSD de Fisher appliqué au gain pondéral à 18 jours de gestation.

femelles	traitées normales	témoins urémiques	traitées urémiques
témoins normales	$p < 0.01$	$p < 0.01$	$p < 0.001$
témoins urémiques	NS	•	$p < 0.01$
traitées normales	•	NS	$p < 0.01$

B. Masse de nourriture ingérée

La masse de nourriture ingérée par les 4 groupes de femelles durant la gestation est représentée par la figure 6.

Au 20ème jour de gestation, les femelles normales traitées ont ingéré une masse d'aliments inférieure de 15,8 % à celle des témoins normales, et les urémiques traitées une masse inférieure de 17,9 % à celle des urémiques témoins. Si l'on compare les deux groupes de témoins, la masse de nourriture ingérée par les urémiques est inférieure de 6,7 % à celle des normales. Enfin si l'on compare les deux groupes de traitées, les urémiques ont également ingéré moins de nourriture que les normales ; la différence est de 9 %.

Comme pour le gain pondéral, les différences de quantité de nourriture ingérée par les 4 groupes sont significatives à partir du jour 18 de gestation ; le test ANOVA ($F [3,20] = 138,531$; $p < 0,0001$) a permis de réaliser des comparaisons multiples à l'aide du test PLSD de Fisher (tableau 3).

Tableau 3 : Résultats du test PLSD de Fisher appliqué à la masse cumulée de nourriture ingérée au jour 18 de gestation

femelles	traitées normales	témoins urémiques	traitées urémiques
témoins normales	$p < 0.01$	$p < 0.01$	$p < 0.001$
témoins urémiques	$p < 0.01$	•	$p < 0.01$
traitées normales	•	$p < 0.01$	$p < 0.01$

2.3.2. Discussion

Les deux groupes de femelles témoins, perdent du poids durant 2 jours et les deux groupes de femelles traitées durant 3 jours.

L'amaigrissement est dû au fait que les animaux mangent moins ; cette période correspond au temps d'adaptation à la nourriture humide, qui est plus long lorsque celle-ci contient de l'aluminium.

L'évolution pondérale des femelles urémiques est inférieure à celle des femelles normales. Ces résultats sont en accord avec ceux d'autres auteurs, en particulier Kleinknecht et coll. (1988b) qui indiquent que des rats normaux nourris avec des aliments humides ont une évolution pondérale plus faible que des rats nourris avec des aliments secs, et que ces différences sont plus grandes quand les rats sont urémiques car ces derniers sont anorexiques, à cause de la difficulté qu'ils ont à concentrer l'urine.

L'évolution pondérale des femelles traitées est inférieure à celle des femelles témoins dans les derniers jours de gestation, et elle est significative à partir du 18ème jour.

Ces résultats sont similaires à ceux obtenus par Bernuzzi et coll. (1989) qui observent une différence de poids de 5,2 % à partir du 18ème jour entre des femelles normales témoins et des femelles normales traitées à la même dose de chlorure d'Al que les nôtres, et dans les mêmes conditions. D'après ces auteurs, le traitement au chlorure d'Al n'affecte pas la quantité de nourriture ingérée quotidiennement, mais ils ne prennent pas en compte la masse cumulée de nourriture ingérée durant toute la gestation. Muller et coll. (1990) constatent également que des femelles de rat traitées au lactate d'aluminium par voie orale durant toute la gestation à la dose de 400 µg/kg ont une évolution pondérale plus faible que les témoins dans les quelques jours qui précèdent la parturition.

S'il apparaît une différence de poids entre les femelles intoxiquées et les femelles témoins durant les derniers jours de gestation, c'est que la croissance des fœtus s'accélère et que le déficit entre les besoins en nutriments et la quantité de nourriture réellement absorbée s'agrandit.

La réduction de l'absorption de nourriture pourrait être due à un ralentissement de la vidange gastrique (Hurwitz et coll. 1976), et plus généralement à une inhibition de la mobilité du tractus gastro intestinal par Al (Hava et Hurwitz 1973). Cependant il n'est pas exclu que la réduction de poids soit due à l'aluminium lui-même. Benett et coll (1975) rapportent une réduction de l'évolution pondérale chez des femelles de rat traitées au chlorure d'aluminium par voie intrapéritonéale durant 5 jours (du 9ème jour au 13ème jour de gestation, ou du 14ème jour au 18ème jour), à de fortes doses il est vrai (75, 100 et 200 mg/kg). Yokel (1985) constate aussi un ralentissement de la prise de poids chez des lapines gestantes ayant reçu des injections sous-cutanées de lactate d'aluminium à la dose de 400 μ moles d'Al/kg du 2ème jour au 27ème jour de gestation.

2.4 Quelques observations sur la gestation et sur les jeunes rats à la naissance

2.4.1. Taux de fécondité et durée de la gestation

La néphrectomie n'a pas d'influence sur la fréquence des fécondations ni sur la durée de la gestation, et le traitement aluminique ne modifie pas la durée de la gestation des femelles normales ou urémiques.

Ces résultats peuvent être comparés à ceux de Bernuzzi et coll. (1989) qui ont intoxiqué des femelles normales de rat par la nourriture au chlorure d'aluminium à la dose de 300 mg/kg dans les mêmes conditions que les nôtres, et de Yokel (1985) qui ont traité des femelles de Lapin gestantes durant 20 jours par injection sous-cutanée de lactate d'aluminium à la dose de 400 μ moles d'Al/kg : ces deux auteurs n'ont pas observé de réduction de la durée de gestation.

2.4.2. Taille des portées et poids des jeunes à la naissance

A priori, ni le degré d'urémie induit ni l'intoxication orale à la dose de 300 mg/kg/j au chlorure d'Al ne semblent avoir d'influence sur la taille des portées dans la mesure où il existe des portées nombreuses chez les femelles urémiques traitées et des portées parfois peu nombreuses chez les femelles témoins. D'autre part, à l'occasion des expériences complémentaires au cours desquelles les femelles ont été sacrifiées au 20ème jour de gestation, il n'a pas été observé d'augmentation du taux de résorption. Toutefois le nombre d'animaux étudiés est insuffisant pour pouvoir tirer une conclusion définitive.

Le poids des jeunes a été déterminé aux jours 1 et 2 après la naissance. Les résultats sont inscrits dans le tableau 4. Les chiffres représentent des moyennes $\pm$ SD.

Tableau 4: Poids (en gramme) des jeunes aux deux premiers jours après la naissance

jour	jeunes de mères normales témoins n = 6	jeunes de mères normales traitées n = 6	jeunes de mères urémiques témoins n = 6	jeunes de mères urémiques traitées n = 6
1	5,48 $\pm$ 0,40	4,91 $\pm$ 0,34*	5,53 $\pm$ 0,25	4,71 $\pm$ 0,14*
2	6,30 $\pm$ 0,55	6,13 $\pm$ 0,50	6,30 $\pm$ 0,50	5,99 $\pm$ 0,33

n = nombre de portées

* significativité par rapport aux témoins : $p < 0,01$

A l'âge de 1 jour, le poids des jeunes de mères normales intoxiquées est inférieure de 10,4 % à celui des jeunes issus de mères témoins. Lorsque les mères sont urémiques, l'intoxication aluminique a un effet plus important : le poids des jeunes est diminué de 14,8 %.

Le test ANOVA appliqué au poids des jeunes âgés de 1 jour indique que les 4 groupes sont hétérogènes entre eux : $F(3,20) = 10,102$;

$p < 0,003$, ce qui autorise à faire des comparaisons multiples à l'aide du test PLSD de Fisher (tableau 5).

Tableau 5 : résultat du test PLSD de Fisher appliqué au poids des jeunes âgés de 1 jour.

jeunes de :	mères normales traitées	mères urémiques témoins	mères urémiques traitées
mères normales témoins	$p < 0.01$	NS	$p < 0.01$
mères urémiques témoins	$p < 0.01$	•	$p < 0.01$
mères normales traitées	•	$p < 0.01$	NS

Ainsi le poids des jeunes au stade +1 jour est réduit significativement lorsque la mère normale et urémique a été intoxiquée par l'aluminium. Par contre, lorsqu'elle est urémique témoin, il n'est pas modifié par rapport à la mère normale.

Lorsque l'on compare la mère normale avec la mère urémique, il apparaît que l'effet de Al sur le poids des jeunes n'est pas plus important dans un cas ou dans l'autre.

Au jour 2, il existe encore un écart pondéral entre les jeunes de mères normales traitées et ceux de mères normales témoins d'une part, et entre les jeunes de mères urémiques traitées et ceux de mères urémiques témoins d'autre part, mais il n'est pas significatif.

Concernant le poids des jeunes, ces résultats sont similaires à ceux obtenus par Bernuzzi et coll. (1989). Cependant ces auteurs indiquent que parmi les jeunes de mères intoxiquées au chlorure d'Al, le taux cumulé de mortalité est de 25,2 % au jour 1, de 41,2 % au jour 4, de 47,9 % au jour 9 et de 48,7 % au jour 14. Nous n'avons pas constaté d'élévation du taux de mortalité durant les 14 jours qui ont suivi la naissance, pas plus chez les jeunes de femelles urémiques que chez les jeunes de femelles normales.

Les mêmes auteurs (Bernuzzi et coll. 1989) ont observé également un taux de mortalité élevé chez les jeunes dont la mère avait été intoxiquée au lactate d'aluminium durant toute la gestation à raison de 400 mg

d'Al/kg/j, mais Muller et coll. (1990) qui ont réalisé la même intoxication n'ont pas retrouvé ces résultats ; ils expliquent l'absence de mortalité par l'environnement : tout comme dans nos expériences, leurs animaux étaient élevés dans des cages de plastique et recevaient du coton pour la nidification, alors que dans les expériences de Bernuzzi et coll. (1989), ils se trouvaient dans des cages grillagées sans protection.

2.5. Teneur en aluminium

2.5.1. Aluminémie des mères au 20ème jour de gestation

Les résultats sont consignés dans le tableau 6.

Tableau 6 : Aluminémie des mères au 20ème jour de gestation (en $\mu\text{g/l}$.)

femelles témoins normales n = 5	15 - 28 - 27 - 29 - 20
femelles traitées normales n = 5	48 - 35 - 28 - 33 - 32
femelles témoins urémiques n = 5	29 - 25 - 19 - 31 - 18
femelles traitées urémiques n = 5	50 - 62 - 47 - 56 - 49

n = nombre d'animaux dans la seconde expérience.

L'aluminémie moyenne des témoins normaux est de $24 \pm 6 \mu\text{g/l}$ et celle des témoins urémiques est de $24 \pm 5 \mu\text{g/l}$. Il n'y a donc pas de différence entre ces deux groupes.

Chez les femelles normales traitées, le taux d'aluminium est de $35 \pm 7 \mu\text{g/l}$; il est légèrement supérieur au taux des femelles normales témoins ; la différence n'est pas significative mais elle suggère qu'une partie de l'aluminium ingéré est absorbée puis éliminée rapidement. Cette hypothèse est confirmée par les taux décelés chez les femelles urémiques traitées, qui sont en moyenne de $53 \pm 5 \mu\text{g/l}$; chez ces animaux, une partie de l'aluminium absorbée n'est pas éliminée immédiatement à cause de l'insuffisance rénale.

Il est intéressant d'évaluer le taux d'aluminium plasmatique à cette période de la gestation car le flux sanguin à travers le placenta est très important, et bon nombre de minéraux parmi lesquels le fer, le traversent en grande quantité.

Il est admis que la quasi totalité de l'aluminium plasmatique est fixé sur la transferrine, non saturée par le fer. Comme, au niveau du placenta, le fer passe de la transferrine maternelle à la transferrine foetale (Munro et coll. 1983), on peut imaginer que l'aluminium traverse le placenta de la même façon.

2.5.2. Concentrations en aluminium dans le cerveau et le foie des rats âgés de 2 et 7 jours

Les résultats sont inscrits dans les tableaux 7 et 8 ; les chiffres représentent des moyennes $\pm$ SD.

Tableau 7 : Concentrations en aluminium dans le cerveau et le foie des rats âgés de 2 jours ($\mu\text{g/g}$ de tissu frais.)

origine	cerveau total	foie
rats de mères témoins normales n = 6	$0,734 \pm 0,084$	$0,691 \pm 0,302$
rats de mères traitées normales n = 6	$0,992 \pm 0,485$	$0,663 \pm 0,300$
rats de mères témoins urémiques N= 6	$0,732 \pm 0,242$	$0,713 \pm 0,270$
rats de mères traitées urémiques n = 6	$0,788 \pm 0,228$	$0,709 \pm 0,223$

n = nombre d'expériences.

Tableau 8 : Concentrations en aluminium dans le cerveau et le foie des rats âgés de 7 jours ($\mu\text{g/g}$ de tissu frais.)

origine	cerveau total	foie
rats de mères témoins normales n = 6	$0,549 \pm 0,271$	$0,487 \pm 0,190$
rats de mères traitées normales n = 6	$0,524 \pm 0,150$	$0,517 \pm 0,190$
rats de mères témoins urémiques n = 6	$0,785 \pm 0,305$	$0,758 \pm 0,244$
rats de mères traitées urémiques n = 6	$0,605 \pm 0,213$	$0,643 \pm 0,158$

n = nombre d'expériences

Chez les rats âgés de 2 et 7 jours provenant de mères traitées normales et urémiques, la teneur en Al du foie et du cerveau total ne diffère pas de celle des jeunes issus de mères témoins.

Dans des expériences qui ont consisté à pratiquer des injections sous-cutanées de lactate d'Al à des lapines gestantes, Yokel (1985), déjà cité dans le § 2.4.1., observe chez les jeunes âgés de 2 jours une augmentation de la teneur en Al de 6 fois dans l'hippocampe et d'environ 10 fois dans le foie, mais l'aluminémie des mères - non mentionnée - était probablement élevée. Il constate également que les concentrations en aluminium dans le placenta des femelles intoxiquées sont plus fortes que celles des femelles témoins. L'auteur en conclut que le placenta, en concentrant le métal, a un effet protecteur sur les fœtus. Par contre, Mc Cormack et coll. (1979) ne décèlent pas d'augmentation du taux d'Al dans la carcasse des fœtus de 19 jours dont la mère a été intoxiquée du jour 6 au jour 19 de la gestation par la nourriture, additionnée de 500 à 1 000 ppm d'Al sous forme de chlorure d'aluminium, avec ou sans injection de HPT ; les autres tissus ne sont pas examinés.

La non augmentation de la teneur en Al dans le cerveau et le foie peut s'expliquer de deux façons :

- l'aluminium n'est pas passé dans le sang du fœtus,
- la teneur en Al du sang du fœtus a augmenté mais pas suffisamment pour que le métal parvienne à se concentrer dans les tissus considérés.

Il n'a pas été possible de doser l'aluminium plasmatique chez les rats de 2 et 7 jours car leur volume sanguin est insuffisant. Néanmoins on peut supposer que leur aluminémie est faible car d'une part celle de leur mère est peu élevée (voir § 2.4.1) et que d'autre part le placenta concentre l'aluminium.

En dehors d'une intoxication prénatale possible par l'intermédiaire du placenta, les jeunes peuvent encore être intoxiqués par le lait maternel (intoxication post natale).

Selon Yokel et Mc Namara (1985), des injections sous-cutanées de 800 μ moles d'Al/kg/j à des lapines en lactation augmentent la concentration en aluminium du lait de 6 fois, mais moins de 1 % de cet aluminium est absorbé par les jeunes. Dans nos expériences, la contamination par le lait est probablement très faible.

2.5.3. Concentrations en aluminium plasmatique chez les rats âgés de 14 jours

Les résultats sont inscrits dans le tableau 9.

Tableau 9 : Concentration en aluminium plasmatique chez les rats âgés de 14 jours (μ g/l)

origine	moyenne $\pm$ SD
rats de mères témoins normales n = 6	20 $\pm$ 4
rats de mères traitées normales n = 6	21 $\pm$ 5
rats de mères témoins urémiques n = 6	18 $\pm$ 5
rats de mères traitées urémiques n = 6	20 $\pm$ 6

n = nombre d'expériences

Les quatre groupes de rats ne présentent pas de différence de concentration en aluminium plasmatique à l'âge de 14 jours. Ces dosages, réalisés à titre indicatif, ne prouvent pas, bien entendu, qu'il n'y a pas eu de différence de concentration dans les premiers jours qui ont suivi la naissance.

2.5.4. Concentrations en aluminium plasmatique chez les mères 14 jours après la parturition.

Les résultats sont inscrits dans le tableau 10.

Tableau 10 : Concentrations en aluminium plasmatique chez les mères, 14 jours après la parturition ($\mu\text{g/l}$.)

femelles témoins normales n = 6	22 - 18 - 19 - 16 - 24 - 25
femelles traitées normales n = 6	19 - 18 - 20 - 27 - 22 - 21
femelles témoins urémiques n = 6	31 - 32 - 24 - 22 - 26 - 23
femelles traitées urémiques n = 6	28 - 27 - 17 - 16 - 21 - 20

n = nombre d'animaux

Chez les femelles normales témoins, le taux d'aluminium plasmatique est en moyenne de $21 \pm 4 \mu\text{g/l}$ alors qu'il est de $21 \pm 3 \mu\text{g/l}$ chez les femelles normales traitées. Chez les femelles urémiques, il est de $26 \pm 4 \mu\text{g/l}$ chez les témoins par rapport à $22 \pm 5 \mu\text{g/l}$ pour les traitées. La différence de concentration en aluminium entre les quatre groupes de femelles n'est pas significative. Comme il n'a pas été possible de faire des dosages entre le 20ème jour de gestation et cette période, on ne peut rien dire sur la vitesse d'élimination du toxique, en particulier en ce qui concerne les femelles urémiques qui, au 20ème jour de gestation, ont une aluminémie plus élevée que les autres. D'autre part il n'existe pas de travaux de ce type dans la bibliographie. Un seul dosage a été effectué sur une femelle normale sacrifiée deux jours avant la parturition ; la teneur en aluminium plasmatique était de $21 \mu\text{g/l}$. Notons que si l'aluminium se concentre dans le placenta comme le suggère

Yokel (1985), les mères s'intoxiquent à la parturition, lorsqu'elles mangent leur placenta.

2.6.Activités de la CAT chez les jeunes

L'activité de la CAT chez les jeunes âgés de 2,7 et 14 jours provenant des quatre groupes de femelles est rapportée dans le tableau 11. Les chiffres représentent des moyennes $\pm$ SD.

Tableau 11 : Activité de la CAT chez les rats âgés de 2, 7 et 14 jours (en nmoles/mg de protéines/h).

âge (en jours)	2	7	14
rats de mères témoins normales n = 6	0,15 $\pm$ 0,03	2,52 $\pm$ 0,35	15,60 $\pm$ 0,27
rats de mères traitées normales n = 6	0,17 $\pm$ 0,04	2,71 $\pm$ 0,47	15,95 $\pm$ 0,44
rats de mères témoins urémiques n = 6	0,14 $\pm$ 0,03	2,55 $\pm$ 0,23	15,28 $\pm$ 0,47
rats de mères traitées urémiques n = 6	0,16 $\pm$ 0,03	2,71 $\pm$ 0,24	16,10 $\pm$ 0,38

n = nombre d'expériences.

L'activité de la CAT ne diffère pas significativement entre les quatre groupes de rats aux jours 2, 7 et 14. Les travaux portant sur la recherche d'effets éventuels d'une intoxication prénatale à l'aluminium sur l'activité de la CAT chez le jeune rat au début de son développement sont inexistantes. Toutefois ces résultats peuvent être rapprochés de ceux de Bernuzzi et coll. (1986) qui ont étudié, chez le Rat, les effets d'intoxications prénatales au chlorure d'aluminium sur le développement neuromoteur du jeune.

Dans une première série d'expériences, Bernuzzi et coll. (1986) intoxiquent des femelles normales en gestation au chlorure d'aluminium par voie orale du jour 8 de la gestation jusqu'à la parturition, aux doses de 160 et 200 mg/kg, et constatent que les jeunes présentent un retard dans le réflexe de retournement au jour 4, et un retard dans le test de réaction antigravitaire au jour 9 ; les effets ne sont pas dose dépendants. Ils n'observent pas de différence aux tests d'agrippement, de suspension et de coordination locomotrice. Ils réalisent des travaux

complémentaires aux précédents (Bernuzzi et coll. 1989) en intoxiquant des femelles normales, toujours au chlorure d'aluminium et par voie orale, mais durant toute la gestation, aux doses de 100, 300 et 400 mg/kg.

L'intoxication à la dose de 300 mg/kg a été menée exactement dans les mêmes conditions que les nôtres. Les auteurs constatent un retard aux tests de redressement, de réaction antigravitaire et de coordination locomotrice qui disparaît lors de la seconde semaine de développement.

L'altération transitoire du développement neuromoteur chez les jeunes de mères intoxiquées par l'aluminium peut-être due à leur retard pondéral juste après la naissance, ou encore à une atteinte spécifique du système nerveux mais, dans ce cas, la CAT ne semble pas en cause.

3. CONCLUSION GENERALE SUR LES EFFETS D'UNE INTOXICATION PRENATALE PAR VOIE ORALE.

Benett et coll. (1975) rapportent que des femelles intoxiquées par voie intrapéritonéale avec du chlorure d'aluminium à des doses de 75, 100 et 200 mg/kg du jour 9 au jour 13 ou du jour 14 au jour 18 de la gestation ont un gain de poids plus faible que les témoins et présentent des anomalies dans certains tissus : granulomes périhépatiques, dégénérescence de cellules hépatiques... mais le placenta n'est pas touché, de même que les tissus foetaux examinés au 20ème jour de gestation. Par contre, à cette même date, les foetus présentent un poids plus faible que les témoins, et l'écart augmente avec la concentration.

Une intoxication orale de la mère au chlorure d'aluminium à la dose de 300 mg/kg administrée durant toute la gestation entraîne également une réduction du poids des jeunes à la naissance, mais à partir du 2ème jour la différence avec les témoins n'est plus significative. Ceci peut être dû simplement au fait que les mères intoxiquées mangent moins que les témoins, et qu'elles prennent moins de poids. D'ailleurs la faible élévation du taux d'Al dans leur sang n'est sans doute pas suffisante pour que le toxique ait un effet direct sur le poids des jeunes. En tout cas les taux d'Al hépatiques et cérébraux de ces jeunes ne varient pas, et comme l'aluminium se concentre facilement dans le foie, on peut émettre l'hypothèse qu'ils ne sont pas ou très peu intoxiqués. C'est la raison pour laquelle l'activité de la CAT n'est pas modifiée.

Chapitre 2

Etude de l'effet d'intoxications aluminiques postnatales précoces sur le Rat en développement.

Un grand nombre de nourrissons et d'enfants urémiques non dialysés ayant reçu de fortes doses d'aluminium par voie orale pour contrôler leur hyperphosphatémie ont développé des encéphalopathies (Geary et coll. 1980 ; Nathan et Pedersen 1980 ; Foley et coll. 1981 ; Griswold et coll. 1983 ; Randall et coll. 1983 ; Milliner et coll. 1987).

Des nourrissons urémiques peuvent même être intoxiqués uniquement par l'aluminium contenu dans le lait maternisé (Freudlich et coll. 1985) dont la teneur peut être jusqu'à cent fois supérieure à celle du lait maternel (Bishop et coll. 1989).

L'augmentation de l'incidence à l'encéphalopathie chez le nourrisson et le jeune enfant par rapport à l'adulte pourrait être due à la fois à l'immaturité du tractus gastro intestinal et à l'immaturité de la barrière hémocéphalique.

Les travaux expérimentaux portant sur les conséquences d'une intoxication aluminique par voie orale de jeunes animaux étant très peu nombreux, il était intéressant de réaliser une intoxication postnatale précoce afin d'évaluer la quantité d'aluminium absorbée, la quantité d'aluminium présent dans le cerveau et l'effet de l'aluminium sur l'activité de la CAT à cette période critique du développement (Gaitonde et Richter 1966) quand le cerveau est vulnérable (Dobbing 1974).

Les animaux ont été intoxiqués avec un sel organique (le lactate d'aluminium) et un sel minéral (le chlorure d'aluminium). D'après Bernuzzi et coll. a (1989), l'intoxication au lactate d'Al ralentit la croissance des jeunes rats. C'est pourquoi l'impact de ces intoxications sur quelques variables plasmatiques en rapport avec la nutrition a été envisagée à titre complémentaire.

1 MATERIEL ET METHODE

1.1 Animaux

Des femelles (Iffa Credo, L'Arbresle) pesant 220 ± 4 g sont mises en gestation dans des cages en plastique et nourries *ad libitum* avec des croquettes Extralabo et de l'eau. La température de la salle d'élevage est de 22-23°C et l'éclairage est normal (alternance de 12h de lumière et de 12h d'obscurité).

1.2. Protocole d'intoxication

Les jeunes rats sont intoxiqués par intubation gastrique du 5ème au 14ème jour après la naissance soit au lactate d'aluminium, soit au chlorure d'aluminium. Les expériences se font sur des portées de 12. Chaque jeune est tatoué avec des points de bleu d'alizarine.

Dans un premier temps des portées sont intoxiquées afin d'évaluer l'activité de la CAT cérébrale et de doser l'aluminium dans le plasma, le cerveau et le foie. Mais comme il s'avère que l'intoxication a un effet sur l'évolution pondérale, d'autres portées sont intoxiquées afin de rechercher l'effet de l'intoxication du point de vue nutritionnel.

Lors de la première série d'expériences, quatre portées sont utilisées pour le lactate d'Al et cinq pour le chlorure d'Al.

En ce qui concerne le lactate, chaque portée est divisée en 3 groupes de 4 animaux. Le groupe 1 reçoit de l'eau distillée (groupe témoin) ; les groupes 2 et 3 sont intoxiqués respectivement à la dose de 100 et 200 mg d'Al/kg. La technique de dosage de l'aluminium nécessite un volume de plasma d'au moins 0,5 ml qui ne peut être obtenu qu'à partir de 4 animaux.

Pour le chlorure, chaque portée est divisée en deux groupes de 6 animaux ; un groupe sert de témoin et reçoit de l'eau distillée. L'autre groupe est intoxiqué à la dose de 100 mg d'Al/kg/j. (Il n'y a pas d'animaux intoxiqués à la dose de 200 mg d'Al/kg car cette dose est

létale à partir du deuxième jour). Sur les 6 animaux de chaque groupe, 4 sont pris en compte pour l'évaluation de l'activité de la CAT les autres servant pour des dosages complémentaires d'aluminium.

La seconde série d'expériences se fait sur 10 portées. Chacune d'elles est divisée en quatre groupes de 3 animaux ; le premier groupe sert de témoin, le second groupe est traité au chlorure d'Al à la dose de 100mg d'Al/ kg, les troisième et quatrième groupes sont traités au lactate d'Al à la dose de 100 et 200 mg d'Al/kg.

Les sels d'aluminium sont dissous dans un volume d'eau distillée compris entre 0 et 0,5 ml, et les solutions sont préparées extemporanément. Le pH de la solution de chlorure est de 3 ; ceux des solutions de lactate 100 et 200 mg d'Al/kg sont respectivement de 3,6 et 3,4. Les gavages ont lieu le soir, entre 18 h et 20 h.

Les animaux sont sacrifiés au 15ème jour, soit un jour après la fin de l'intoxication.

1.3. Mesures et analyses

La première série d'expériences permet donc d'évaluer l'activité de la CAT dans les structures cérébrales et de doser l'aluminium dans le plasma, le cerveau et le foie. L'activité de la CAT est évaluée par la microméthode de Fonnum (1975) et les protéines des structures cérébrales sont dosées par la méthode de Lowry et coll. (1951) modifiée par Markwell et coll. (1978). Ces méthodes ont été décrites dans la première partie. L'aluminium est dosé par la spectrophotométrie d'émission à plasma d'argon décrit dans chapitre 1, paragraphe 1.1.

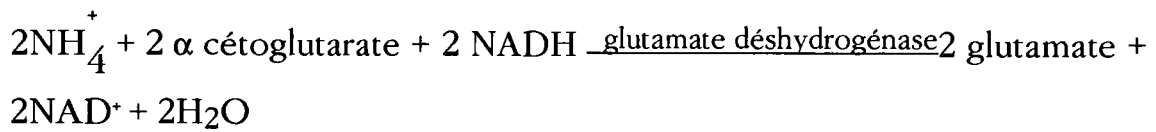
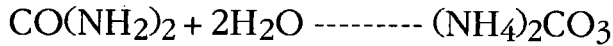
Seuls les animaux de la seconde série sont retenus pour suivre leurs évolutions pondérales. Le sang des 3 rats constituant un groupe est regroupé. Après centrifugation à 900 g, le plasma est récupéré et séparé en deux aliquots :

- la première fraction permet de doser, à l'aide d'un automate multiparamétrique de chimie sur lequel quatre variables

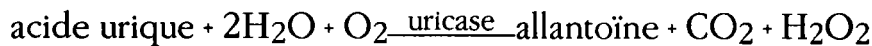
biologiques ont été dosées: protéines totales, urée, acide urique et créatinine, par méthode spectrophotométrique;

- la seconde fraction permet d'étudier la répartition des protéines plasmatiques par séparation électrophorétique.

Les protéines sont dosées par la méthode du biuret . L'urée est dosée par une méthode cinétique selon la réaction :



L'acide urique est dosé par la méthode enzymatique colorimétrique selon la réaction :



L'addition de TBHB et d'amino-4-phénazone à l'eau oxygénée entraîne la formation du dérivé coloré.

La créatinine est dosée par la méthode de Jaffé sans déprotéinisation.

Les protéines sont séparées par électrophorèse sur cellogel à l'aide d'un automate cellosystem 2.

Tous ces dosages sont réalisés au Centre Hospitalier Régional de Metz Thionville dans le service de biochimie de M. Capolaghi.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1 Premières expériences : dosages d'aluminium et activité de la CAT cérébrale

2.1.1. Intoxication au lactate d'aluminium

A. Teneurs en aluminium du plasma et des homogénats hépatiques et cérébraux

a. Résultats

Les taux d'aluminium trouvés dans le plasma, le foie et les structures cérébrales qui ont servi à évaluer l'activité de la CAT figurent dans le tableau 12. Les valeurs représentent des moyennes $\pm$ SD.

Tableau 12 : Concentrations en aluminium du plasma et des homogénats hépatiques et cérébraux.

	plasma (en $\mu\text{g/l}$)	homogénat de foie (en $\mu\text{g/g}$ de tissu frais)	homogénat cérébral (en $\mu\text{g/g}$ de tissu frais)
groupe 1 (n = 4)	27,2 $\pm$ 8,5	1,55 $\pm$ 0,35	1,72 $\pm$ 0,21
groupe 2 (n = 4)	31,0 $\pm$ 6,5	2,22 $\pm$ 0,51	1,74 $\pm$ 0,40
groupe 3 (n = 4)	66,0 $\pm$ 10,0***	4,71 $\pm$ 1,10**	3,47 $\pm$ 1,18*

Différence significative par rapport aux témoins, test de Fisher : * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

Le test ANOVA indique que le traitement a un effet très significatif sur la teneur en aluminium plasmatique ($F(2,6) = 285,8$; $p < 0,0001$). Les comparaisons multiples utilisant le test PLSD de Fisher révèlent que les différences entre le groupe 3 et le groupe témoin sont significatives ($p < 0,001$), ainsi que celles entre le groupe 2 et le groupe 3 ($p < 0,001$) ; il n'y a pas de différence entre le groupe des témoins et le groupe 2.

Entre les groupes 1 et 3, la teneur en aluminium du foie augmente de 203 % ; entre les groupes 2 et 3, l'augmentation est de 112 %. Le test ANOVA montre que le traitement a un effet très significatif ($F(2,9) = 20,961$; $p < 0,004$). Les comparaisons multiples établies à l'aide du test PLSD de Fisher indiquent que la différence est significative entre les groupes 3 et 1 ($p < 0,01$) ainsi qu'entre les groupes 2 et 3 ($p < 0,01$). Par contre il n'y a pas de différence entre les groupes 1 et 2. Ainsi la concentration en aluminium hépatique augmente uniquement chez les animaux traités à la dose de 200 mg/kg.

Le test ANOVA appliqué aux taux d'aluminium contenus dans l'homogénat cérébral indique également que le traitement a un effet très significatif ($F(2,6) = 6,15$; $p < 0,035$). Les comparaisons multiples par le test PLSD de Fisher indiquent que les différences entre les groupes 3 et le groupe témoin sont significative ($p < 0,05$) ainsi que celles entre les groupes 2 et 3 ($p < 0,05$). Il n'y a pas de différence entre le groupe de témoins et le groupe 2.

b. Discussion

L'intoxication du jeune rat au lactate d'aluminium par intubation gastrique à la dose de 200 mg/kg entraîne donc une élévation du taux d'aluminium plasmatique. Tsou et coll. (1991) rapportent le cas de nourrissons d'une moyenne d'âge de 5,8 mois, ayant une fonction rénale normale et un taux de créatinine sérique identique, à qui l'on a prescrit un antiacide, en l'occurrence de l'hydroxyde d'Al à la dose de 123 ± 16 mg Al/kg durant 4,7 semaines ; dans ce cas l'aluminium plasmatique s'est élevé à $37,2 \pm 7,13$ µg/l, alors que celui des témoins n'était que de $4,13 \pm 0,66$ µg/l. Cette absorption de l'aluminium est liée au fait que le tractus gastro intestinal est encore immature. Cependant chez le nourrisson et chez le jeune rat, l'aluminium est davantage absorbé que chez le lapin immature (Yokel et McNamara, 1985).

L'augmentation de la teneur en aluminium cérébral chez les animaux du groupe 3 peut être attribué à une augmentation de la perméabilité de la barrière hémocéphalique (BHE) chez le jeune rat ; en effet l'aluminium augmente la diffusion transmembranaire à travers cette barrière et affecte de manière sélective différents mécanismes de transport (Banks et Kastin 1989). Ainsi la perméabilité à la transferrine peut être augmentée, avec pour conséquence une accumulation d'Al dans le cerveau. La transferrine peut franchir la BHE car elle a de nombreux sites de liaison dans les cellules endothéliales cérébrales et dans le tissu cérébral (Jefferies et coll. 1984, Fishman et coll. 1987, Pardridge et coll. 1987). Comme l'aluminium circule lié principalement à la transferrine (Trapp 1983), il peut gagner le cerveau par l'intermédiaire de cette protéine (Banks et Kastin 1989).

La quantité d'aluminium qui pénètre dans le cerveau peut être associée au développement de celui-ci. On a montré en effet que chez le Rat il y a une relation entre l'accumulation de transferrine dans les neurones en développement d'une part et l'ontogénèse du métabolisme oxydatif d'autre part (Dion et coll. 1988). Les pics de la transferrine intraneuronale et du Fe^{2+} précèdent l'augmentation d'activité d'un certain nombre d'enzymes d'oxydation de la chaîne respiratoire mitochondriale (Mash et coll. 1990).

Dans le foie, la quantité d'aluminium augmente, mais les teneurs ne sont pas plus élevées que dans le cerveau. Chez l'animal adulte et chez l'homme, l'aluminium a tendance à se concentrer dans le foie lorsque l'intoxication est importante.

Yokel (1991) a montré que chez le Rat et le Lapin adultes placés en microdialyse, l'aluminium augmente régulièrement dans le cortex frontal, l'hippocampe ventral et le foie, révélant une pénétration rapide de l'aluminium dans l'espace extracellulaire de ces organes. Dans le foie, le rapport tissu/sang est peu différent de 1, suggérant une diffusion, alors que dans le cerveau il est inférieur à 1, démontrant une barrière partielle à l'aluminium.

Chez le jeune rat, lorsque l'intoxication ne dure pas très longtemps et que l'aluminémie n'est pas très élevée, il y a presque autant d'aluminium dans le cerveau que dans le foie à cause de l'immaturité de la BHE.

B. Activité de la CAT

b. Résultats

L'effet du lactate d'Al sur l'activité de la CAT est inscrit dans le tableau 13.

Tableau 13 : effet du lactate d'aluminium sur l'activité spécifique de la CAT (en nmoles/h/mg de protéines).

groupe 1 (n = 4)	13,61 ± 3,18
groupe 2 (n = 4)	13,95 ± 2,88
groupe 3 (n = 4)	12,60 ± 2,74*

Différence significative par rapport aux témoins : * $p < 0,05$.

Le test ANOVA appliqué à l'activité de la CAT indique que le traitement à l'aluminium a un effet significatif ($F(2,6) = 6,445$; $p < 0,032$).

Les comparaisons multiples à l'aide du test PLSD de Fisher indiquent qu'il existe des différences significatives entre les témoins et le groupe 3 d'une part ($p < 0,05$) et entre les groupes 2 et 3 d'autre part ($p < 0,05$).

En conclusion, l'administration de lactate d'aluminium par intubation gastrique à la dose de 200 mg d'Al/kg à de jeunes rats inhibe l'activité de la CAT de 7,4%. A la dose de 100 mg d'Al/kg, le lactate d'aluminium n'a pas d'effet sur l'activité de l'enzyme par rapport aux témoins.

c. Discussion

La diminution de l'activité de la CAT dans le groupe 3 peut être due à la présence de l'aluminium, dont la concentration est de $4,6 \cdot 10^{-6}$ M. A la concentration en Al de 10^{-3} M, l'activité de la CAT est inhibée *in vitro* dans des homogénats provenant des mêmes structures cérébrales de rats âgés de 15 jours, mais à 10^{-4} M aucun effet n'a été observé (voir partie 1).

Ainsi suivant les concentrations les effets de l'aluminium sur l'activité de la CAT sont différents *in vivo* et *in vitro*.

2.1.2. Intoxication au chlorure d'aluminium

A. Teneurs en aluminium du plasma et des homogénats hépatiques et cérébraux.

a. Résultats

Les taux d'aluminium trouvés dans le plasma, dans le foie et dans les structures cérébrales qui ont servi à évaluer l'activité de la CAT figurent dans le tableau 14 : les valeurs représentent des moyennes $\pm$ SD.

Tableau 14: Concentration en aluminium du plasma et des homogénats hépatiques et cérébraux.

	plasma (en $\mu\text{g/l}$)	homogénat de foie (en $\mu\text{g/g}$ de tissu frais)	homogénat cérébral (en $\mu\text{g/g}$ de tissu frais)
témoins (n = 5)	24 ± 2	$2,01 \pm 0,20$	$1,56 \pm 0,30$
traités (n = 5)	$35 \pm 7 *$	$2,92 \pm 0,51 *$	$2,76 \pm 1,14$

Différence significative par rapport aux témoins : test de Student ; * $p < 0,01$.

Chez les rats traités au chlorure d'Al, la teneur en aluminium augmente de 45,8 % dans le plasma et de 45,2 % dans le foie. L'application du test de Student à ces résultats révèle que ces variations sont très significatives ($p < 0,01$). Le traitement n'entraîne pas d'élévation du taux d'aluminium dans les structures cérébrales étudiées.

b. Commentaire

Après le traitement au chlorure 100, les concentrations en Al du plasma et du foie des rats intoxiqués sont différentes de celles des témoins, alors qu'avec le lactate 100, elles ne sont pas significativement différentes.

Une fraction de l'aluminium administré est absorbé, ce qui se traduit par une augmentation de sa teneur dans le plasma et dans le foie. Si l'élévation est pratiquement la même dans le plasma et le foie (45,8 % et 45,2 %), c'est qu'il n'y a pas de barrière entre l'un et l'autre : le toxique passe d'abord dans le compartiment extracellulaire puis diffuse rapidement dans les hépatocytes (Yokel et coll. 1991). Par contre l'aluminium pénètre plus difficilement dans le cerveau, à cause de la BHE, bien que celle-ci soit immature et, comme pour le lactate administré à la dose de 100 mg/kg, la durée de l'intoxication (10 jours) n'est pas assez longue pour qu'il s'accumule dans le cerveau.

B. Activité de la CAT

a. Résultats

Les résultats de l'effet du chlorure d'aluminium sur l'activité de la CAT figurent dans le tableau 15. Les valeurs représentent des moyennes $\pm$ SD.

Tableau 15 : Effet du chlorure d'aluminium sur l'activité de la CAT cérébrale (en nmoles/h/mg de protéines).

Témoins (n = 5)	14,90 $\pm$ 0,6
Traités (n = 5)	13,17 $\pm$,05*

Différence significative par rapport aux témoins : test de Student ;
* $p < 0,01$.

Le traitement au chlorure d'aluminium s'accompagne d'une diminution significative de l'activité de la CAT de 11,6%.

b. Commentaire

Il n'y a pas de références bibliographiques quant aux effets d'une intoxication par le chlorure d'aluminium sur l'activité de la CAT chez le jeune rat en développement.

L'activité de l'enzyme est inhibée alors que la teneur en aluminium dans les structures concernées ne semble pas augmenter. D'après les résultats des dosages (tableau 14) il y aurait une augmentation de Al cérébral mais elle est non significative compte-tenu de l'écart type. Ceci prouve que le toxique a pénétré dans le cerveau et atteint l'enzyme. A la dose de 100 mg Al/kg, l'activité de la CAT est inhibée par le chlorure d'aluminium mais pas par le lactate. La nature du sel (organique ou minéral) est donc prépondérante.

2.2 Seconde expérience : évolution pondérale, dosages des variables biologiques et séparation des protéines plasmatiques.

2.2.1. Effet du chlorure et du lactate d'aluminium sur l'évolution pondérale.

A. Résultat des mesures

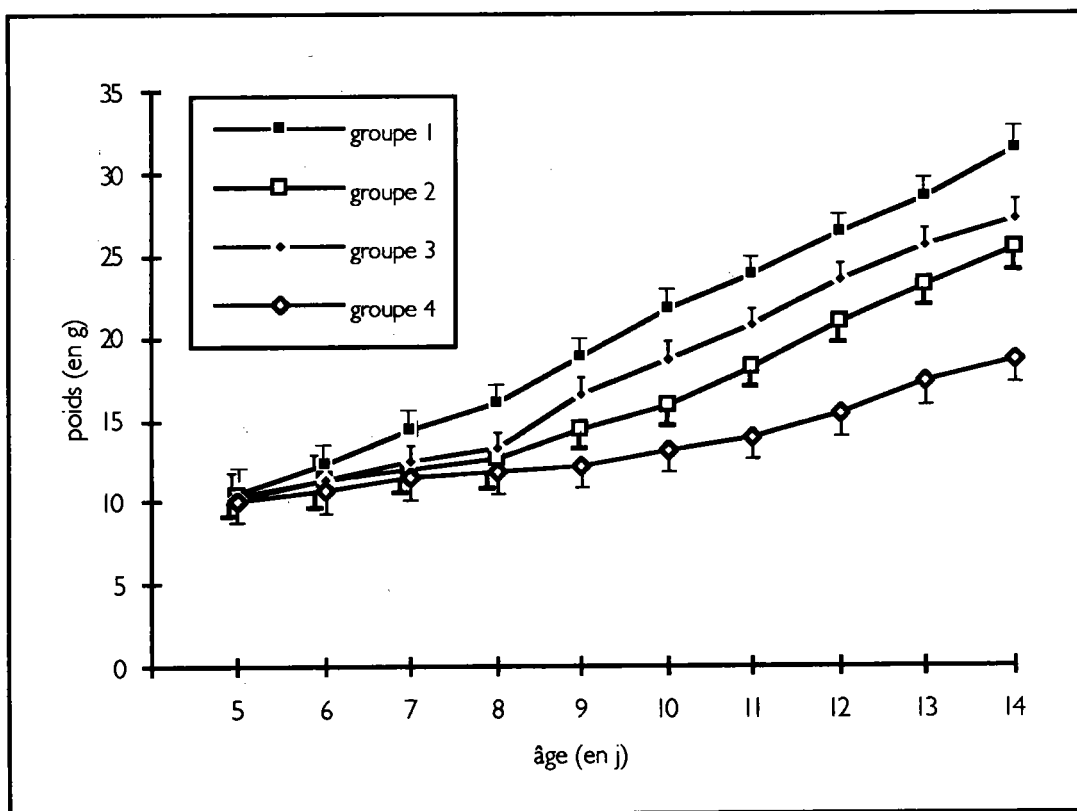


Fig 7 : Evolution pondérale des rats traités au chlorure et au lactate d'aluminium par intubation gastrique.

Les courbes de la figure 7 représentent l'évolution pondérale de chacun des quatre groupes d'animaux : groupe témoin (groupe 1), groupe traité au chlorure 100 mg Al/ kg (groupe 2), groupe traité au lactate 100 mg Al/kg (groupe 3) et groupe traité au lactate 200 mg Al /kg (groupe 4).

Alors que les 4 groupes ont un poids moyen très peu différent au jour 0 de l'intoxication, un écart pondéral significatif apparaît dès le 3ème jour : comparés au groupe 1, les groupes 2, 3 et 4 ont un poids inférieur respectivement de 17,2 % ; 13,8 % et 24,1 %.

Le test ANOVA à un facteur avec mesures appariées appliqué à ce stade montre que les 4 groupes sont hétérogènes entre eux ($F(3,27) = 14,69$) ; $p < 0,0001$), ce qui permet de faire des comparaisons multiples à l'aide du test PLSD de Fisher (tableau 16).

Tableau 16 : Résultats du test PLSD de Fisher appliqué à l'évolution pondérale au jour 3 de l'intoxication.

	groupe 2	groupe 3	groupe 4
groupe 1	$p < 0,01$	$p < 0,01$	$p < 0,01$
groupe 2	•	NS	NS
groupe 3	NS	•	$p < 0,05$

Ainsi le traitement au chlorure 100 mg Al/kg, et au lactate 100 et 200 mg Al/kg a un effet significatif sur l'évolution pondérale dès le 3ème jour. Après 10 jours, le poids moyen des groupes 2, 3 et 4 est inférieur respectivement de 19 % , 13,6 % et 40,9 % à celui du groupe 1. Entre le jour 3 et le jour 10, l'écart pondéral entre le groupe 1 d'une part , et les groupes 2 et 3 d'autre part n'a pas varié significativement. Par contre entre le groupe 1 et le groupe 4 il a augmenté de 16,8 %.

Au jour 10 de l'intoxication le test ANOVA donne le résultat suivant : $F(3,27) = 44,811$; $p < 0,0001$) ; les comparaisons multiples à l'aide du test PLSD de Fisher sont inscrites dans le tableau 17.

Tableau 17 : Résultats du test PLSD de Fisher appliqué à l'évolution pondérale au jour 10 de l'intoxication.

	groupe 2	groupe 3	groupe 4
groupe 1	p < 0,01	p < 0,01	p < 0,001
groupe 2	•	NS	p < 0,01
groupe 3	NS	•	p < 0,01

Après 10 jours d'intoxication, l'effet du lactate à la dose de 200 mg AL/kg est supérieur à celui du chlorure 100 mg Al/kg.

B. Discussion

L'effet du lactate d'aluminium sur la croissance est dose dépendante. Ce résultat est en accord avec les travaux de Bernuzzi et coll. (1989) qui ont réalisé le même type d'expérience. A dose égale en Al (100mg/kg), le chlorure a un effet plus important que le lactate sur la croissance.

La réduction de croissance des animaux traités pourrait avoir au moins deux causes, communes pour les deux sels :

- une réduction de la prise de nourriture, mais la consommation de lait est difficile à évaluer ;
- un ralentissement de la mobilité du tractus gastro intestinal. En effet, selon Hava et Hurwitz (1973), l'aluminium inhibe la mobilité du tractus gastro intestinal, et retarde la vidange gastrique chez le Rat (Hurwitz et coll. 1976) car il interfère avec les flux de calcium qui accompagnent le péristaltisme induit par l'acétylcholine.

D'autre part l'analyse du contenu stomacal des différents groupes d'animaux a révélé la présence de protéines coagulées, chez les rats traités au lactate uniquement. Alors que le poids de l'estomac des animaux du groupe 1 est de l'ordre de 1g, celui des animaux du groupe 3 est de l'ordre de 1,5g et celui des animaux du groupe 4 est de plus de 3g, à l'âge de 15 jours. Le poids réel des animaux des groupes 3 et 4 est donc inférieur au poids mesuré puisque ces aliments n'ont pas été absorbés. Le jeune rat, contrairement au nourrisson, sécrète peu d'acide

et de pepsine jusqu'au sevrage, et le pH est d'environ 3 à l'âge de 10 jours (Dial et Lichtenberger, 1989) ; une certaine proportion de lactate reforme de l'acide lactique qui provoque la coagulation d'une partie des protéines du lait. L'accumulation de ces protéines dans l'estomac est accentuée par le fait que la mobilité de celui-ci est inhibée par l'aluminium.

Chez les rats traités au lactate la réduction de croissance semble liée à un problème de malnutrition mais il n'est pas exclu que l'aluminium ait un rôle direct, Ondreicka et coll. (1966) ayant déjà observé que le chlorure d'aluminium provoque un retard de croissance chez la jeune souris.

La dosage de quelques variables plasmatiques a eu pour but de rechercher une explication à ces effets du chlorure et du lactate d'aluminium sur la croissance.

2.2.2. Dosage de quelques variables plasmatiques

A. Résultats

Les résultats relatifs au dosage des 4 variables : protéines totales, urée, acide urique et créatinine figurent dans le tableau 18.

Tableau 18 : Dosage de quelques variables plasmatiques chez le rat âgé de 15 jours.

variable	groupe 1 (n = 10)	groupe 2 (n = 10)	groupe 3 (n = 10)	groupe 4 (n = 10)
protéines totales (g/l)	43,12 ± 0,96	40,01 ± 1,20*	41,86 ± 0,99*	35,50 ± 1,44**
urée (mmoles/l)	6,45 ± 1,40	6,80 ± 1,70	7,27 ± 1,40	7,17 ± 1,36
acide urique (μmoles/l)	181,4 ± 24,7	208,5 ± 28,30	222,9 ± 41,3*	354,7 ± 60,4**
créatinine (μmoles/l)	35,0 ± 1,4	35,1 ± 1,4	35,2 ± 1,9	36,3 ± 2,3

Différence significative par rapport aux témoins (groupe 1) au test de Fisher :

* $p < 0,01$; ** $p < 0,001$.

Comparés au groupe 1, les taux de protéines plasmatiques des groupes 2,3 et 4 sont inférieurs respectivement de 7,2 % ; 2,9 % et 17,7 % un jour après la fin du traitement. Pour le lactate, entre les groupes 3 et 4, la différence est de 15,2 %. Le test ANOVA à un facteur avec mesures appariées appliqué à ce résultat aboutit à la valeur suivante : $F(3,27) = 88,088$; $p < 0,0001$). Le traitement a donc un effet très significatif. Les résultats des comparaisons multiples entre les 4 groupes à l'aide du test PLSD de Fisher figurent dans le tableau 19.

Tableau 19 : Résultats du test PLSD de Fisher appliqué au taux de protéines plasmatiques.

	groupe 2	groupe 3	groupe 4
groupe 1	$p < 0,01$	$p < 0,05$	$p < 0,001$
groupe 2	•	$p < 0,01$	$p < 0,01$
groupe 3	$p < 0,01$	•	$p < 0,01$

Ainsi l'intoxication au chlorure et au lactate d'Al abaisse significativement le taux de protéines totales plasmatiques, en particulier à la dose de 200 mg Al/kg en lactate.

Les taux d'urée et de créatinine ne sont pas modifiés par l'intoxication aluminique.

Par contre, comparés au groupe 1, les taux d'acide urique des groupes 2, 3 et 4 sont supérieurs respectivement de 14,9 % ; 22,8 % et 95,5 %. Entre les groupes 3 et 4, le taux augmente de 59,1 %.

Le test ANOVA à un facteur avec mesures appariées appliqué au résultat du dosage de l'acide urique aboutit à la valeur suivante : $F(3,27) = 71,332$; $p < 0,0001$. L'hétérogénéité entre les 4 groupes permet d'effectuer des comparaisons multiples à l'aide du test PLSD de Fisher (tableau 20).

Tableau 20 : Résultats du test PLSD de Fisher appliqué aux taux d'acide urique plasmatique à l'âge de 15 jours.

	groupe 2	groupe 3	groupe 4
groupe 1	$p < 0,05$	$p < 0,01$	$p < 0,001$
groupe 2	•	NS	$p < 0,01$
groupe 3	NS	•	$p < 0,01$

En conclusion, l'intoxication au chlorure et au lactate d'aluminium à la dose de 100 mg/kg, ainsi que l'intoxication au lactate à la dose de 200 mg/kg s'accompagnent d'une élévation significative du taux d'acide urique dans le plasma. Contrairement à ce qui se produit pour les protéines, il n'y a pas de différence entre les groupes traités au chlorure et ceux traités au lactate à la dose de 100 mg/kg en Al.

B. Commentaires

La baisse du taux de protéines plasmatiques chez les rats traités est sans doute la principale raison du ralentissement de leur croissance. A la dose de 100 mg/kg, cette baisse est plus importante au chlorure (7,2 %) qu'au lactate (2,9 %) ; ceci est en accord avec le fait que le premier sel a un effet plus prononcé que le second sur la croissance. De plus, avec le chlorure, on n'observe pas de protéines coagulées dans l'estomac.

A l'exception des anticorps, la grande majorité des protéines plasmatiques est synthétisée dans le foie à partir des acides aminés alimentaires. Chez les animaux intoxiqués, la chute du taux des protéines plasmatiques est liée essentiellement à la malnutrition. Non seulement, avec le lactate une partie des protéines demeure dans l'estomac, mais l'activité de certaines enzymes digestives (amylase, trypsine) est réduite par l'aluminium chez le rat à pH 2 (Previero et Previero, 1989). Comme le chlorure d'aluminium entraîne une baisse de pH plus importante que le lactate, son effet inhibiteur sur les enzymes digestives est plus important. D'autre part, lorsque de jeunes rats sont mal nourris durant la période de lactation, il s'en suit : une diminution du poids de l'intestin et du pancréas qui s'accompagne d'une réduction de la sécrétion d'enzymes par ces deux organes : lypase pancréatique, trypsine, amylase, chymotrypsine et carboxypeptidase ; quant aux enzymes

sécrétées, elles ont une activité spécifique diminuée (HATCH et coll. 1979, cités par Lebenthal 1989).

La diminution du taux de protéines plasmatiques pourrait aussi s'expliquer par une stimulation du catabolisme protéique, en relation avec l'augmentation de la concentration en aluminium dans le foie (Berlyne et coll. 1972) [voir § 2.1]. Toutefois l'urémie n'augmente pas, donc le cycle de l'urée n'est pas affecté.

Bien que très variable suivant les animaux, le taux d'acide urique augmente lorsque les rats sont traités au lactate et l'élévation est très importante à la dose de 200 mg/kg. L'hyperuricémie pourrait être due soit à une réduction de l'excrétion rénale soit à une accélération de la production d'acide urique.

Le principal organe responsable de l'élimination de l'acide urique est le rein, et l'élimination est le résultat à la fois de la filtration glomérulaire, de la réabsorption tubulaire proximale et de la sécrétion tubulaire distale. Comme la clearance de l'acide urique est très voisine de celle de la créatinine, le taux de créatinine plasmatique a été dosé. Les résultats montrent que la créatinine n'augmente pas donc la filtration glomérulaire n'est pas modifiée par l'intoxication. Henry et coll. (1984), en pratiquant des injections d'aluminium par voie parentérale à des chiens avaient provoqué une augmentation de la créatinémie, mais la teneur en aluminium plasmatique était plus élevée (supérieure à 1000 µg/l). L'élévation du taux d'acide urique a donc une autre cause.

On sait que chez l'Homme, l'amaigrissement, surtout lorsqu'il est provoqué rapidement, peut entraîner une hyperuricémie élevée ; la raison est qu'il y a une augmentation de l'élimination tubulaire de l'acide bêta-hydroxybutyrique qui limite, par compétition, la sécrétion rénale d'acide urique. Enfin l'acide lactique lui-même, comme l'acide bêta-hydroxybutyrique, entre en compétition avec l'élimination de l'acide urique au niveau tubulaire distal. Le lactate pourrait donc être également responsable de l'hyperuricémie. Cette hypothèse est renforcée par le fait qu'à la dose de 100 mg/kg en Al le lactate a un effet plus important que le chlorure.

Les sources de l'acide urique sont au nombre de trois : purinosynthèse *de novo* des nucléotides puriniques, catabolisme des acides nucléiques cellulaires, catabolisme des nucléoprotéines alimentaires. La purinosynthèse *de novo* passe par la fabrication de la synthèse d'acide inosidique en excès. Plus la quantité d'acide inosidique fabriquée est importante, plus l'uricémie est élevée. L'acide inosidique est synthétisé à partir de la phosphoribosylamine (PRA) qui provient elle-même de phosphoribosyl-pyrophosphate (PRPP) après transfert de l'amide de la glutamine ; cette première réaction est la réaction principale et sa vitesse dépend de plusieurs facteurs : disponibilité en glutamine et en PRPP, activité de l'amino-transférase et intégrité de ses mécanismes régulateurs, taux de nucléotides circulants. L'intoxication au lactate seul ou au lactate d'Al pourrait intervenir sur l'un ou l'autre de ces facteurs.

L'hyperuricémie est également fréquente au cours de certaines hémopathies ; elle est liée à un catabolisme exagéré des acides nucléiques globulaires, et l'on sait que l'intoxication aluminique des dialysés entraîne une anémie microcytaire (Wills et Savory 1983). Il conviendrait, pour vérifier cette hypothèse, de réaliser des hématocrites. Néanmoins l'élévation du taux d'aluminium sérique n'est sans doute pas suffisante pour entraîner une anémie.

Enfin il est peu probable que l'acide urique provienne du catabolisme des nucléoprotéines alimentaires car les animaux sont en état de sous-nutrition, en particulier en ce qui concerne le groupe 4. Hatch et coll. (1979), cité par Lebenthal (1989), ainsi que Rossi et coll. (1986), ont montré néanmoins que dans ce cas, chez le Rat, l'activité de certaines enzymes (lactase, sucrase, entérokinase) augmente.

2.2.3. Etude des protéines plasmatiques

A Résultats

Dans chaque groupe, 6 échantillons sur 10 de plasma ont été retenus pour réaliser une séparation des protéines par électrophorèse. La figure 8 montre, à titre indicatif, 4 profils électrophorétiques. Les taux des principales protéines figurent dans le tableau 21. Les valeurs représentent des moyennes $\pm$ SD.

Tableau 21 : Taux des principales protéines plasmatiques à l'âge de 15 jours (en g/l)

Protéines	groupe 1 (n = 6)	groupe 2 (n = 6)	groupe 3 (n = 6)	groupe 4 (n = 6)
Albumine	25,40 ± 2,40	20,88 ± 0,90*	23,45 ± 0,27	17,90 ± 2,54 **
$\alpha 1$ globulines	2,66 ± 0,32	3,64 ± 0,28*	3,26 ± 0,60*	3,47 ± 0,61 *
$\alpha 2$ globulines	3,03 ± 0,55	2,79 ± 0,41	2,83 ± 0,48	3,01 ± 0,47
β globulines + fibrinogène	10,08 ± 0,86	8,12 ± 0,89*	9,55 ± 0,86	7,52 ± 0,78**
γ globulines	0	0	0	0

Différence significative par rapport au groupe 1 (test de Fisher) :

* $p < 0,01$; ** $p < 0,001$.

L'albuminémie des groupes 2,3 et 4 est respectivement inférieure de 17,8 % ; 7,6 % et 29,5 % à celle du groupe 1. Entre les groupes 3 et 4, l'écart est de 23,7 %.

Le test ANOVA appliqué à ces résultats aboutit à la valeur suivante : $F(3,15) = 15,422$; $p < 0,0001$. Le traitement a donc un effet très significatif sur l'albuminémie ce qui permet de faire des comparaisons multiples à l'aide du test PLSD de Fisher (tableau 22).

Tableau 22 : Résultats du test PLSD de Fisher appliqué aux taux d'albumine à l'âge de 15 jours.

	groupe 2	groupe 3	groupe 4
groupe 1	$p < 0,01$	NS	$p < 0,001$
groupe 2	•	$p < 0,01$	$p < 0,01$
groupe 3	$p < 0,01$	•	$p < 0,01$

En conclusion le taux d'albumine plasmatique est abaissé significativement lorsque les rats sont intoxiqués au chlorure à la dose de 100 mg Al/kg et au lactate à la dose de 200 mg Al/kg. A la dose de 100 mg Al/kg, l'effet du chlorure est donc plus important que celui du lactate.

Les taux d' $\alpha 1$ globulines des groupes 2, 3 et 4 sont respectivement supérieurs de 36,8% ; 22,5% et 30,4% à celui du groupe 1. La différence entre les groupes 3 et 4 est de 6,4%.

Les résultats du test ANOVA : $F(3,15) = 5,474$; $p < 0,0096$ permet de faire des comparaisons multiples à l'aide du test PLSD de Fisher (tableau 23).

Tableau 23 : résultats du test PLSD de Fisher appliqué aux taux d' $\alpha 1$ globulines à l'âge de 15 jours.

	groupe 2	groupe 3	groupe 4
groupe 1	$p < 0,01$	$p < 0,01$	$p < 0,01$
groupe 2	•	NS	NS
groupe 3	NS	•	NS

Comparés aux témoins, les taux d' $\alpha 1$ globulines des groupes traités au chlorure à la dose de 100 mg Al/kg et de ceux traités au lactate respectivement aux doses de 100 et 200 mg Al/kg augmentent de manière significative. Par contre entre les groupes traités les valeurs ne diffèrent pas ; l'effet du lactate administré à la dose de 200 mg Al/kg n'est donc pas plus important que celui du chlorure à la dose de 100 mg Al/kg.

Le taux d' $\alpha 2$ globulines ne varie pas significativement entre les 4 groupes. Le taux de β globulines + fibrinogène diminue entre les groupes 1 et 2, 3 et 4 mais on ne peut savoir si la variation est due au β globulines, au fibrinogène ou aux deux à la fois. Il est donc nécessaire de refaire des expériences à partir de serum pour ne plus doser le fibrinogène, afin de confirmer et préciser ces résultats. Remarquons tout de même que là-encore, à la dose de 100 mg d'Al/kg, l'effet du chlorure est plus important que celui du lactate.

On ne décèle pas de γ globulines car il s'agit de jeunes animaux ; ils n'ont plus d'anticorps maternels et n'ont pas encore synthétisés leurs propres anticorps.

B. Commentaire

L'albuminémie diminue lors d'une inflammation sévère et en cas de dénutrition au long cours ou d'insuffisance hépatocellulaire. L'augmentation du taux d' α_1 globulines est aussi le signe d'une inflammation ou d'une perturbation du métabolisme hépatique.

La dénutrition intervient probablement dans la chute du taux d'albumine, mais comme on observe en même temps une augmentation des α_1 globulines, il apparaît sans doute un processus inflammatoire. Il ne s'agit là que d'une hypothèse de travail. Il conviendrait, pour commencer, de faire un dosage spécifique des trois α_1 globulines : l'oromucoïde, d' α_1 haptoglobuline et la céruléoplasmine. Les protéines plasmatiques sont synthétisées dans le foie. Si la concentration de certaines d'entre elles varie, c'est peut être à cause de l'augmentation de la teneur en aluminium dans cet organe (voir § 2.1.)

L'albumine intervient dans la régulation du volume sanguin, mais il n'a pas été observé d'œdèmes. La diminution est sans doute insuffisante. C'est aussi un transporteur non spécifique de nombreux composés du sang, comme les acides gras, l'acide urique... Le transport de ce dernier est sans doute affecté puisque son taux est supérieur à la normale.

La concentration en transferrine n'a pas été évaluée mais généralement sa diminution est typiquement corrélée à celle de l'albumine ; elle survient en particulier dans les cas d'insuffisance hépatocellulaire et de dénutrition. En considérant qu'il y a une diminution du taux de transferrine, cela ne signifie pas que le transport de l'aluminium soit affecté car le taux plasmatique de celui-ci est peu élevé, même dans le groupe 4 (voir § 2.1.).

3. CONCLUSIONS SUR LES EFFETS DE L'INTOXICATION au chlorure et au lactate d'aluminium du jeune rat au stade postnatal précoce.

1 L'intoxication au chlorure d'aluminium à la dose de 200 mg/kg en Al entraîne une mortalité de 100 % à partir du deuxième jour. A la même dose, avec le lactate, la mortalité est de 0 % au deuxième jour et de 24 % au dixième jour (Bernuzzi et coll. 1989).

2. Avec les deux sels le taux d'albumine diminue, celui d' α 1 globulines augmente, ainsi que celui de l'acide urique. Ces variations peuvent être dues à l'aluminium, mais aussi à la réduction de la prise alimentaire.

3. A la dose de 100 mg/kg en Al, l'activité de la CAT n'est pas modifiée par le lactate alors qu'elle est réduite de 11,6 % avec le chlorure ; dans le premier cas la concentration en Al des structures cérébrales ne varie pas mais avec le chlorure elle a tendance à augmenter.

4. Lorsque le lactate est administré à la dose de 200 mg Al/kg l'activité de la CAT diminue de 7,4 %. Non seulement cette diminution est plus faible que celle provoquée par le chlorure à la dose de 100 mg Al/kg, mais le traitement entraîne une réduction de croissance, conséquence probable d'une sous-nutrition qui pourrait être elle-même à l'origine de la réduction de l'activité de la CAT d'après les résultats de Patel et coll. (1978). Ces auteurs ont recherché l'effet d'une sous-nutrition sur l'activité de la CAT chez le Rat au niveau du bulbe olfactif, du cervelet, de l'hypothalamus, du colluculi, du cortex cérébral, de l'hippocampe et dans le reste du cerveau après avoir restreint des mères de 50 % en nourriture. L'activité de l'enzyme a été évaluée à l'âge de 10, 15 et 21 jours par la micro méthode de Fonnum (1975).

Les auteurs ont obtenu une forte réduction de la croissance des jeunes. Par exemple, à l'âge de 15 jours la réduction était

de 70 % et le poids du cerveau des animaux était en moyenne de 0,92 g contre 1,30 g pour les témoins. L'activité de la CAT était diminuée dans toutes les structures. Dans le cortex, elle était de 6,23 $\mu\text{moles/h/g}$ de protéines chez les témoins et de 4,94 $\mu\text{moles/h/g}$ de protéines chez les jeunes de 15 jours dont la mère a été restreinte en nourriture.

Clos et coll. (1989) ont montré également que des rats restreints par le biais de la mère qui a reçu 50% de nourriture par rapport aux témoins du 6ème au 28ème jour de gestation présentent une réduction de l'activité de la CAT dans le cervelet, qui persiste encore à l'âge de 5 mois.

Le facteur de croissance (NGF) pourrait avoir un rôle important dans l'effet de la sous-nutrition sur l'activité de la CAT. En effet des injections intraventriculaires et intracorticales de NGF faites à des rats en période néonatale durant la première semaine qui suit la naissance entraînent une augmentation de l'activité de la CAT dans le cerveau basal antérieur, alors que l'injection d'anticorps anti-NGF réduit l'activité de l'enzyme (Gnahn et coll. 1983). La sous-nutrition pourrait s'accompagner d'une diminution de la synthèse du NGF.

Dans notre expérience il est donc difficile d'attribuer la diminution de l'activité de la CAT au seul effet du lactate d'aluminium compte-tenu des résultats décrits ci-dessus. Toutefois la réduction de croissance que nous observons est moins importante : 40,9 % à l'âge de 15 jours pour les animaux intoxiqués à la dose de 200 mg Al/kg, contre 70 % dans les expériences de Patel, et la sous nutrition intervient pendant la période postnatale du développement, alors que les neurones sont déjà en place (chez le Rat, la neurogénèse a lieu entre le 16ème jour et le 18ème jour de gestation ; Brady et coll. 1989). Quoiqu'il en soit il n'est pas possible d'affirmer que la diminution de l'activité de la CAT est due à l'aluminium dans le cas de l'intoxication au lactate.

Chapitre 3

Etudes de l'effet d'intoxications aluminiques par voie orale chez le Rat adulte

1. INTOXICATION PAR INTUBATION GASTRIQUE

Alors que de nombreux enfants ont été intoxiqués par l'aluminium suite à l'administration de composés aluminiques par voie orale, les cas d'intoxications aluminiques dus uniquement à la prise orale d'aluminium sont rares chez l'adulte. Il était donc intéressant de comparer les effets d'une intoxication chez le jeune et chez l'adulte en administrant deux sels (un sel minéral et un sel organique) à la même dose et dans les mêmes conditions.

Les expériences décrites ci-après concernent des intoxications de rats adultes par intubation, menées en parallèle avec celles de jeunes rats en période postnatale précoce décrites au chapitre précédent.

1.1. Matériel et méthodes

1.1.1 Animaux

Les expériences portent sur des mâles adultes de race Wistar, axéniques, Iffa Credo, l'Arbresle. Leur poids est compris entre 200 - 220g. Ils sont placés dans des cages individuelles en plastique situées dans une pièce dont l'air est conditionné et la température est de 22 - 23 °C. L'éclairage circadien est normal. Ils sont nourris *at libitum* avec des croquettes standard (Extra Labo, Provins) et de l'eau.

1.1.2. Protocole d'intoxication

Les animaux sont intoxiqués par intubation gastrique durant 10 jours, soit au chlorure d'Al à la dose de 100 mg Al/kg, soit au lactate

d'aluminium respectivement aux doses de 100 et 200 mg Al/kg préparés dans de l'eau distillée. Les témoins reçoivent de l'eau distillée.

Les solutions sont préparées extemporanément et leur pH est le même que celles utilisées pour le gavage des jeunes à savoir : pH 3 pour la solution de chlorure 100 mg d'Al/kg, pH 3,6 et 3,4 pour les solutions de lactate 100 et 200 mg d'Al/kg, respectivement.

Le volume administré est compris entre 1,5 et 2 ml. L'intubation a lieu entre 19 et 20 heures. La technique de gavage est la suivante : les animaux sont maintenus la bouche ouverte serrant une tige métallique horizontale pourvue d'un trou au travers duquel on introduit le cathéter relié à une seringue.



Technique de gavage d'un rat adulte.

Tous les lots comportent chacun 6 animaux, lesquels sont sacrifiés 24 heures après la fin de l'intoxication.

1.1.3. Mesures et analyses

Le poids et la masse de nourriture ingérée quotidiennement par chaque animal sont notés durant toute la durée du traitement.

Les rats sont sacrifiés par décapitation ; le sang est alors prélevé et les structures cérébrales sont disséquées, puis homogénéisées.

L'activité de la CAT est évaluée à partir de l'homogénat cérébral de chaque individu, selon la micro méthode de Fonnum (1975) décrite dans la première partie.

Après centrifugation du sang à 900 g, le plasma est récupéré et séparé en deux aliquots :

- la première fraction permet de doser les mêmes variables que celles qui ont été évaluées chez les jeunes : protéines totales, urée, acide uriques, créatinine, ceci à l'aide des techniques décrites dans le chapitre 2 (seconde partie).

- la seconde fraction sert à doser l'aluminium. Celui-ci est également dosé à partir du même homogénat servant à évaluer l'activité de la CAT, ainsi que dans le foie. L'homogénéisation du foie se fait dans les mêmes conditions que celle des structures cérébrales ; la dilution est telle que le rapport P/V est de 5 %. Le dosage de Al est réalisé par spectrométrie d'émission à plasma d'argon; cette technique a été décrite dans la première partie.

1.2. Résultats et discussion

Intoxication au lactate d'aluminium

Les rats témoins constituent le groupe 1 et ceux traités respectivement à la dose de 100 et 200 mg Al/kg sont les groupes 2 et 3.

1.2.1. Teneurs en aluminium du plasma et des homogénats hépatiques et cérébraux

A. Résultats

Les taux d'aluminium trouvés dans le plasma, le foie et les structures cérébrales qui ont servi à évaluer l'activité de la CAT sont inscrits dans le tableau 24. Les valeurs représentent des moyennes $\pm$ SD.

Tableau 24 : Concentrations en aluminium du plasma et des homogénats hépatiques et cérébraux.

	plasma (en $\mu\text{g/l}$)	homogénat de foie (en $\mu\text{g/g}$ de tissu frais)	homogénat cérébral (en $\mu\text{g/g}$ de tissu frais)
groupe 1 (n = 6)	21 ± 5	$2,88 \pm 0,70$	$3,10 \pm 0,41$
groupe 2 (n = 6)	27 ± 7	$3,63 \pm 0,39^*$	$3,05 \pm 0,58$
groupe 3 (n = 6)	29 ± 5	$3,85 \pm 0,53^{**}$	$2,90 \pm 0,94$

Différence significative par rapport aux témoins (test de Fisher) : * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$.

Les taux d'aluminium plasmatiques et cérébraux ne diffèrent pas entre les rats traités et les témoins. Par contre, les taux hépatiques des groupes 2 et 3 sont supérieurs respectivement de 26 et 33,7% par rapport à celui du groupe 1. Entre les groupes 2 et 3, l'élévation est de 6% (NS). Les test ANOVA à un facteur indique que ces taux diffèrent significativement $F(2,15) = 4,889$; $p = 0,0232$, et l'application du test PLSD de Fisher aboutit au résultat suivant (tableau 25).

Tableau 25 : Résultats du test PLSD de Fisher appliqué aux taux d'aluminium hépatique.

	groupe 2	groupe 3
groupe 1	$p < 0,05$	$p < 0,01$
groupe 2	•	NS

En conclusion, seul le taux d'aluminium hépatique augmente de manière significative chez les rats traités au lactate d'Al.

B. Commentaire

Les effets d'une intoxication au lactate d'Al peuvent être résumés de la façon suivante :

- il n'y a pas d'augmentation d'Al dans le sang ni dans les structures cérébrales étudiées chez les animaux traités ;
- on observe une augmentation significative de la teneur en Al dans le foie des animaux traités.

Les faibles concentrations en Al plasmatique des groupes 2 et 3 ne signifient pas que l'aluminium n'a pas été absorbé. Le taux d'aluminium présent dans le sang à un moment donné représente la différence en Al absorbé d'une part, et les quantités d'Al éliminés par les reins et prélevés par les tissus d'autre part. Comme on observe une légère augmentation dans le foie, il apparaît qu'une fraction de l'aluminium ingérée a été absorbée. En effet cet organe concentre l'aluminium ; il s'agit donc d'un bon indicateur du taux d'absorption.

Si la teneur en aluminium n'augmente pas dans le cerveau, c'est à cause de la BHE qui empêche sa pénétration. L'aluminium parvient à s'accumuler dans le cerveau lorsque son taux est élevé dans le plasma et surtout lorsque l'intoxication est suffisamment longue, ce qui n'est pas le cas dans cette expérience.

1 2.2. Activité spécifique de la CAT

A. Résultats

Les résultats des mesures concernant l'activité spécifique de la CAT figurent dans le tableau 26 :

Tableau 26 : Effet du lactate d'aluminium sur l'activité spécifique de la CAT chez le rat adulte (en nmoles/h/mg de protéines)

groupe 1 (n = 6)	27,4 ± 0,7
groupe 2 (n = 6)	27,9 ± 0,8
groupe 3 (n = 6)	27,1 ± 0,6

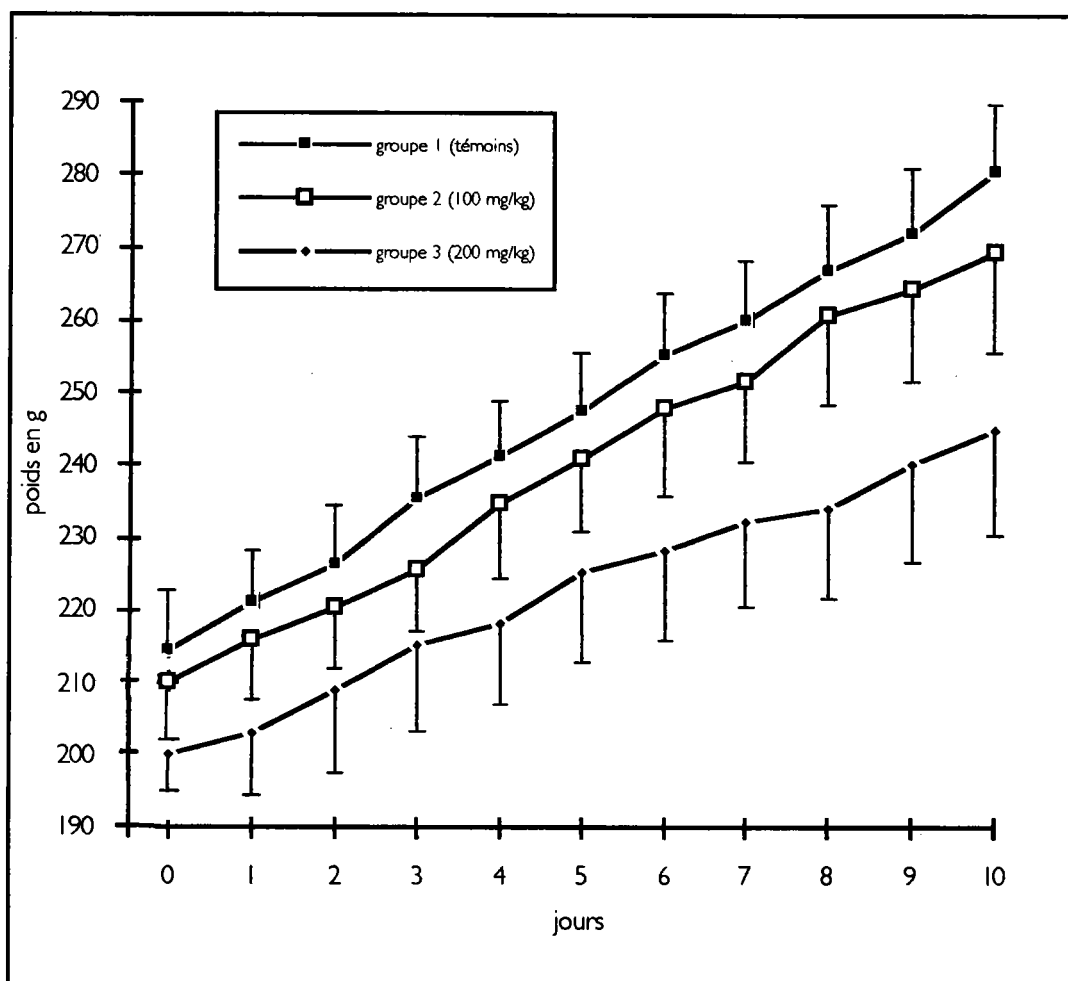


Fig 9 : Evolution pondérale des rats adultes traités au lactate d'aluminium par intubation gastrique.

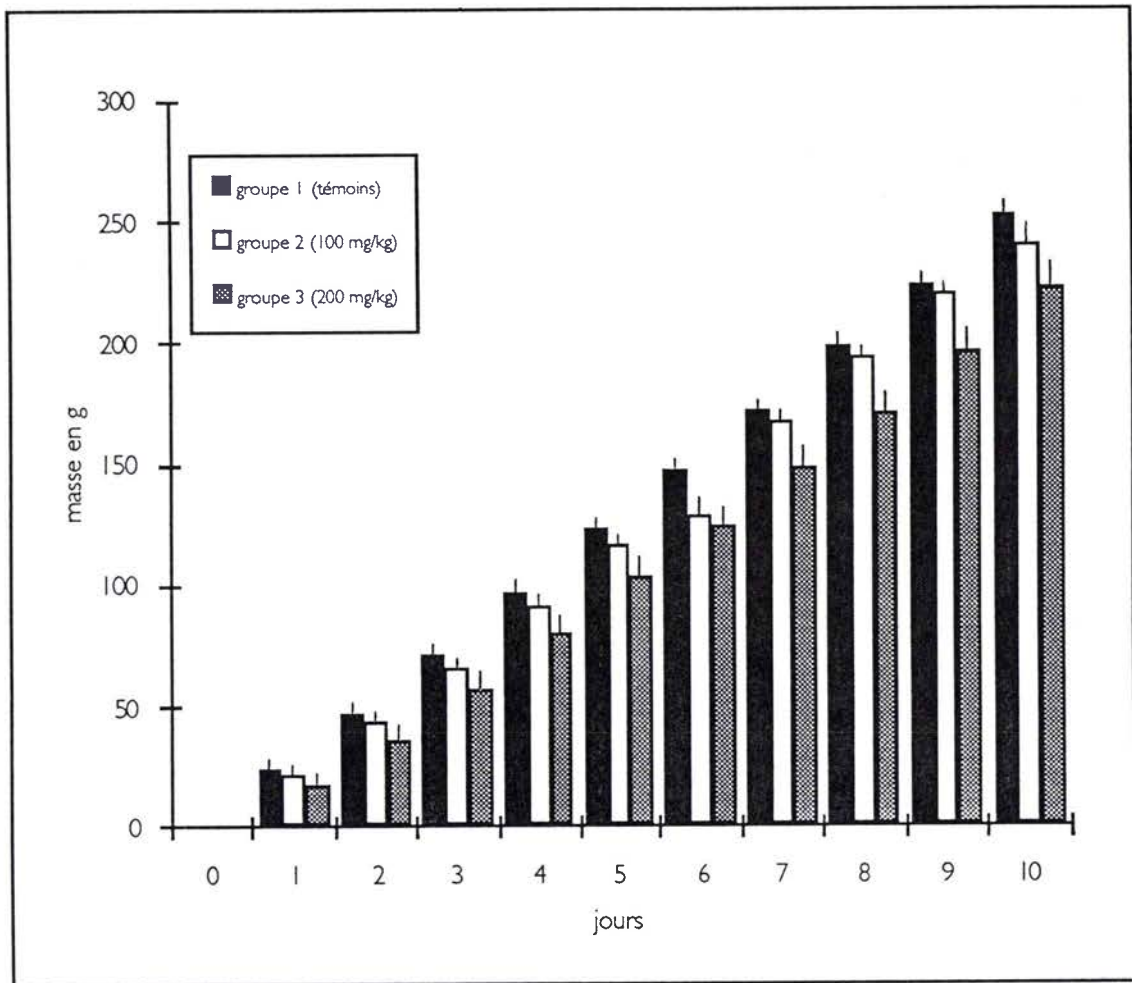


Fig. 10 : Masse de nourriture ingérée par les rats adultes traités au lactate d'aluminium par intubation gastrique

L'activité de la CAT n'est pas modifiée par l'intoxication, que ce soit à la dose de 100 ou de 200 mg Al/kg.

B. Commentaire

L'activité de la CAT ne varie pas tout simplement parce que l'aluminium ne pénètre pas - ou pénètre en quantité très faible - dans les structures cérébrales considérées.

1.1.3. Evolution pondérale et masse de nourriture ingérée

A. Résultat des mesures

Les résultats concernant l'évolution pondérale et la masse de nourriture ingérée en données cumulées sont représentés respectivement dans les figures 9 et 10.

Le test ANOVA à un facteur appliqué à l'évolution du gain pondéral révèle que l'intoxication a un effet significatif à partir du 4^{ème} jour de traitement ($F(2,15) = 84,404$; $p < 0,0001$). Les comparaisons multiples réalisées à l'aide du test PLSD de Fisher indiquent que la différence de gain pondéral est significative entre les groupes 1 et 3 ($p < 0,01$) ainsi qu'entre les groupes 2 et 3 ($p < 0,01$) à partir de ce stade.

L'évolution pondérale des groupes 1 et 2 ne diffère pas durant les 10 jours de l'intoxication.

Le test ANOVA à un facteur appliqué à la masse de nourriture ingérée exprimée en valeurs cumulées indique que l'intoxication a un effet sur la prise de nourriture à partir du jour 3 ($F(2,15) = 9,688$; $p < 0,002$). Les comparaisons multiples réalisées à l'aide du test PLSD de Fisher indiquent que la différence est significative entre les groupes 1 et 3 ($p < 0,01$) ainsi qu'entre les groupes 2 et 3 ($p < 0,05$) à partir de ce stade. Il n'y a pas de différence entre les groupes 1 et 2 durant les 10 jours de traitement.

B. Commentaire

L'évolution pondérale des groupes 1,2 et 3 s'explique par la quantité de nourriture ingérée respectivement par chacun de ces trois lots. En effet dans les trois cas le gain pondéral et la consommation de nourriture évoluent de manière parallèle. Par exemple il n'y a pas de différence significative entre les groupes 1 et 2 en ce qui concerne l'évolution pondérale et la consommation de nourriture.

En conclusion l'intoxication orale au lactate d'aluminium à 200 mg/kg a un effet sur la prise alimentaire et, par voie de conséquence, sur l'évolution pondérale. Ces résultats sont à rapprocher de ceux de Slanina et coll. (1984) qui ont traités des rats mâles adultes soit avec de l'hydroxyde d'Al, soit avec du citrate d'Al, administrés par intubation gastrique à la dose de 100 mg/kg durant 9 semaines. Au cours des quatre premières semaines, les animaux testés ont suivi l'évolution pondérale des témoins ; ensuite une réduction de poids de 10% non statistiquement significative a été constatée. Les auteurs ne font pas mention de la masse de nourriture ingérée. Ils ont utilisés des sels minéraux. Le lactate étant un sel organique, il peut, au delà d'une certaine dose, influencer la prise alimentaire.

Il n'a pas été observé de protéines coagulées dans l'estomac comme lors de l'intoxication des jeunes rats. La différence s'explique peut-être par la nature des aliments présents dans l'estomac, ou encore par le pH, qui est plus élevé.

1.1.4. Dosage de quelques variables plasmatiques

A. Résultats

Les résultats relatifs au dosage des 4 variables plasmatiques sont inscrits dans le tableau 27.

Tableau 27 : Dosage de quelques variables plasmatiques chez les rats adultes intoxiqués au lactate d'aluminium par intubation gastrique.

variable	groupe 1 (n = 6)	groupe 2 (n = 6)	groupe 3 (n = 6)
protéines totales (g/l)	64 ± 1,6	58,5 ± 2,2*	56,2 ± 1,67**
urée (mmoles/l)	8,9 ± 0,8	8,3 ± 0,7	8,5 ± 0,9
acide urique (μmoles/l)	255 ± 45	199 ± 35	200 ± 34
créatinine (μmoles/l)	74 ± 6	70 ± 6	69 ± 7

n = nombre d'animaux

Différence significative par rapport au groupe 1 (test de Fisher) :

* p < 0,01 ; ** p < 0,001.

Les taux de protéines plasmatiques des groupes 2 et 3 sont inférieurs respectivement de 8,6 et 12,2 % à celui du groupe 1.

L'application du test ANOVA montre que ces variations sont significatives : F (2,15) = 27,845 ; p < 0,0001. Le tableau 28 donne les résultats des comparaisons multiples à l'aide du test PLSD de Fisher. Ce test montre que l'effet du traitement sur le taux des protéines plasmatiques totales est significatif et dose-dépendant.

Tableau 28 : Résultats du test PLSD de Fisher appliqué à la teneur en protéines.

	groupe 2	groupe 3
groupe 1	p < 0,05	p < 0,01
groupe 2	.	p < 0,05

Les taux d'urée, d'acide urique et de créatinine ne varient pas.

B. Commentaire

Le taux de protéines totales plasmatiques du groupe 2 est inférieur à celui du groupe 1 bien que les 2 groupes ont une évolution pondérale parallèle et une prise de nourriture équivalente.

L'aluminium semble donc perturber la régulation de la synthèse des protéines plasmatiques, même lorsqu'il est à une faible concentration

dans le foie. Il conviendrait, pour compléter cette étude, de séparer les protéines plasmatiques par électrophorèse comme cela a été fait pour les jeunes rats intoxiqués dans les mêmes conditions.

La chute du taux de protéines paraît être due à une diminution de la synthèse plutôt qu'à une augmentation du catabolisme, puisque le taux d'urée ne varie pas. Le fait que le taux de créatinine reste constant prouve que les mécanismes d'élimination rénale ne sont pas affectés. Enfin, contrairement à ce qui apparaît chez le jeune, l'intoxication au lactate ne modifie pas l'uricémie.

Intoxication au chlorure d'aluminium

1.2.1. Teneurs en aluminium du plasma et des homogénats hépatiques et cérébraux

A. Résultats

Les résultats figurent dans le tableau 29 ; les chiffres représentent des moyennes $\pm$ SD.

Tableau 29 : Concentrations en aluminium du plasma et des homogénats hépatiques et cérébraux des rats adultes traités au chlorure d'Al.

	plasma (en $\mu\text{g/l}$)	homogénat de foie (en $\mu\text{g/g}$ de tissu frais)	homogénat cérébral (en $\mu\text{g/g}$ de tissu frais)
témoins (n = 6)	18 ± 4	$2,86 \pm 0,45$	$3,02 \pm 0,42$
traités (n = 6)	24 ± 8	$3,72 \pm 0,43^*$	$2,91 \pm 0,37$

Différence significative par rapport au témoin (test de Student) : * $p < 0,001$.

Dans le plasma et dans les structures cérébrales des animaux traités, le taux d'aluminium ne diffère pas de celui des témoins. Par contre dans le foie il augmente de 30%. L'application du test de Student montre que cette augmentation est très significative ($p < 0,001$).

B. Commentaire

On peut faire les mêmes observations que pour l'intoxication au lactate à savoir que bien que les taux aluminiques du plasma et du cerveau n'augmentent pas, l'élévation dans le foie prouve qu'une partie de l'aluminium a été absorbée. Cette élévation ne diffère pas de celle que l'on observe pour le lactate aux doses de 100 et 200 mg/kg.

1.2.2. Activité de la CAT

A. Résultats

Les résultats concernant l'activité spécifique de la CAT sont inscrits dans le tableau 30.

Tableau 30 : Effet de l'intoxication au chlorure d'aluminium par gavage sur l'activité de la CAT chez le rat adulte (en nmoles/h/mg de protéines).

témoins (n = 6)	27,8 ± 0,85
traités (n = 6)	28,2 ± 0,58

L'activité de la CAT n'est pas modifiée par l'intoxication.

B. Commentaire

L'activité de la CAT n'est pas modifiée parce que, comme pour l'intoxication au lactate, l'aluminium ne pénètre pas - ou très peu - dans les structures cérébrales étudiées.

1.2.3. Evolution pondérale et masse de nourriture ingérée

A. Résultat des mesures

Les résultats concernant l'évolution pondérale et la quantité de nourriture ingérée, exprimés en données cumulées, sont représentés respectivement par les figures 11 et 12.

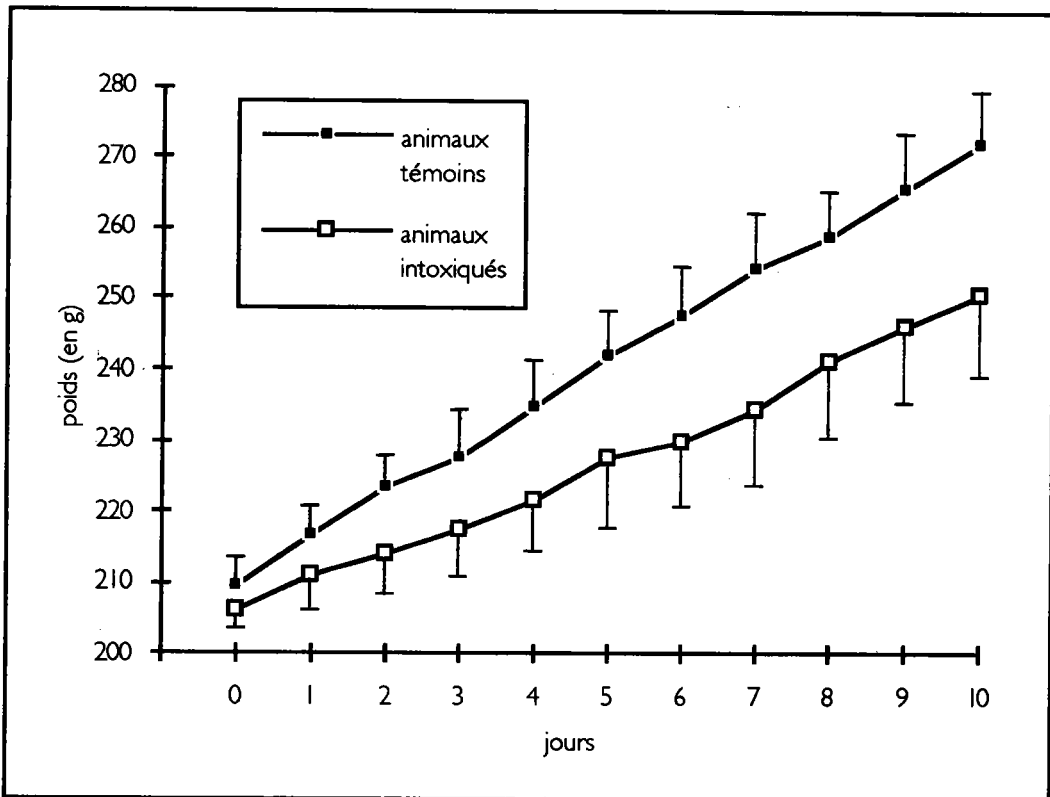


Fig 11 : Evolution pondérale des rats adultes traités au chlorure d'aluminium par intubation gastrique

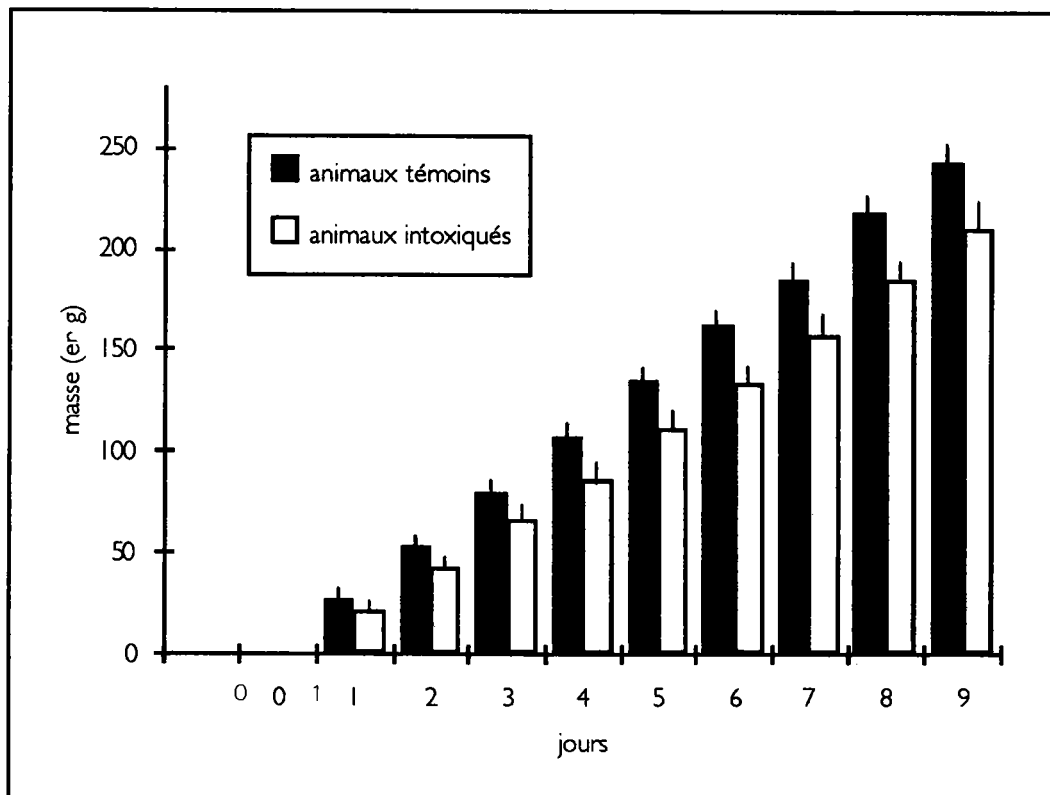


Fig 12 : Masse de nourriture ingérée, en données cumulées, par les rats adultes traités au chlorure d'aluminium par intubation gastrique.

A partir du 6ème jour, le gain pondéral des animaux intoxiqués varie significativement par rapport à celui des témoins (test de Student ; $p < 0,01$) ; il est alors de 4,5 g/j contre 6,5 g/j.

Le traitement a un effet significatif sur la consommation de nourriture à partir du 5ème jour, lorsque celle-ci est exprimée en données cumulées (test de Student ; $p < 0,001$) ; la masse cumulée de nourriture ingérée par les animaux traités est alors inférieure de 18,5 % à celle des témoins.

B. Commentaire

La différence de consommation de nourriture entre les deux groupes devient significative un jour avant la différence de gain pondéral. Le gain pondéral et la consommation de nourriture évoluent de manière parallèle. Ainsi, si la croissance des animaux intoxiqués est moins importante que celle des témoins à partir du jour 6, ceci est dû en grande partie au fait qu'ils consomment moins de nourriture. Ces résultats sont à rapprocher de ceux de Ondreicka et coll. (1966) qui ont provoqué une réduction de la consommation de nourriture et un retard de croissance chez des rats après une intoxication orale au sulfate d'Al à la dose de 2,835 ppm/j pendant 8 jours.

A la même dose, le lactate d'Al n'a pas d'effet sur l'évolution pondérale et la consommation de nourriture durant toute la durée de l'intoxication. Comme chez le jeune, l'effet du chlorure est plus important que celui du lactate.

1.2.4. Dosage de quelques variables plasmatiques

A. Résultats

Les résultats de ces dosages figurent dans le tableau 31. Les valeurs représentent des moyennes $\pm$ SD.

Tableau 31 : Dosage de quelques variables plasmatiques chez les rats adultes intoxiqués au chlorure d'aluminium par intubation gastrique.

variables	témoins (n = 6)	traités (n = 6)
protéines totales (g/l)	65,4 ± 1,3	57,5 ± 2,6*
urée (mmoles/l)	9,3 ± 0,8	9 ± 0,8
acide urique (μmoles/l)	255,8 ± 41,5	258 ± 47
créatinine (μmoles/l)	78 ± 5	73 ± 11

Différence significative par rapport au témoin (test de Student) : * p < 0,001.

Le taux des protéines totales plasmatiques des animaux traités est inférieur de 12% à celui des témoins (test de Student : p < 0,001). Les autres variables étudiées (urée, créatinine, acide urique) ne sont pas affectées par l'intoxication.

B. Commentaire

Si le taux de protéines plasmatiques diminue chez les rats traités, c'est probablement parce qu'ils consomment moins de nourriture que les témoins. Ceci semble confirmé par le fait que, à la même dose (100 mg/kg), l'effet du chlorure est plus important que celui du lactate à la fois sur la baisse de consommation de nourriture et la chute du taux de protéines ; avec le chlorure, la protéinémie diminue de 12% contre 8,6% pour le lactate.

Mais la présence d'aluminium dans le foie pourrait aussi jouer un rôle dans l'abaissement du taux de protéines en interférant avec les mécanismes de synthèse (Berlyne et coll. 1972). Au niveau des neurones, d'après les expériences "*in vitro*" de Miller et Levine (1974), Al se fixe sur l'ADN.

C. Conclusion

1. Chez l'adulte l'intoxication entraîne une baisse de consommation de nourriture ; on peut émettre l'hypothèse qu'il en est de même chez le jeune mais ceci n'est pas vérifiable.

2. Que l'aluminium soit administré sous forme de chlorure ou de lactate, le taux des protéines totales plasmatiques diminue chez le jeune et chez l'adulte. Cette diminution, dose dépendante pour le lactate, est due en grande partie à la réduction de la prise alimentaire.

3. L'élévation du taux d'Al dans le foie, qui se produit également dans tous les cas pourrait être une autre cause du ralentissement de la croissance. Dans cette hypothèse l'aluminium, en se fixant sur l'ADN, interviendrait au niveau de la synthèse des protéines plasmatiques, mais ceci reste à vérifier.

4. Chez l'adulte l'aluminémie ne varie pas. Chez le jeune, elle augmente à la dose de 100 mg/kg en chlorure et à celle de 200 mg/kg en lactate. Dans les structures cérébrales, le taux d'aluminium augmente uniquement chez le jeune traité au lactate à la dose de 200 mg/kg. Le fait qu'à cette concentration la teneur en Al du plasma et du cerveau ne varie pas chez l'adulte alors qu'elle s'élève chez le jeune est bien une preuve que chez ce dernier les causes sont l'immaturité du tractus gastro intestinal et de la BHE.

Le problème de l'immaturité de la BHE a été discuté dans le chapitre 2 (seconde partie).

En ce qui concerne le tractus gastro intestinal, Stern et coll. (1990) affirment qu'il existe chez le Rat de grandes différences entre le jeune et l'adulte ; au cours du développement il se produit en particulier des modifications au niveau des glycoprotéines de la bordure en brosse qui impliquent des changements biophysiques, biochimiques et fonctionnels. Kawakami et coll. (1990) rapportent que les récepteurs de la transferrine de la membrane de la bordure en brosse sont en forte concentration chez le jeune rat en lactation ; ils lient la lactoférine, sur laquelle Al pourrait se fixer et gagner ainsi le sang. Si l'aluminémie ne s'élève pas autant chez l'adulte que chez le jeune, c'est peut être à cause

d'une différence de concentration en récepteurs de la lactoférine ou de la transferrine au niveau de la bordure en brosse.

5. En ce qui concerne l'activité de la CAT, la comparaison entre le jeune et l'adulte ne peut être faite qu'avec le chlorure puisque le lactate engendre une sous-nutrition chez le jeune qui peut être la cause de l'inhibition de l'enzyme.

Avec le chlorure, l'activité de la CAT est diminuée chez le jeune alors qu'elle ne varie pas chez l'adulte ; toutefois on ne peut affirmer que ce dernier est plus sensible, puisqu'il absorbe moins d'aluminium. Là encore la comparaison comporte des limites.

6. A dose équivalente, le chlorure s'avère plus toxique que le lactate chez l'adulte comme chez le jeune : ses effets sur la prise alimentaire, l'évolution pondérale, la teneur en protéines plasmatiques sont plus importants.

A la dose de 200 mg/kg en chlorure, la mortalité est de 100 % chez le jeune au bout de 2 jours de gavage, alors qu'elle est de 0% chez l'adulte.

La comparaison entre jeune en développement et adulte comporte de nombreuses limites, en plus de celles déjà citées: l'alimentation est différente et l'absorption de l'aluminium dépend en grande partie des constituants du bol alimentaire. Chez le jeune, le tube digestif évolue durant toute l'intoxication et l'absorption n'est sans doute pas la même au début et à la fin ; chez l'adulte il n'y a théoriquement pas d'évolution.

Chez le jeune certains organes comme le cerveau prélèvent l'aluminium à partir du sang plus rapidement que chez l'adulte, tendant ainsi à abaisser l'aluminémie.

Néanmoins, malgré toutes ces restrictions, il apparaît que le jeune est beaucoup plus sensible que l'adulte à l'intoxication. Ces résultats confortent l'idée selon laquelle la prescription de grandes quantités de composés aluminiques par voie orale à des nourrissons présente de grands risques d'intoxication. Milliner et coll. (1987) ont étudié la teneur en aluminium plasmatique de déficients rénaux âgés de 1,5 à 23 ans recevant des doses importantes de gels d'alumine et ont constaté que, malgré de grandes variations individuelles similaires à celles observées avec le fer, les jeunes enfants avaient toujours une aluminémie beaucoup plus élevée. Winney et coll. (1986) préconisent de fixer la dose maximale d' $\text{Al}(\text{OH})_3$ à administrer aux jeunes enfants à un niveau plus bas que celle admise pour les adultes.

2. INTOXICATION PAR LA NOURRITURE

Les taux d'aluminium sériques sont généralement plus élevés chez les insuffisants rénaux dialysés qui prennent des gels d'alumine que chez ceux qui n'en prennent pas (Boukari et coll. 1978). D'après Brahm (1986), chez les personnes dont la fonction rénale est déficiente mais stable, la quantité d'aluminium trouvée dans le serum varie même suivant la dose d'hydroxyde d'Al ingérée. Des patients recevant des sels d'aluminium par voie orale ont parfois développé des encéphalopathies plusieurs années après arrêt de la dialyse (Bakir et coll. 1986 ; Campistol et coll. 1989). Non seulement l'insuffisance rénale réduit l'élimination de l'aluminium, mais elle stimule directement son absorption par l'intestin (Alfrey et coll. 1980 ; Mahoney et coll. 1982 ; Sideman et coll. 1982 ; Ittell et coll. 1987).

Compte tenu de ces observations cliniques, il est intéressant de vérifier si, expérimentalement, la néphrectomie stimule l'absorption de l'aluminium contenu dans la nourriture chez le rat adulte et si l'intoxication entraîne ou non une modification de l'activité de la CAT cérébrale.

2.1. Matériel et méthode

2.1.1. Animaux

A. Origine et caractères

Les expériences sont menées sur des rats adultes de race Wistar, axéniques, Iffa Credo, l'Arbresle. Leur poids est compris entre 240 et 310g.

B. Chirurgie

Les animaux sont répartis en deux lots de poids inégal. Les rats du premier lot, dont le poids est compris entre 240 et 270g, ne sont pas opérés ; ce sont les rats "normaux". Chez les animaux du 2ème lot, dont le poids est compris entre 280 et 310 g, une insuffisance rénale chronique a été créée par néphrectomie unilatérale et ligature partielle du rein contralatéral. Comme la néphrectomie entraîne une perte de poids, les rats des deux lots auront finalement un poids quasiment identique le premier jour de l'intoxication.

Les animaux sont opérés selon la méthode décrite par Chanutin et Ferris (1932). Cette méthode a été décrite au § 1.1. du chapitre 1.

2.1.2. Protocole d'intoxication

Huit jours après la néphrectomie, du sang est prélevé par ponction oculaire au niveau des sinus caverneux en vue du dosage de la créatinine. Les rats normaux et les rats néphrectomisés sont à nouveau répartis en deux sous-groupes : l'un servira de témoin (groupe 1 pour les rats normaux, groupe 3 pour les rats néphrectomisés), l'autre sera intoxiqué (groupe 2 pour les rats normaux et groupe 4 pour les rats néphrectomisés).

Les groupes 1 et 2 d'une part, et les groupes 3 et 4 d'autre part ont des taux de créatinine très peu différents.

L'intoxication débute sept jours après le dosage de la créatinine. Les rats sont traités au chlorure d'aluminium, à la dose de 300 mg Al/kg/jour durant 14 jours, par l'intermédiaire de la nourriture. La méthode employée est la même que celle qui a été utilisée pour intoxiquer les femelles gestantes (chapitre 1, § 1.). Les animaux sont placés dans des cages grillagées comportant un bac de récupération de nourriture. Le chlorure d'aluminium, dissous dans de l'eau distillée est additionné à de la poudre de croquettes elle-même mélangée à de l'huile d'arachide à raison de 10 ml d'huile pour 30 g de poudre. La préparation se fait extemporanément et la nourriture est donnée chaque soir entre 18 h et 19 h, à l'intérieur de coupelles. Les rats sont pesés chaque jour et la quantité d'aluminium présente dans le nourriture est ajustée de façon que la dose administrée soit de 300 mg/kg. Le lendemain, la nourriture tombée dans le bac de récupération et celle qui éventuellement reste dans la coupelle sont pesées. La masse non ingérée est soustraite à celle donnée la veille. Si tout ce qui était dans la coupelle a été mangé, on ajoute 1 g supplémentaire. Au début de l'intoxication, la masse de nourriture donnée est de 16 g. L'intoxication est arrêtée au 14ème jour. Les animaux sont alors placés dans des cages à métabolisme et nourris à l'aide de croquettes durant 24 h ; l'urine est récupérée pour évaluer la quantité d'aluminium excrétée. Ils sont sacrifiés 24 h après la fin de l'intoxication pour les différentes mesures et analyses.

2.1.3. Mesures et analyses

A. Types de mesures et d'analyse

Le poids et la masse de nourriture ingérée sont donc contrôlés tous les jours. La créatinine sérique est dosée deux fois : une première fois 8 jours après l'opération et une seconde fois 24 heures après la fin de l'intoxication. Au 15ème jour, l'activité de la CAT est évaluée dans l'homogénat obtenu à partir du cerveau basal et du neostriatum ; l'aluminium est dosé dans ce même homogénat cérébral, ainsi que dans le plasma, le foie et l'urine.

B. Techniques employées

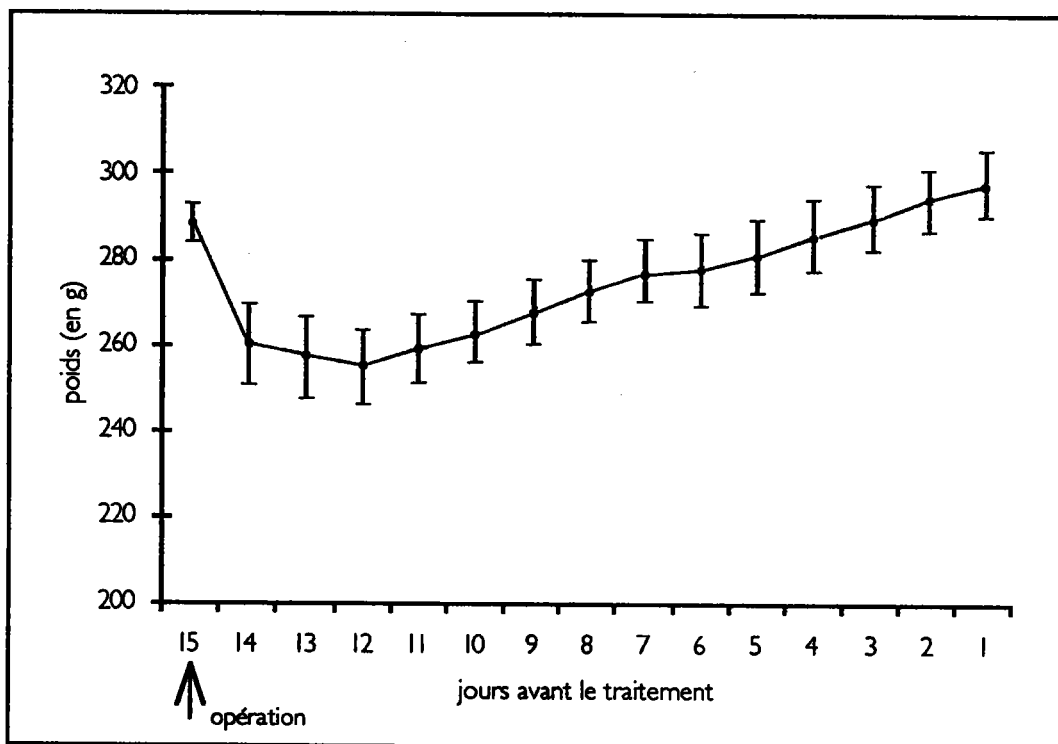


Fig 13a : Evolution pondérale des rats néphrectomisés entre le jour de l'opération et le premier jour de traitement

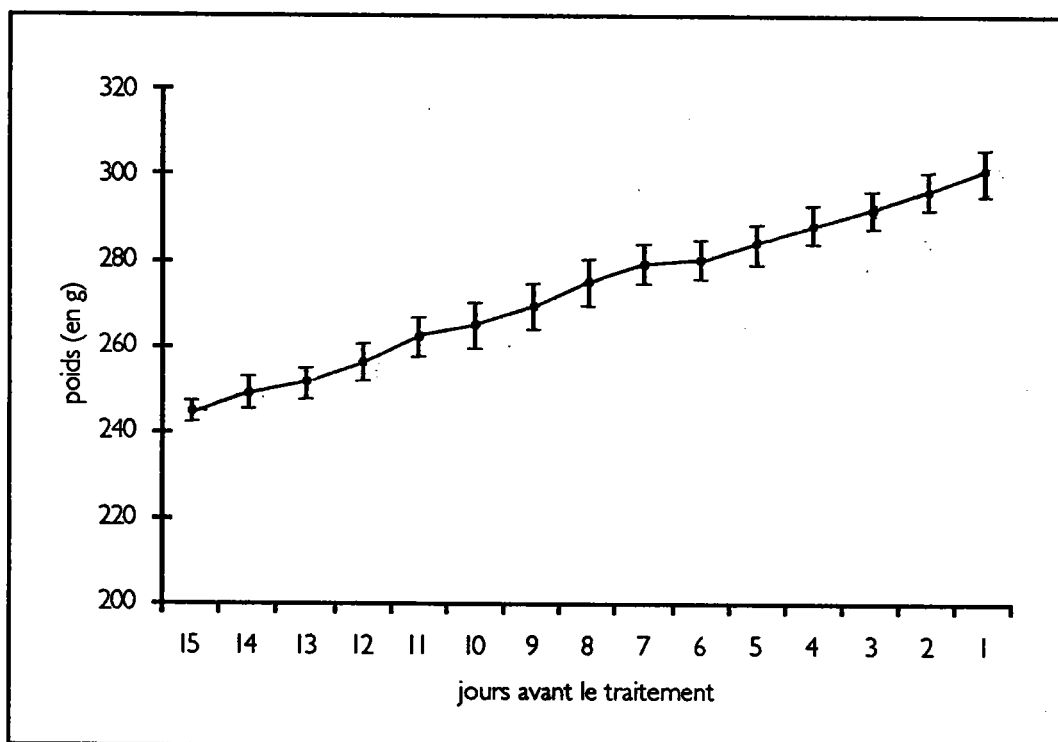


Fig 13b : Evolution pondérale des rats normaux durant les 15 jours qui précèdent le traitement

Toutes les techniques utilisées ont été décrites au chapitre 1 : la créatinine est dosée par la méthode de Jaffé avec déprotéinisation. L'aluminium est dosé par la technique du plasma induit et l'activité de la CAT est évaluée par la microméthode de Fonnum (1975).

2.2. Résultats et discussion

2.2.1. Evolution pondérale entre le jour de l'opération et le début de l'intoxication

La figure 13a représente l'évolution pondérale des rats urémiques entre le premier jour de l'opération et le jour 0 de l'intoxication, et la figure 13b celle des rats normaux pendant la même période.

Le premier jour qui suit l'opération, les 12 rats perdent en moyenne 28 g. Les deux jours suivants ils perdent encore 5 g. Au quatrième jour après l'opération la croissance reprend et suit un tracé pratiquement parallèle à celui des rats non opérés ; elle ralentit légèrement le jour de la prise de sang. Au bout de deux semaines, les poids moyens des quatre groupes d'animaux sont pratiquement identiques.

La réduction de poids constatée après la néphrectomie est due à la fois au choc opératoire et aux conséquences immédiate et transitoire de l'opération : anorexie, hypertension, hypercréatinémie durant quelques jours (Laouari et coll. 1982, cité par Kleinknecht et coll. 1988a). Après 48 h, le rein restant s'hypertrophie, l'excrétion rénale s'accroît et les rats consomment davantage de nourriture.

2.2.2. Evolution pondérale et masse de nourriture ingérée durant l'intoxication

A. Résultats des mesures

Pour une question de clarté, les évolutions pondérales des rats normaux (groupes 1 et 2) et urémiques (groupes 3 et 4) sont représentées sur deux figures différentes : les fig. 14a et 14b.

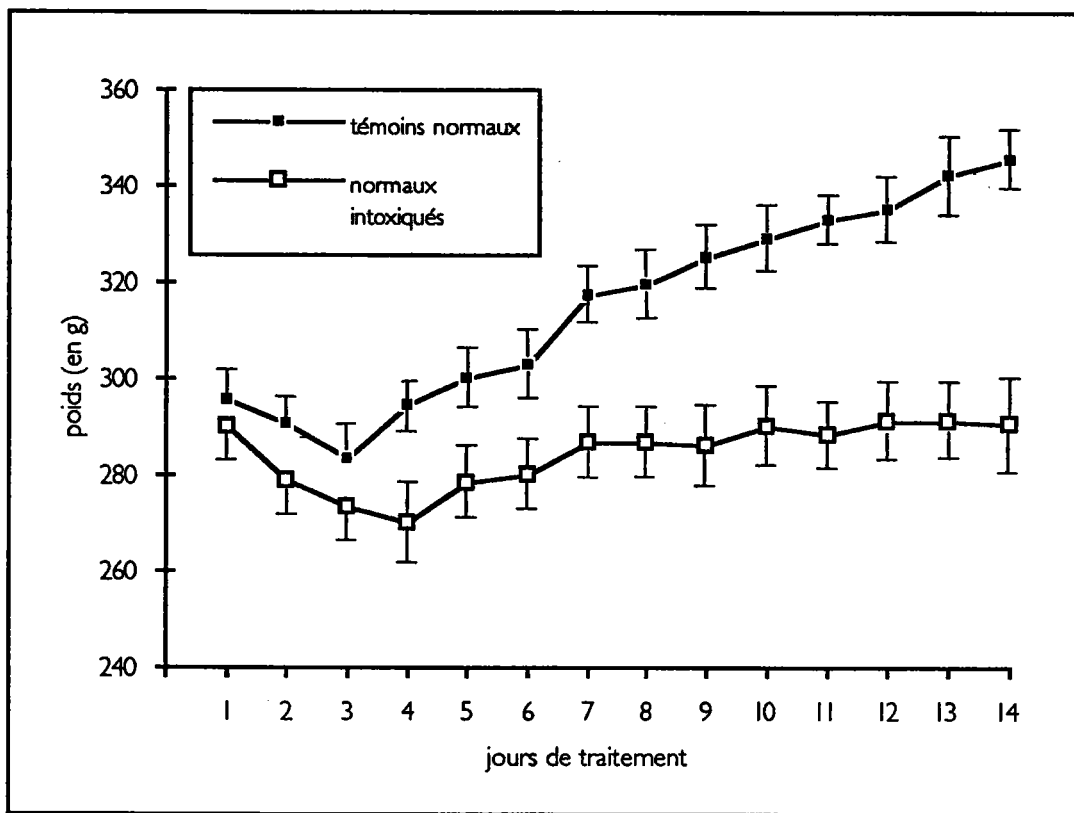


Fig 14a : Evolution pondérale des rats mâles adultes normaux pendant le traitement

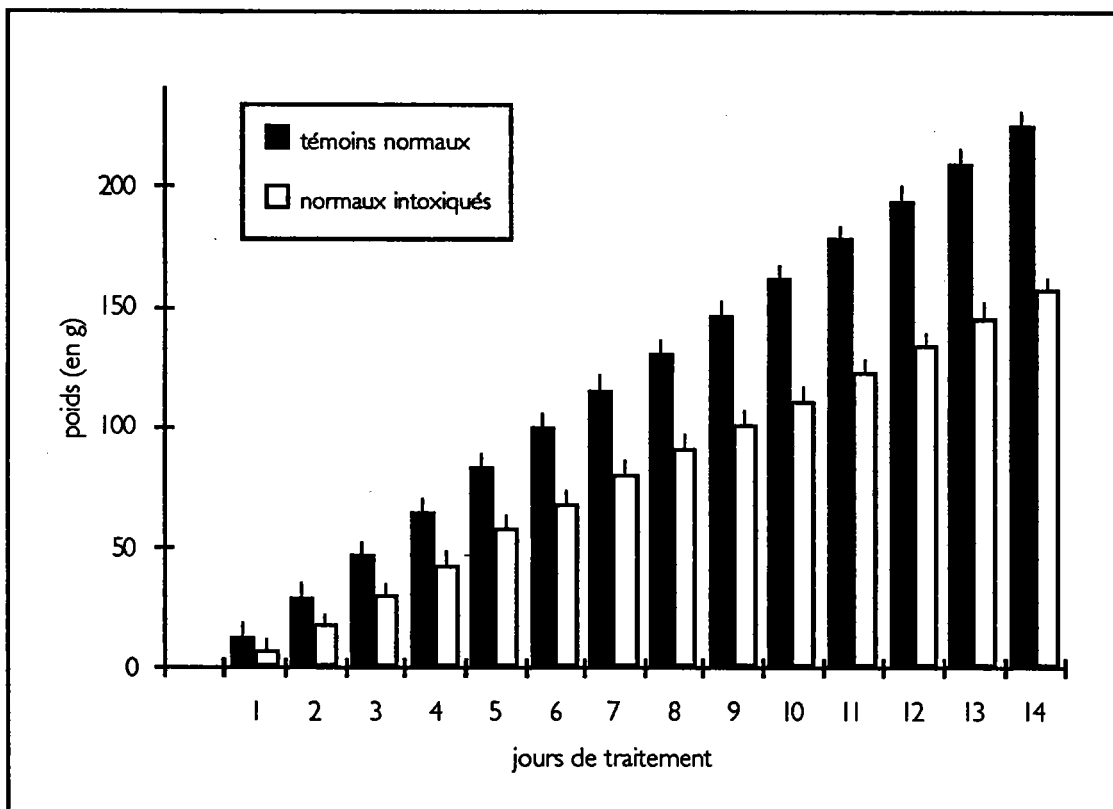


Fig 14b : Masse de nourriture ingérée par les rats mâles adultes normaux pendant le traitement (en données cumulées)

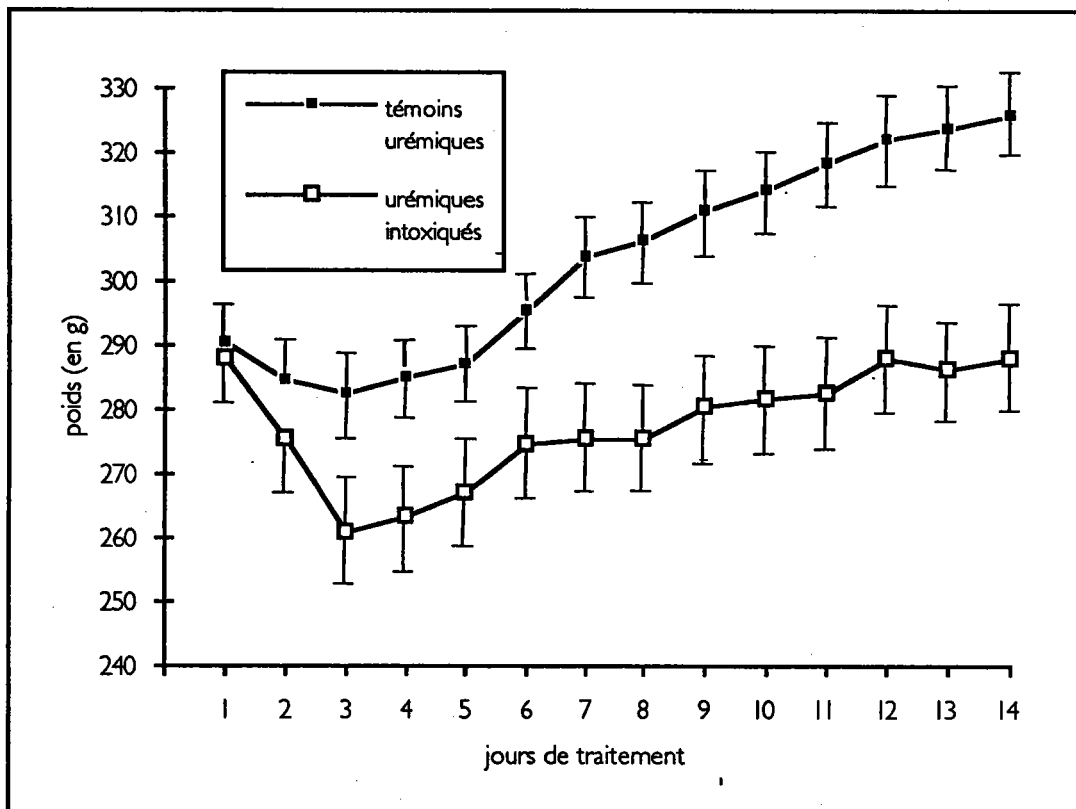


Fig 15a : Evolution pondérale des rats mâles adultes urémiques pendant le traitement

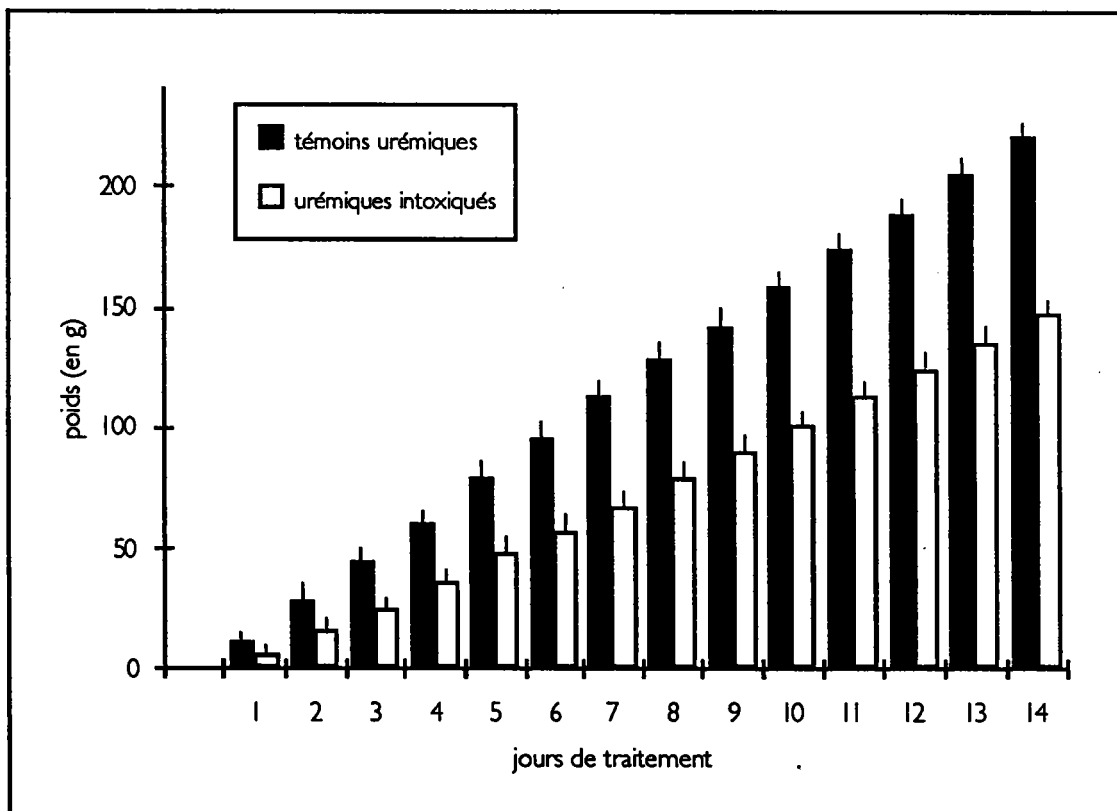


Fig 15b : Masse de nourriture ingérée par les rats mâles adultes urémiques pendant le traitement (en données cumulées)

De même la masse de nourriture ingérée par les rats normaux d'une part et celle ingérée par les rats urémiques d'autre part sont représentés par les figures 15a et 15b.

Les animaux témoins, urémiques ou non, maigrissent d'environ 10 g les deux premiers jours ; ils ingèrent 12 g de nourriture le premier jour et 16 g le jour suivant.

Les rats normaux intoxiqués maigrissent durant trois jours ; ils perdent 20 g en moyenne. Les rats urémiques intoxiqués maigrissent durant deux jours et perdent 28 g. Ces deux groupes consomment environ 6 g de nourriture le premier jour et 11 g les deux jours suivants.

A partir du deuxième jour de traitement, la masse de nourriture consommée quotidiennement par chaque groupe ne varie plus (test de Student ; $p < 0,01$). Elle est en moyenne de $16,3 \pm 0,8$ g pour le groupe 1, de $11,6 \pm 1,7$ pour le groupe 2, de $16 \pm 1,8$ g pour le groupe 3 et de $10,8 \pm 2,2$ g pour le groupe 4. La masse de nourriture ingérée quotidiennement par les groupes 1 et 3 ne varie pas significativement. En revanche celle consommée par le groupe 2 est inférieure de 28,12 % à celle consommée par le groupe 1 à partir du deuxième jour (test de Student ; $p < 0,001$) ; à partir du même jour, celle consommée par le groupe 4 est inférieure de 35,6 % à celle consommée par le groupe 3 (test de Student ; $p < 0,001$).

Entre les jours 4 et 7, les groupes 1 et 2 ont une évolution pondérale parallèle ; la croissance est alors de 5 g/j. Elle ne varie plus jusqu'au 14ème jour pour le groupe 1 mais celle du groupe 2 passe à 1 g/j à partir du jour 8 ; l'écart avec le groupe 1 est significatif (test de Student ; $p < 0,01$).

Entre les jours 4 et 6, les groupes 3 et 4 ont également une évolution pondérale parallèle ; elle est de 4,4 g/j pour le groupe 3 et de 5 g/j pour le groupe 4. La croissance du groupe 3 ne variera plus jusqu'au 14ème jour mais celle du groupe 4 passera à 1,5 g/j à partir du jour 7 ; l'écart avec le groupe 3 est significatif à partir de cette date (test de Student ; $p < 0,01$).

Entre les jours 4 et 14, la croissance du groupe 3 est donc légèrement inférieure à celle du groupe 1 (4,4 g/j contre 5 g/j), mais la différence n'est pas significative.

B. Discussion

La perte de poids constatée au cours des premiers jours de traitement correspond au temps d'adaptation à la nourriture humide - et il aurait été préférable de donner de la nourriture humide à tous les groupes quelques jours avant le début de l'intoxication. D'une façon plus générale, d'après Kleinknecht et coll. (1988b) les animaux qui ingèrent des aliments humides mangent moins que ceux qui ingèrent des aliments secs, et les différences sont plus grandes lorsque les rats sont urémiques, à cause de la difficulté de ces derniers à concentrer l'urine.

Hormis le temps d'adaptation à la nourriture humide, l'effet de l'aluminium sur l'évolution pondérale n'est pas immédiat ; il apparaît à partir du jour 8 dans le groupe 2 et du jour 7 dans le groupe 4.

Des observations similaires ont été faites lorsque des femelles ont été intoxiquées (chapitre 1, § 1). Cependant la masse de nourriture ingérée par les femelles traitées, bien que plus faible que celle des témoins n'en était pas significativement différente ; quant à l'écart pondéral il devenait significatif à partir du 18ème jour. L'effet de l'aluminium a été probablement atténué par l'état de gestation.

Si les animaux intoxiqués mangent moins que les autres, c'est peut-être tout simplement à cause du goût de la nourriture additionnée de chlorure d'aluminium - mais le goût n'est peut-être pas la seule cause.

Slanina et coll. (1984) rapportent un écart pondéral de 10% entre des rats témoins et des rats traités au citrate d'aluminium ou à l'hydroxyde d'aluminium par intubation gastrique à la dose de 100 mg/kg/j durant 2 mois. L'écart est donc moins important que celui que nous observons mais la dose est plus faible et les sels ne sont pas administrés de la même façon. Lhobet et coll. (1987) observent aussi une perte de poids chez des rats traités avec du chlorure d'aluminium à la dose de 3311 mg/kg

pendant 14 jours par intubation gastrique. L'amaigrissement survient dès le 2ème jour de traitement.

Ondreicka et coll. (1966) avait déjà constaté que des rats nourris avec des aliments additionnés de chlorure d'aluminium présentent un retard de croissance ; d'après cet auteur, l'effet serait dû à une diminution de l'absorption des phosphates et à une altération des processus de phosphorylation au niveau des tissus. Thurston et coll. (1972) en ajoutant de l'hydroxyde d'aluminium à la nourriture de rats, observent aussi un ralentissement de la croissance après 3 à 4 semaines, lié à l'hypophosphatémie. Cependant Sugawara et coll. a (1988), après avoir nourris des rats pendant 67 jours avec des aliments contenant du chlorure d'aluminium à la dose de 2000 µg/g/j en Al n'observent pas d'effet sur la croissance ni sur la phosphatémie, mais une diminution des triglycérides sériques. Les mêmes auteurs (Sugawara et coll. b. 1988) en administrant de l'hydroxyde d'Al ou du sulfate d'Al à la même dose que précédemment et pendant la même durée n'observent toujours pas d'hypophosphatémie ni de ralentissement de croissance mais de nouveau une diminution des triglycérides sériques ainsi qu'une diminution du glycogène hépatique. Ils estiment que l'on devrait s'intéresser davantage aux effets de l'aluminium sur le métabolisme nutritionnel. Selon Gawlik et coll. (1987), des rats dont la nourriture a contenu du chlorure d'aluminium à la dose de 916 mg/kg/j pendant une période de 5 mois présentent une petite diminution des protéines plasmatiques, ainsi qu'une diminution de 20% du zinc et du selenium, mais pas de changement des taux de fer et de phosphate ; ils ne parlent pas de l'évolution pondérale.

Les effets d'une intoxication aluminique par voie orale sur la croissance semblent dépendre à la fois du type de sel, de la dose administrée, et des conditions dans lesquelles les animaux ont été alimentés. Dans tous les cas la masse de nourriture ingérée joue un rôle déterminant dans la croissance et dans aucune des études rapportées ci-dessus il n'en ait fait mention.

2.2.3. Evolution du taux de créatinine sérique : résultat et commentaire

Les résultats du dosage de la créatinine sérique sont inscrits dans le tableau 32 ; les valeurs représentent des moyennes $\pm$ SD.

Tableau 32 : Taux de créatinine sérique avant et après l'intoxication.

	Créatinémie 6 jours avant le traitement (en $\mu\text{moles/l}$)	Créatinémie après 14 jours de traitement (en $\mu\text{moles/l}$)
groupe 1 (n = 6)	$62,5 \pm 3$	$64 \pm 3,5$
groupe 2 (n = 6)	$112,3 \pm 20$	125 ± 11
groupe 3 (n = 6)	$64 \pm 3,5$	62 ± 5
groupe 4 (n = 6)	$117,2 \pm 17$	$132 \pm 16,5$

n = nombre d'animaux

Le taux de créatinine des rats néphrectomisés est environ le double de celui des rats "normaux" mais il augmente de près de 12 % en trois semaines.

Ces valeurs sont du même ordre que celles trouvées lors des expériences portant sur les femelles néphrectomisées (chapitre 1, deuxième partie) et sont en accord avec les résultats de Gretz et coll. (1988) qui ont montré que la déficience rénale progresse régulièrement pendant quatre semaines.

2.2.4. Dosage de l'aluminium

A. Taux aluminiques dans le plasma, les structures cérébrales et le foie

a. Résultats de mesures

Les résultats sont inscrits dans le tableau 33 ; les chiffres représentent des moyennes $\pm$ SD.

Tableau 33 : Concentrations aluminiques dans le plasma, le cerveau et le foie

	plasma (en $\mu\text{g/l}$)	foie (en $\mu\text{g/g}$ de tissu humide)	structures cérébrales (en $\mu\text{g/g}$ de tissu humide)
groupe 1 (n = 6)	36 ± 10	$3,03 \pm 0,8$	$3,33 \pm 0,70$
groupe 2 (n = 6)	42 ± 8	$4,85 \pm 0,50 *$	$3,47 \pm 0,55$
groupe 3 (n = 6)	39 ± 9	$2,96 \pm 0,38$	$3,27 \pm 0,95$
groupe 4 (n = 6)	$60 \pm 12 *$	$5,80 \pm 0,84 **$	$3,81 \pm 1,0$

Différence significative par rapport au groupe 1 (test de Fisher) :

* $p < 0,001$; ** $p < 0,001$.

L'analyse de la variance appliquée aux résultats du dosage de l'aluminium plasmatique aboutit à la valeur suivante : $F(3,20) = 7,623$; $p < 0,0014$. Les 4 groupes étant hétérogènes, les comparaisons multiples ont été établies à l'aide du test PLSD de Fisher (tableau 34).

Tableau 34 : Résultats du test PLSD de Fisher appliqué aux taux d'aluminium plasmatiques

	groupe 2	groupe 3	groupe 4
groupe 1	NS	NS	$p < 0,01$
groupe 2	•	NS	$p < 0,01$
groupe 3	NS	•	$p < 0,01$

L'aluminémie augmente de manière significative uniquement chez les rats traités urémiques, et ceci par rapport aux trois autres groupes. La teneur aluminique du cerveau ne varie pas, par contre celle du foie augmente ; l'augmentation est de 60 % entre le groupe 1 et le groupe 2, de 48% entre le groupe 3 et le groupe 4 et de 16,4 % entre le groupe 2 et le groupe 4. Le test ANOVA appliqué aux valeurs trouvées dans le foie donne le résultat suivant : $F(3,20) = 26,726$; $p < 0,0001$. ce qui permet de faire des comparaisons multiples à l'aide du test PLSD de Fisher (tableau 35).

Tableau 35 : Résultats du test PLSD de Fisher appliqué aux taux d'aluminium hépatique.

	groupe 2	groupe 3	groupe 4
groupe 1	$p < 0,01$	NS	$p < 0,001$
groupe 2	•	$p < 0,01$	$p < 0,01$
groupe 3	$p < 0,01$	•	$p < 0,01$

Contrairement à ce que l'on observe pour le plasma, les valeurs trouvées dans le groupe 2 sont significativement plus élevées que celles trouvées pour le groupe 1. Quant à l'élévation du taux d'aluminium dans le groupe 4, elle est significative lorsqu'on la compare aux trois autres groupes.

b. Discussion

L'aluminémie augmente de manière significative chez les rats urémiques traités mais pas chez les rats normaux traités. La raison principale est sans doute que dans le groupe 4 le métal absorbé est moins bien éliminé, et ceci est confirmé par les valeurs trouvées dans l'urine (voir § suivant). Cependant d'après certains auteurs (Alfrey et coll. 1980, Molitoris et coll. 1989, Provan et Yokel 1990), l'urémie stimulerait par elle-même l'absorption de l'aluminium.

Bien que l'aluminémie n'augmente pas dans le groupe 2, le métal est absorbé puisque le taux d'Al hépatique augmente. L'absorption est confirmée indirectement par les taux aluminiques décelés dans l'urine. Ces résultats prouvent que le taux plasmatique ne reflète pas obligatoirement le niveau d'absorption, et que l'aluminium parvient à se concentrer dans certains tissus comme le foie bien qu'il soit en faible concentration dans le plasma et que la durée de l'intoxication soit assez brève.

Alors que la teneur en aluminium augmente donc significativement dans le foie, elle ne varie pas dans le cerveau. Chez l'adulte, le foie concentre l'aluminium assez vite alors que le cerveau ne le mobilise que très lentement. Drüeke et coll. (1985), après avoir soumis des rats urémiques à une surcharge aluminique orale durant un mois à la dose de (?) ont trouvé également que la teneur en aluminium augmente dans le foie mais pas dans le cerveau. Pour que l'aluminium s'accumule dans le

cerveau, la durée de l'intoxication, doit être suffisamment longue, même lorsque la dose administrée est forte.

Hirschberg et coll. (1985) ont également intoxiqués des rats urémiques, mais avec de l'hydroxyde d'aluminium, additionné à la nourriture à la dose de 5 g/kg durant 20 jours. Les animaux ont reçu en plus une injection IP de 2 mg d'aluminium métal par kg pendant les 4 premiers jours, puis de 0,8 mg pendant les 16 jours suivants.

Ces auteurs n'ont pas observé de modification de la teneur en Al dans le cerveau. En revanche Arieff et coll. (1979), en intoxiquant des rats normaux et des rats urémiques durant 5 mois avec de l'hydroxyde d'aluminium additionné à la nourriture à la dose de 300 mg/kg, ont décelé des augmentations d'aluminium dans la substance grise. Les taux étaient de $0,8 \pm 0,2$ µg/g de tissu frais chez les témoins normaux, contre $3,2 \pm 0,7$ pour les normaux intoxiqués ($p < 0,01$) et $4,1 \pm 1,11$ pour les urémiques intoxiqués ($p < 0,01$).

Malheureusement Hirschberg et coll. (1985) ainsi que Arieff et coll. (1979) n'ont pas dosé l'aluminium dans le sang.

Pour un même sel administré par voie orale, l'aluminium peut s'accumuler ou non dans le cerveau selon que l'intoxication se fait par gavage ou par la nourriture. En effet Sugawara et coll. (1988a), qui ont intoxiqué des rats adultes normaux durant 67 jours avec du chlorure d'aluminium additionné à la nourriture à la dose de 2 000 µg/g de poids corporel ont constaté une élévation significative de la teneur en aluminium dans le foie et dans le tibia mais pas dans le cerveau ; l'aluminémie n'était que de 20 µg/l. Par contre, Anderson et coll. (1990) qui, pendant 10 semaines ont gavé deux groupes de rats adultes normaux avec du chlorure d'aluminium à la dose de 1,79 µg/g de poids corporel pour l'un et 4,47 µg/g pour l'autre ont décelé des augmentations du taux d'aluminium dans le cerveau de respectivement 65 % et 182 %.

Là-encore les deux équipes n'ont pas dosé l'aluminium plasmatique mais on peut émettre l'hypothèse que dans le second cas l'absorption a été plus importante. Les différents paramètres pouvant influencer

l'absorption ont été cités en introduction, dans le § 2.1.2. B. Ici les différences s'expliquent sans doute par la présence ou non d'un certain nombre d'ions d'accompagnement présents dans la nourriture.

B. Taux d'aluminium urinaire

b. Résultat des mesures

Les résultats sont inscrits dans le tableau 36, les valeurs représentent des moyennes $\pm$ SD.

Tableau 36 : Concentrations urinaires au jour 15, en $\mu\text{g}/24\text{h}$.

groupe 1 (n = 6)	groupe 2 (n = 6)	groupe 3 (n = 6)	groupe 4 (n = 6)
1,94 $\pm$ 0,44	4,75 $\pm$ 0,54	2,00 $\pm$ 0,38	3,23 $\pm$ 0,49

L'aluminurie du groupe 2 est supérieure de 140 % à celle du groupe 1 ; celle du groupe 4 est supérieure de 61 % à celle du groupe 3 mais inférieure de 32 % à celle du groupe 2.

Le test ANOVA appliqué à ces résultats donne la valeur suivante : $F(3,20) = (47;058 ; p < 0,0001)$. Les comparaisons multiples réalisées à l'aide du test PLSD de Fisher sont consignées dans le tableau ci-dessous (tableau 37).

Tableau 37 : Résultats du test PLSD de Fisher appliqué aux taux d'Al urinaires.

	groupe 2	groupe 3	groupe 4
groupe 1	$p < 0,01$	NS	$p < 0,01$
groupe 2	•	$p < 0,01$	$p < 0,01$
groupe 3	$p < 0,01$	•	$p < 0,01$

L'aluminurie des animaux intoxiqués normaux est significativement plus élevée que celle des animaux témoins. Il en est de même entre les animaux urémiques intoxiqués et non intoxiqués. Les écarts-types sont importants ; ils sont de 22,6 % pour le groupe 1, de 11,3 % pour le groupe 2, de 19 % pour le groupe 3 et de 15,1 % pour le groupe 4.

c. Commentaire

Si dans le groupe 4 les taux d'aluminium hépatique et plasmatique sont plus élevés que dans le groupe 2, c'est en partie parce que l'aluminurie est plus faible ; les rats déficients rénaux retiennent davantage d'Al que les rats normaux.

La valeur élevée des écarts-types s'explique davantage par les diverses contaminations au cours des prélèvements que par les variations individuelles de l'excrétion. En effet, dans le cas inverse, les écarts devraient être plus importants lorsque les animaux ont été opérés, et lorsqu'ils sont intoxiqués.

2.2.5. Activité de la CAT

A. Résultat

Les résultats des mesures de l'activité spécifiques de la CAT figurent dans le tableau 38 ; les chiffres représentent des moyennes $\pm$ SD.

Tableau 38 : Effet du chlorure d'aluminium sur l'activité de la CAT (en nmoles/h/mg de protéines)

groupe 1 (n = 6)	groupe 2 (n = 6)	groupe 3 (n = 6)	groupe 4 (n = 6)
26,31 $\pm$ 0,73	25,55 $\pm$ 0,38	24,79 $\pm$ 0,52	24,53 $\pm$ 0,31

L'intoxication orale au chlorure d'aluminium additionné à la nourriture à la dose de 300 mg/kg durant 14 jours ne modifie pas l'activité de la CAT dans les structures cérébrales chez le rat adulte.

B. Commentaire

L'activité de la CAT n'est pas modifiée par l'aluminium car il pénètre en faible quantité dans le cerveau et n'atteint probablement pas l'enzyme. Ces résultats sont similaires à ceux obtenus lors des gavages

de rats adultes (§ 1) bien qu'ici le mode d'administration soit différent et la dose plus élevée.

Johnson et Jope (1986) qui ont intoxiqué des rats adultes avec du citrate d'aluminium additionné à l'eau de boisson à la dose de $5,6 \pm 0,2$ mmoles en aluminium par jour durant un mois n'ont pas observé de modification du taux d'acétylcholine dans le cortex, or le citrate d'Al est absorbé beaucoup plus facilement que le chlorure (Slanina et coll. 1984) ; toutefois, ils n'ont pas évalué l'activité de la CAT.

Conclusion:

Lorsque des rats adultes normaux ou urémiques sont intoxiqués par la nourriture au chlorure d'aluminium à la dose de 300 mg/kg en aluminium durant 14 jours, le métal est en partie absorbé, s'accumule dans le foie mais pas dans le cerveau. L'activité de la CAT n'est pas modifiée.

Chapitre 4
Evaluation des éléments constitutifs
des cellules épithéliales intestinales par microanalyse de
rayons X au cours du développement, de la gestation, de la
lactation, et suite à une intoxication orale par un sel
d'aluminium

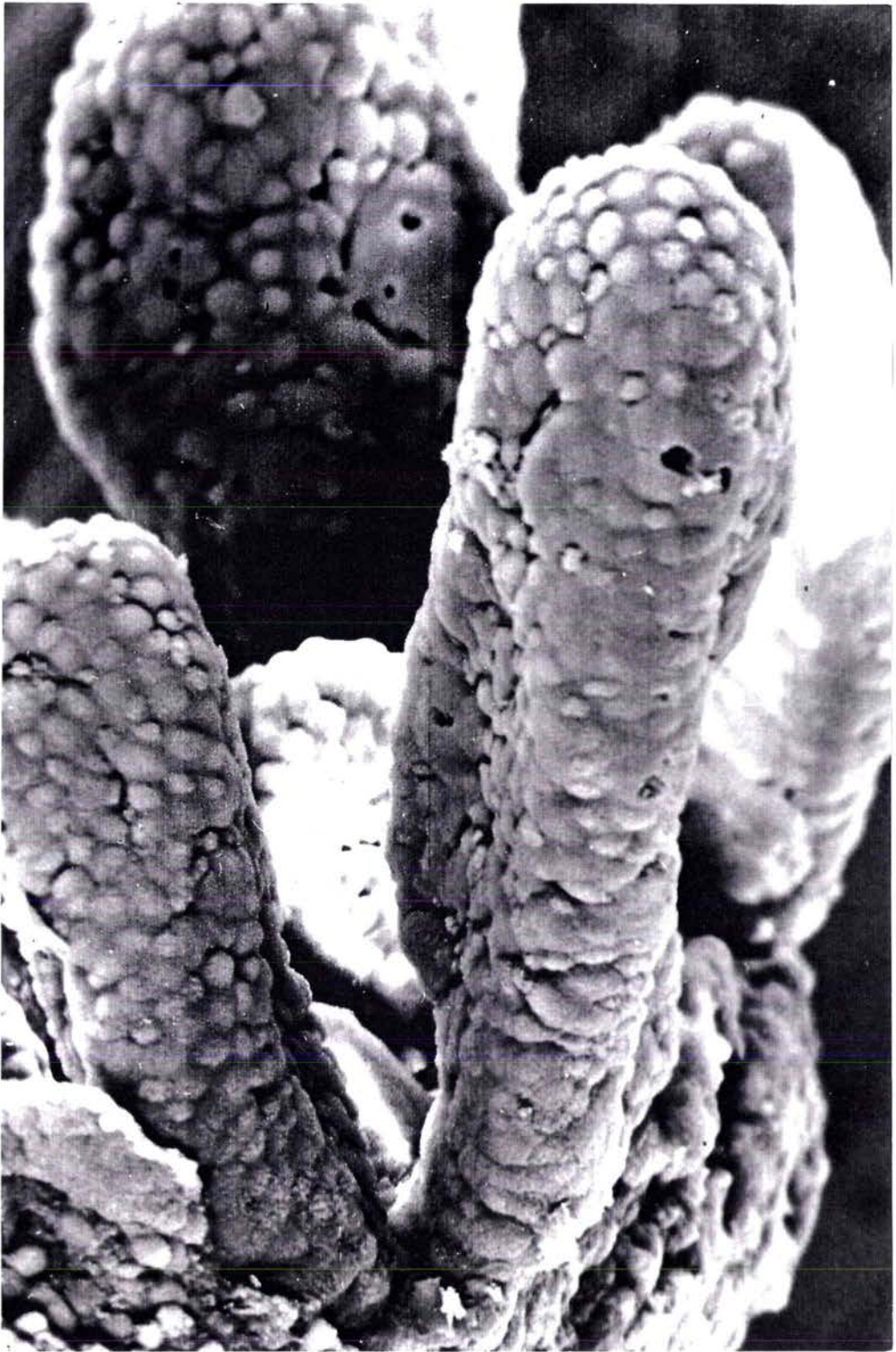
INTRODUCTION

Chez l'adulte sain, le tractus gastrointestinal constitue une barrière importante à l'absorption de l'aluminium (Alfrey, 1984). Toutefois, l'administration à fortes doses de sels d'aluminium par voie orale à des patients souffrant d'insuffisance rénale provoque une augmentation de l'absorption de cet élément pouvant induire une intoxication aluminique; chez les jeunes enfants l'intoxication est plus marquée du fait d'une absorption accrue d'aluminium liée à l'immaturité de la barrière intestinale (Andreoli et coll., 1984).

Chez le Rat, cette immaturité est liée à des modification de la teneur en phospholipides et acides gras de la membrane des microvilli (Chu et Walker, 1988). Les microvilli présentent également des différences morphométriques suivant l'âge et la condition physiologique de l'animal : dans le duodenum la hauteur des villosités augmente de 50 % au 18^{ème} j de lactation, comparativement à des femelles non allaitantes de même âge (Pénzes et coll. 1988/89).

Avant d'envisager l'impact de l'aluminium sur la distribution des éléments dans l'épithélium intestinal de rat, il s'avère nécessaire dans un premier temps l'évolution de ces éléments au cours du développement, de la gestation et de la lactation.

1. MATERIEL ET METHODE



VILLOSITES INTESTINALES CHEZ LE RAT (x 900)
vue en microscopie électronique à balayage



CELLULE EPITHELIALE DE L'INTESTIN DE RAT (x 60 000)
vue en microscopie électronique à transmission
(Cryofracture et réplique)

1.1. Animaux

Les expériences sont réalisées sur des rats Albinos de race Wistar (Iffa Credo, l'Arbresle, France). Ils sont élevés dans des cages en plastique et nourris *ad libitum* avec des croquettes (Extra Labo, Provins, France).

Dans la salle d'élevage, l'air est conditionné, la température est de 20 - 22 °C et le rythme d'éclairement est de 12/12.

Les analyses se font sur des foetus, des jeunes, des femelles gestantes et non gestantes qui sont sacrifiés à différentes périodes de la gestation et du développement postnatal.

La date de fécondation est repérée de la façon suivante : des femelles nullipares (poids : 220 - 250 g) sont mises avec des mâles toute la nuit. Le lendemain matin un frottis vaginal est réalisé afin de déceler la présence éventuelle de spermatozoïdes. Si tel est le cas, ce jour est considéré comme le jour 0 de gestation. Les jeunes rats seront sevrés à l'âge de 21 jours.

1.2. Intoxication

Des intoxications par intubation gastrique ont été réalisées sur de jeunes rats, du 5ème jour au 14ème jour après la naissance, soit au lactate d'aluminium (doses : 100 à 200 mg/kg/j), soit au chlorure d'aluminium (dose : 100 mg/kg/j). Il s'agit des animaux utilisés dans les expériences décrites au chapitre 2 (partie 2).

1.3. Microanalyse de rayon X

1.3.1. Prélèvement et préparation des échantillons

Les animaux sont tués par décapitation. La partie proximale de l'intestin grêle est excisée rapidement, coupée dans le sens de la longueur, débarrassée de son contenu puis lavée avec du NaCl 9 ‰ et mise à sécher, sous vide léger. Les segments, longs d'environ 5 mm, sont

collés soit à la laque d'argent soit au vernis à ongle sur des supports microscopiques d'aluminium ou de laiton, puis métallisés par pulvérisation, sous vide, face luminale exposée.

1.3.2. Détection des éléments

Les éléments sont détectés à l'aide d'un spectromètre dispersif d'énergie PGT système III, à angle d'émergence (TAKOFF) de 30°, couplé à un microscope électronique à balayage stéréoscan Cambridge 250. L'énergie d'accélération est de 15 KV, le courant sonde de 600 pA et le programme d'analyse NOSTD. La surface de détection est de 12 μm^2 ; elle est déterminée par le grossissement à l'observation au microscope électronique choisi une fois pour toute, soit 2,8 K. Le volume d'ionisation est constant : profondeur de 2 μm .

L'analyse des éléments chimiques contenus dans les entérocytes a été effectuée de deux façons :

- à l'aide d'un spectre ; il traduit la proportion des différents éléments les uns par rapport aux autres
- à l'aide d'une image X qui, réalisée sur la même surface que le spectre, traduit la répartition des éléments au sein du tissu.

A. Le spectre

Un exemple de spectre est donné à la page suivante.

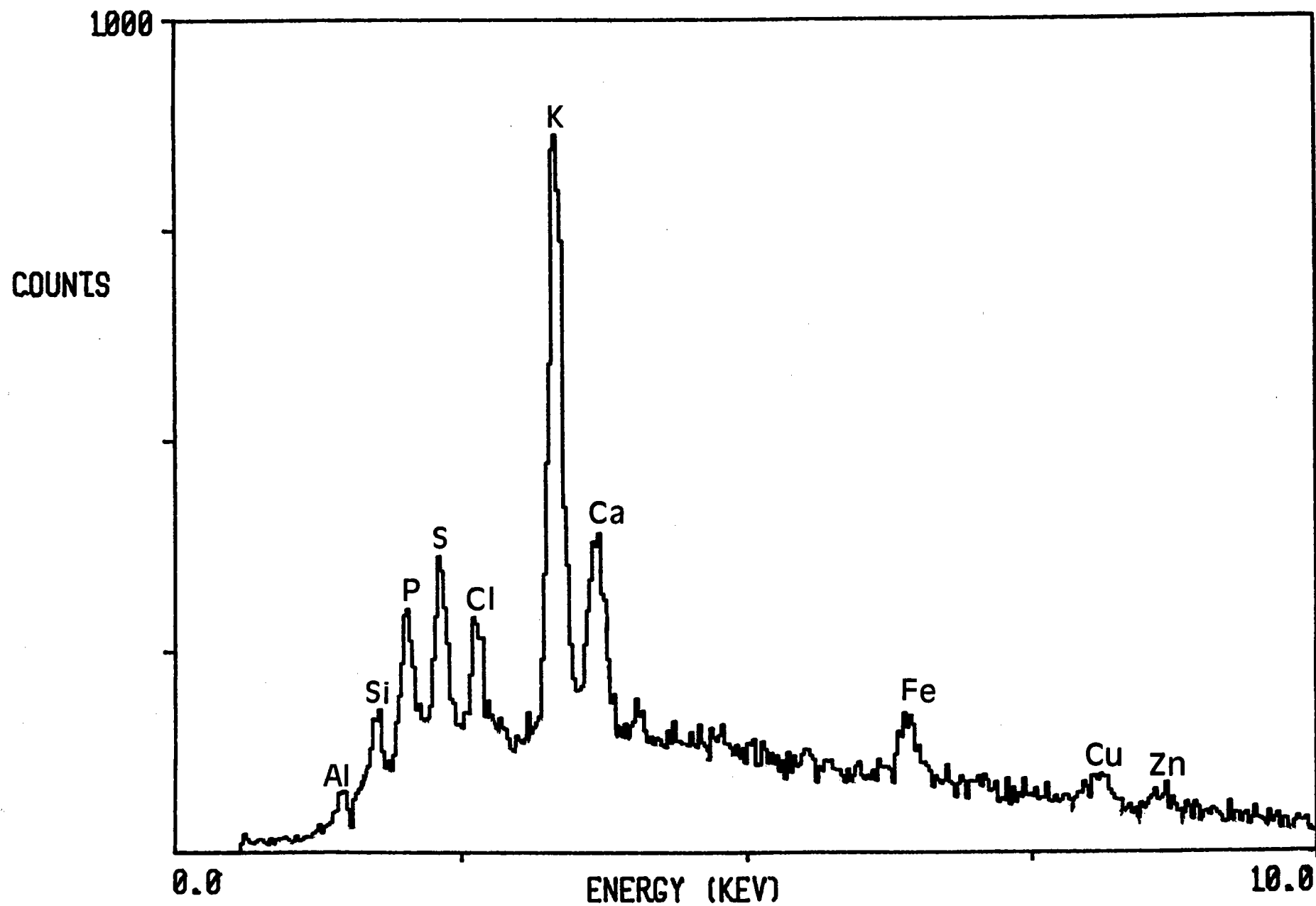
L'appareil détecte les ions et l'ordinateur calcule de % relatif de chaque élément par rapport à l'élément dominant (c'est-à-dire au potassium) et par rapport au nombre d'éléments détectés, rapporté à 100 %.

La technique comporte deux restrictions :

- les éléments légers (carbone, oxygène, sodium...), situés à l'avant gauche du spectre ne sont pas repérables du fait de la présence d'une fenêtre de protection en beryllium;

S12 (JZJ) IV(3) 221S

JEUNES ZJ 2.8K 15KV 600PA



EXEMPLE DE SPECTRE DES ELEMENTS (SPECTROMETRE PGT SYSTEM III)

- en ce qui concerne les éléments Al, Cu, Zn et Fe, l'incertitude de détection permet de calculer leur % mais avec une marge d'erreur importante (5 %) qui laisse cependant la possibilité d'estimer leurs proportions respectives.

La teneur en chaque élément dominant (P, S, Cl, K et Ca) est déterminée en faisant le rapport : surface du pic / surface du fond. Comme pour les éléments Al, Fe, Cu et Zn la valeur obtenue est une valeur relative.

Le temps de comptage pour l'obtention du spectre permet aussi d'évaluer le taux de minéralisation du tissu. Au moment du réglage de l'appareil, trois paramètres sont définis : l'intensité, la tension et le nombre de corps. Seul le temps de comptage varie ; plus il est long, moins le tissu est minéralisé et inversement. Le degré de minéralisation est donc calculé de la manière suivante : $60 \text{ (s)} \times 100 / \text{temps de comptage (s)}$.

B. L'image X

Il s'agit bien d'une détection puisque chaque point blanc représente un coup de comptage de l'élément considéré. Toutefois, comme l'ensemble des points peut correspondre au fond, dû à l'électronique, les images sont interprétées de la façon suivante :

- lorsque les points sont répartis uniformément, l'élément est sans doute présent mais ne présente pas de répartition particulière. Au contraire, lorsqu'ils sont regroupés en plages ou en agrégats, la répartition n'est pas uniforme. Si au même endroit deux éléments forment un agrégat, ils sont probablement associés.
- la densité des *spots* est une indication de la densité de l'élément. D'ailleurs lorsque, d'après le spectre, un élément est présent en quantité importante, la densité des spots est également importante, ce qui est une preuve de la fiabilité de la méthode.

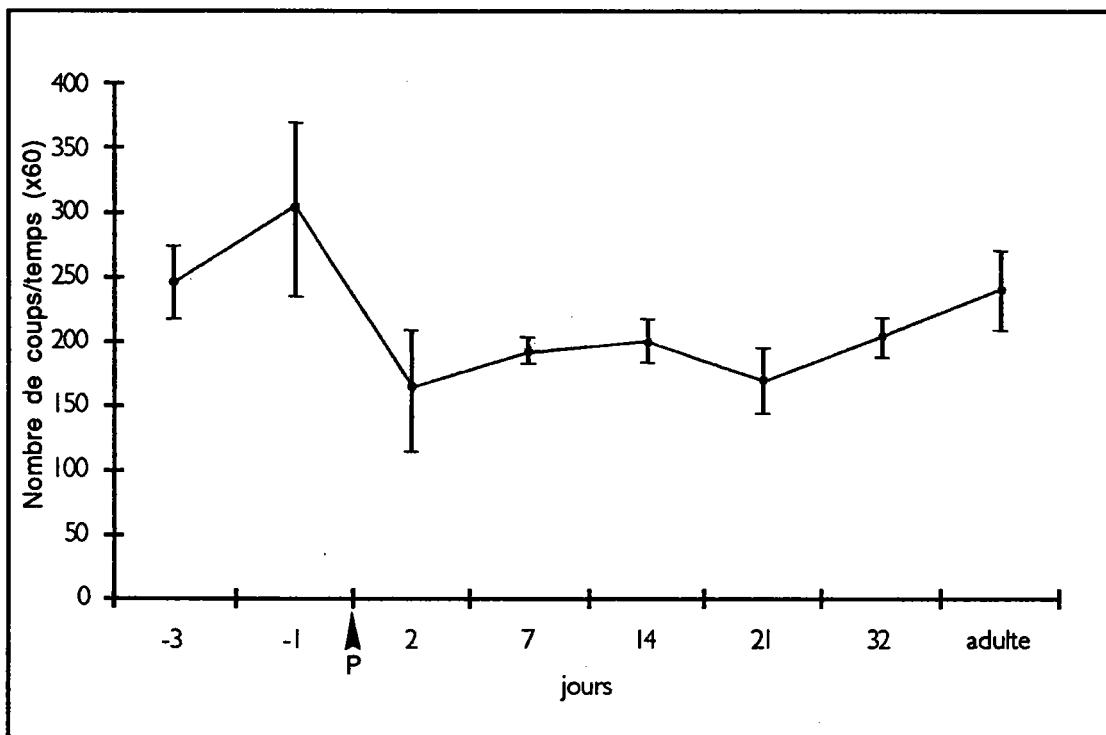


Fig 16a : Evolution de la minéralisation de l'épithélium intestinal chez le Rat au cours du développement. P: parturition

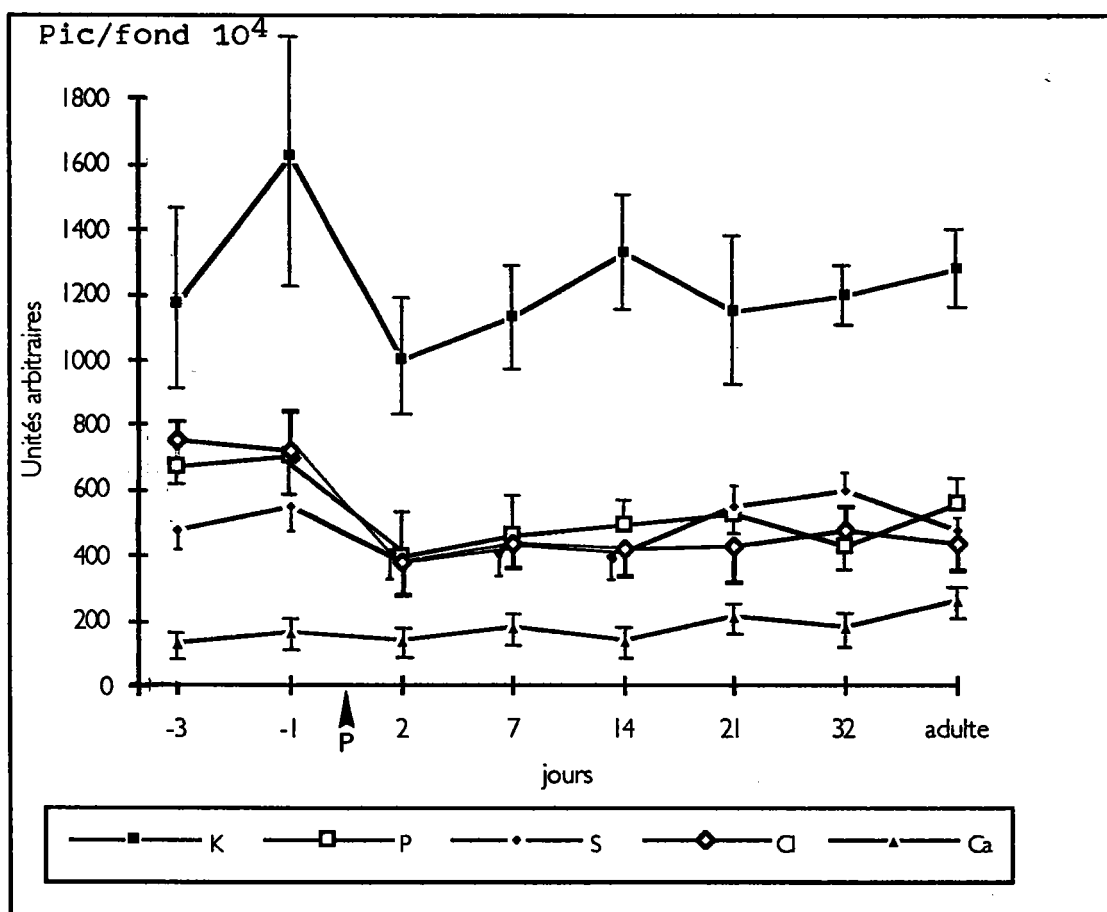


Fig 16b : Evolution de la concentration des principaux éléments de l'épithélium intestinal chez le Rat au cours du développement. P: parturition

La microanalyse est réalisée sur des échantillons de duodenum de fœtus, de jeunes, de rats mâles adultes, de femelles gestantes et non gestantes, de femelles allaitantes.

2. RESULTATS

2.1. Variation des principaux éléments chimiques de l'épithélium intestinal durant le développement pré et post-natal

2.1.1. Evolution de la minéralisation

Comme le montre la fig 16a, la minéralisation de l'épithélium intestinal est importante avant la naissance ; elle ne varie pas entre les jours 18 et 20 de gestation, puis diminue de 45,9 % jusqu'au stade postnatal + 2 jours.

La taux de minéralisation est également différent entre le stade + 2 jours et le stade adulte (test de Student, $p < 0,03$).

2.1.2. Evolution de la concentration des éléments

L'évolution de la concentration de chaque élément chimique dominant est résumé dans la fig 16b. Quel que soit l'âge, le potassium est l'élément le plus concentré ; sa concentration est environ 2 à 3 fois supérieure à celle des éléments P, S, Cl, Ca. Elle augmente de 30,3 % chez le fœtus entre les jours 18 et 20 de gestation, puis diminue de 36,6 % jusqu'au stade post-natal + 2 jours. Ensuite elle ne varie plus de manière significative.

Les éléments P, S et Cl ne varient pas entre les jours 18 et 20 de gestation. Par contre, tout comme le potassium, ils diminuent fortement entre le jour 20 de gestation et le jour postnatal + 2 (de respectivement 41,8 ; 30,4 et 49,2 %).

Au cours du développement postnatal, les concentrations de P,S et Cl ne varient pas de la même façon. Celle de P est identique entre le stade +

2 et le stade adulte, alors que celle de S augmente de manière significative durant cette même période (test de Student ; $p < 0,01$). Cependant une valeur maximale transitoire est observée au jour 21 pour P ($p < 0,05$ vs jour 2) et au jour 32 pour S ($p < 0,001$ vs jour 2). Les valeurs de Cl ne varient pas durant tout le développement postnatal.

Ca est toujours l'élément le moins concentré. Il augmente entre le jour 18 de gestation et le stade adulte (test de Student ; $p < 0,01$) avec une valeur maximale transitoire au jour postnatal 21 ($p < 0,04$ vs jour 2).

Comme le montre le tableau 39, les éléments Cu et Zn varient de la même façon au cours du développement pré et post-natal. En particulier, entre le jour 20 de gestation et le jour postnatal + 2, la concentration du cuivre diminue de 91 % et celle du zinc de 71,4 %.

Des traces d'aluminium et de fer ont également été détectées. Le % de ces éléments, comparé aux 9 autres étudiés, ne varie pas dans l'épithélium intestinal au cours du développement pré et post-natal. Les valeurs moyennes sont toujours inférieurs à 0,55 % pour le cuivre et 2,55 % pour le zinc, sauf au jour 20 de gestation (0,64 et 4,28 % respectivement).

Tableau 39 : Evolution de la concentration (%) des éléments Cu, Zn, Al et Fe dans le duodenum au cours du développement.

âge (jours) élément (%)	gestation		développement postnatal					adulte
	18	20	2	7	15	21	32	
Cu	5,03 ±2,31	13,05 ± 8,25	1,18 ± 0,31	10,37 ± 5,30	2,32 ± 1,64	12,22 ± 2,50	11,83 ± 3,41	4,90 ± 3,47
Zn	7,34 ± 1,68	9,32 ± 5,82	2,67 ± 2,52	8,73 ± 6,08	2,88 ± 2,20	9,06 ± 2,62	9,92 ± 3,70	3,33 ± 1,79
Al	0,52 ± 0,50	0,29 ± 0,44	0,41 ± 0,36	0,30 ± 0,14	0,35 ± 0,20	0,29 ± 0,23	0,32 ± 0,13	0,15 ± 0,15
Fe	2,42 ± 6,68	2,10 ± 2,80	1,83 ± 0,76	2,15 ± 1,69	1,53 ± 1,34	1,05 ± 0,49	1,84 ± 1,18	2,18 ± 1,25

2.1.3. Distribution des éléments

Le tableau 40 résume les observations de l'ensemble des images X qui ont été réalisées sur les échantillons de duodenum des rats en développement ; il décrit l'évolution de la densité et de la répartition des principaux éléments en fonction de l'âge.

Tableau 40 : Densité et répartition des principaux éléments chimiques de l'épithélium intestinal durant le développement pré et post natal

		----gestation----		-----lactation-----				adulte
âge en jours		18	20	2	7	15	21	90
K	densité	+++	+++	++	+	++	++	+++
	répartition	▲	□	□	♥	□	♥	□
P	densité	++	++	++	+	+++	++	++
	répartition	♥	□	□	□	□	♥	♥
S	densité	++	++	++	+	+++	++	++
	répartition	♥	□	□	□	□	♥	♥
Ca	densité	++	+	+	++	++	++	++
	répartition	▲♥	□	□	▲♥	♥	▲♥	□
Cl	densité	++	++	+++	+++	+++	++	++
	répartition	♥	□	▲	♥	□	♥	□

Densité : +++ importante

++ moyenne

+ faible

répartition : □ uniforme

♥ par zones

▲ avec agrégats

éléments ayant la même densité et la même répartition

Selon le stade, un même élément peut avoir une densité variable. Par exemple la densité du potassium (Planche I) diminue entre le 20ème j de gestation et le 7ème j de la naissance, puis augmente ensuite jusqu'au stade adulte.

Toujours selon le stade, certains éléments peuvent être uniformément répartis ou alors présenter des agrégats ; c'est le cas du

PLANCHE I

Répartition et densité du potassium dans les cellules épithéliales au cours du développement

Légende des photographies :

- a. Image X du potassium au stade - 1 j
- b. Image X du potassium au stade + 2 j
- c. Image X du potassium au stade + 7 j
- d. Image X du potassium au stade adulte.

Commentaire :

L'élément K est le plus abondant c'est pourquoi il est intéressant d'examiner sa répartition et sa densité.

La répartition de K demeure homogène tout au long du développement. Sa densité est importante au jour - 1 avant la naissance ; elle diminue ensuite aux stades + 2 j et + 7 j. C'est à de dernier stade que l'élément apparaît le moins concentré. Chez l'adulte, la densité est pratiquement la même qu'au stade - 1 j.

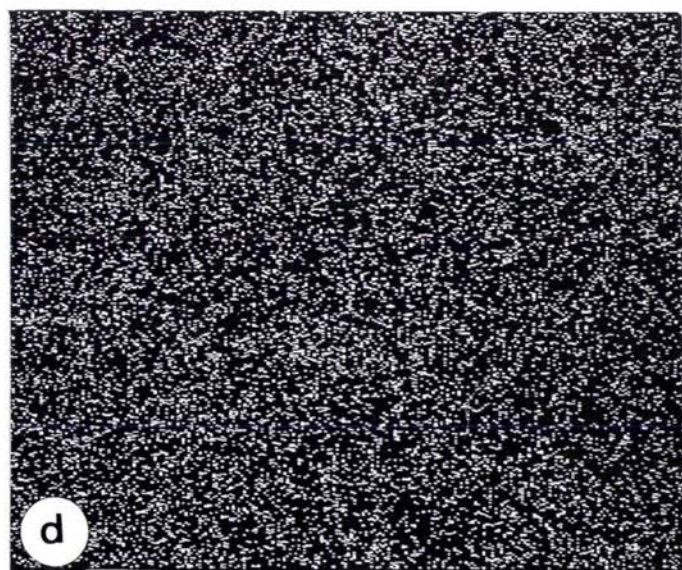
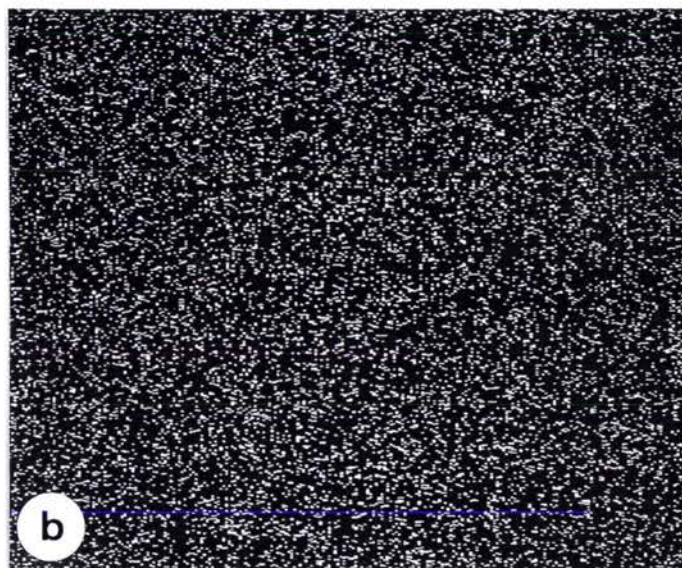
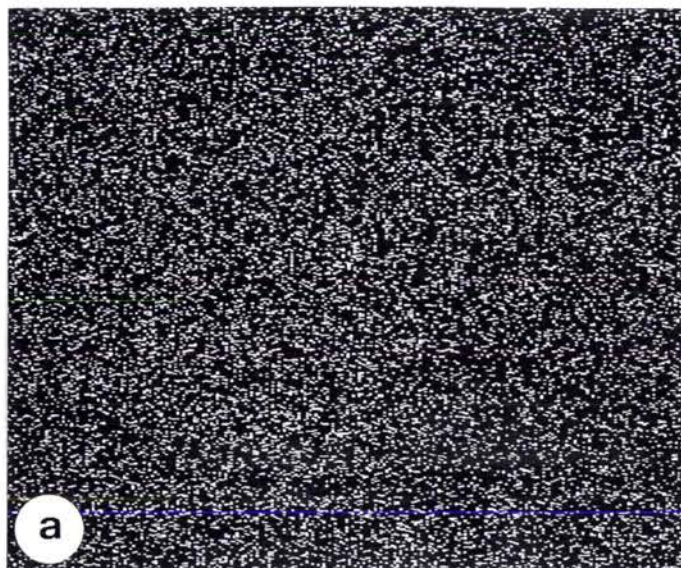


PLANCHE II

Quelques éléments disposés en agrégats dans les cellules épithéliales intestinales chez le jeune rat à différents stades du développement

Légende des photographies :

- a. Image X du potassium au stade - 1 j
- b. Image X du potassium au stade - 3 j
- c. Image X du calcium au stade + 2 j
- d. Image X du calcium au stade + 7 j
- e. Image X de l'aluminium au stade + 7 j
- f. Image X de l'aluminium au stade + 2 j.

Commentaire :

Les éléments K, Ca, Al présentent des agrégats. Le nombre de photographies est insuffisant pour affirmer que certains éléments se présentent davantage sous forme d'agrégats à certains stades du développement plutôt qu'à d'autres.

L'élément K apparaît toujours plus dense que l'élément Ca, lui-même toujours plus dense que Al. La présence d'agrégats n'est donc pas directement liée à la densité. L'élément Ca semble être celui qui présente le plus souvent des agrégats comme les montrent les planches IV c, Vc et d.

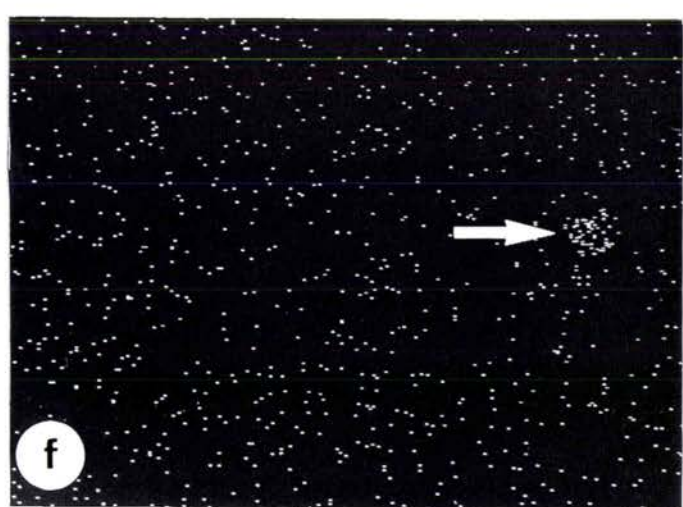
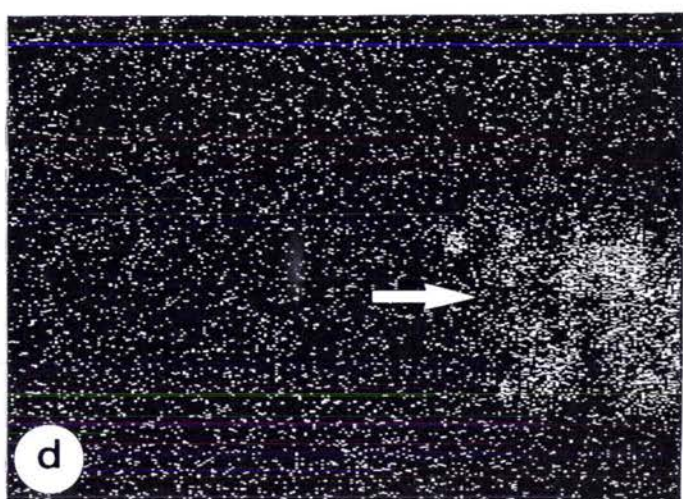
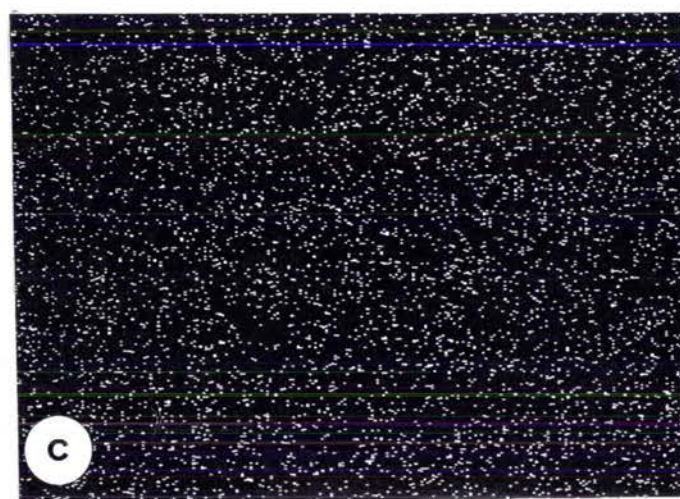
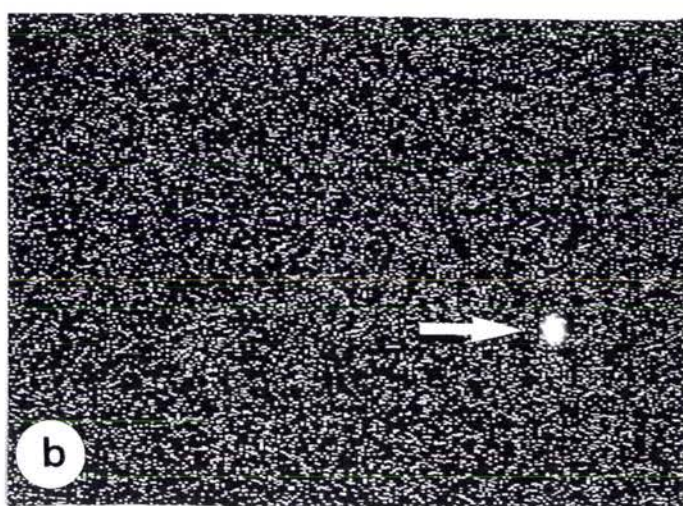
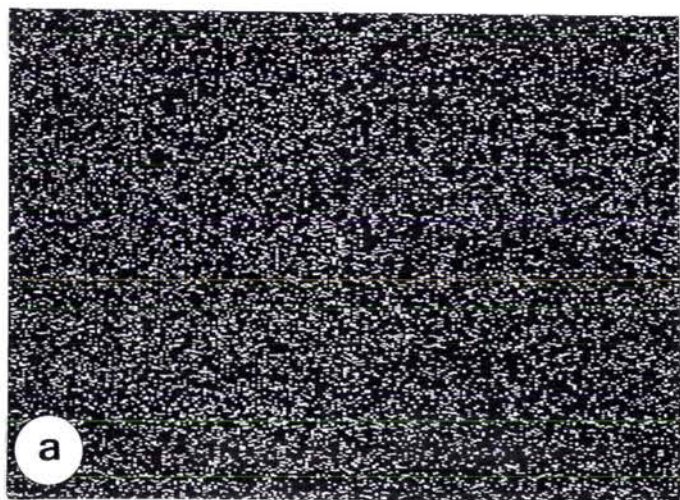


PLANCHE III

Evolution de la densité des éléments P et S dans les cellules épithéliales intestinales au cours du développement.

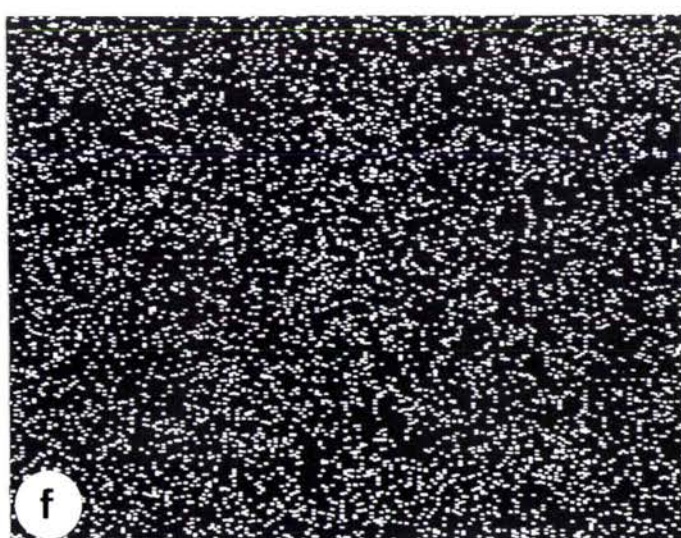
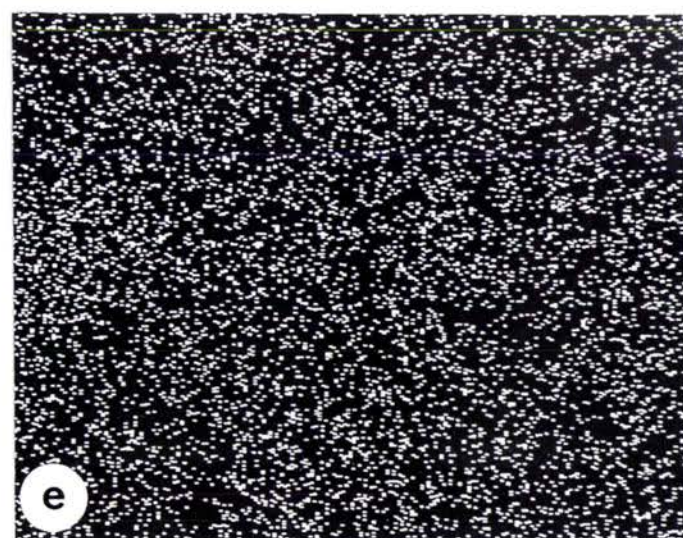
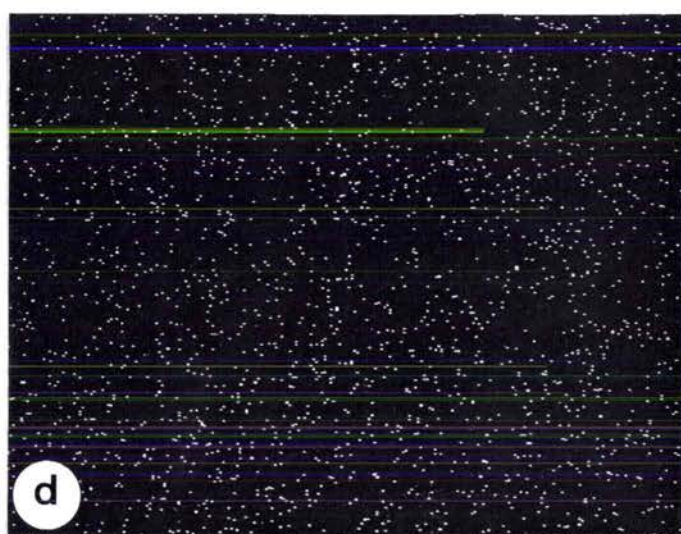
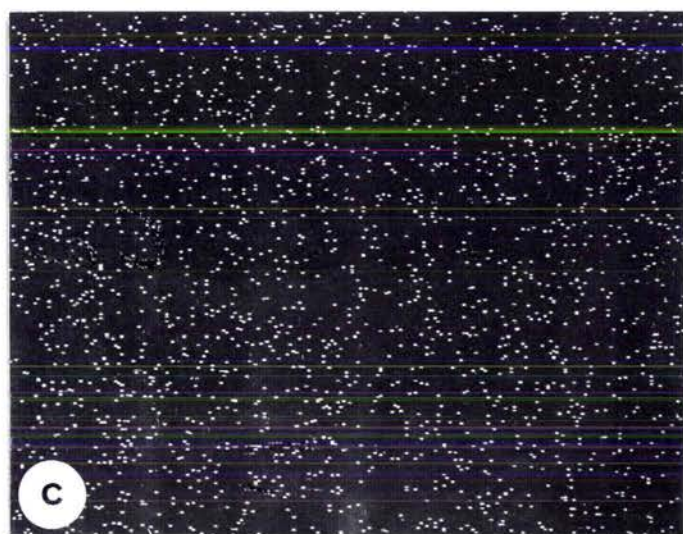
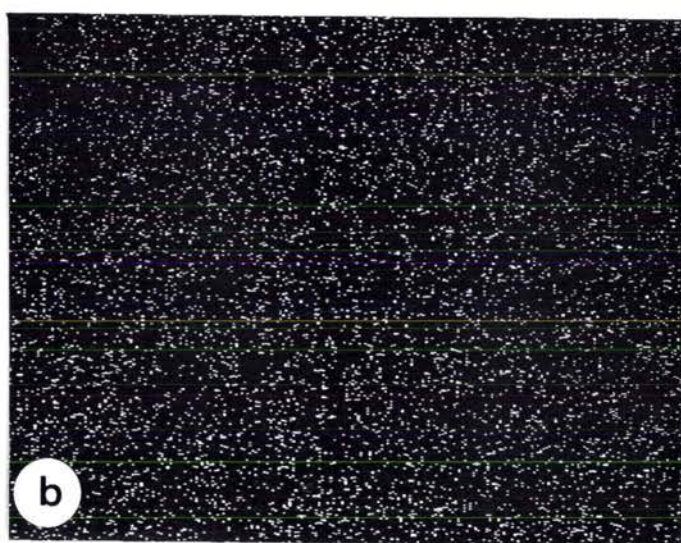
Légende des photographies :

- a. Image X du phosphore au stade - 3 j
- b. Image X du soufre au stade - 3 j
- c. Image X du phosphore au stade + 7 j
- d. Image X du soufre au stade + 7 j
- e. Image X du phosphore au stade + 15 j
- f. Image X du soufre au stade + 15 j.

Commentaire :

La densité des éléments P et S est moyenne au stade - 3 j, faible au stade + 7 j et importante au stade + 15 j.

Leur concentration évolue donc de façon similaire entre le stade - 3 j et le stade + 15 j ; leur répartition est uniforme.



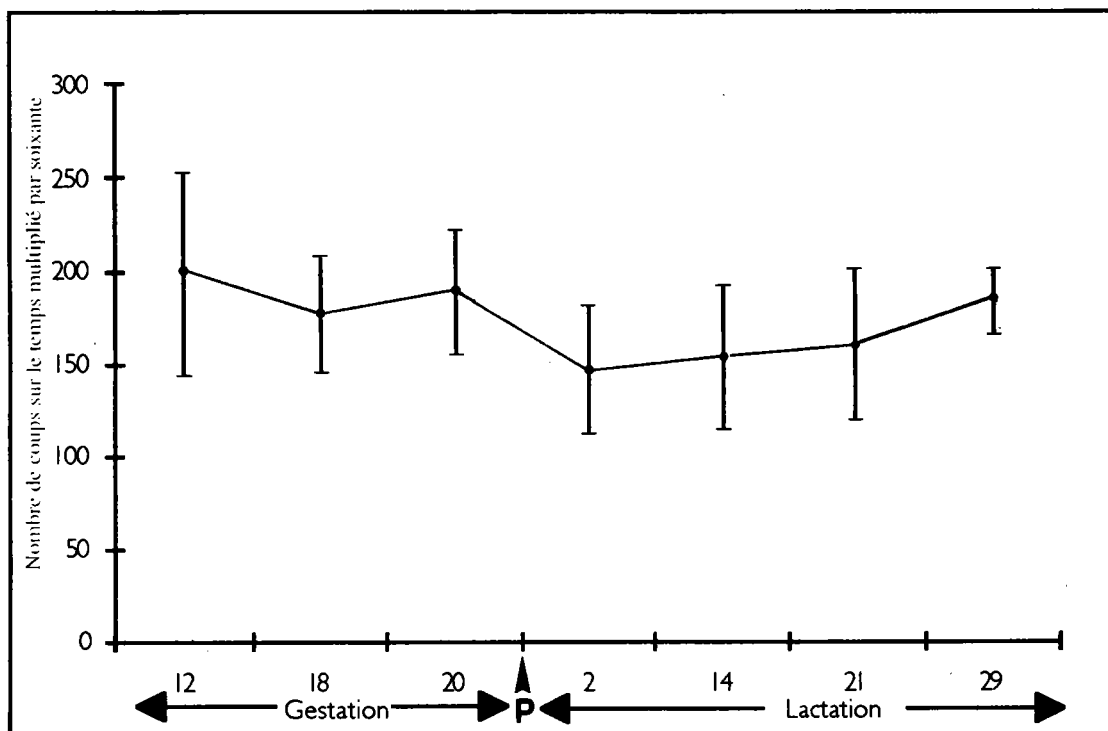


Fig 17a : Evolution de la minéralisation de l'épithélium intestinal chez la rate gestante et en lactation. **P**: Parturition

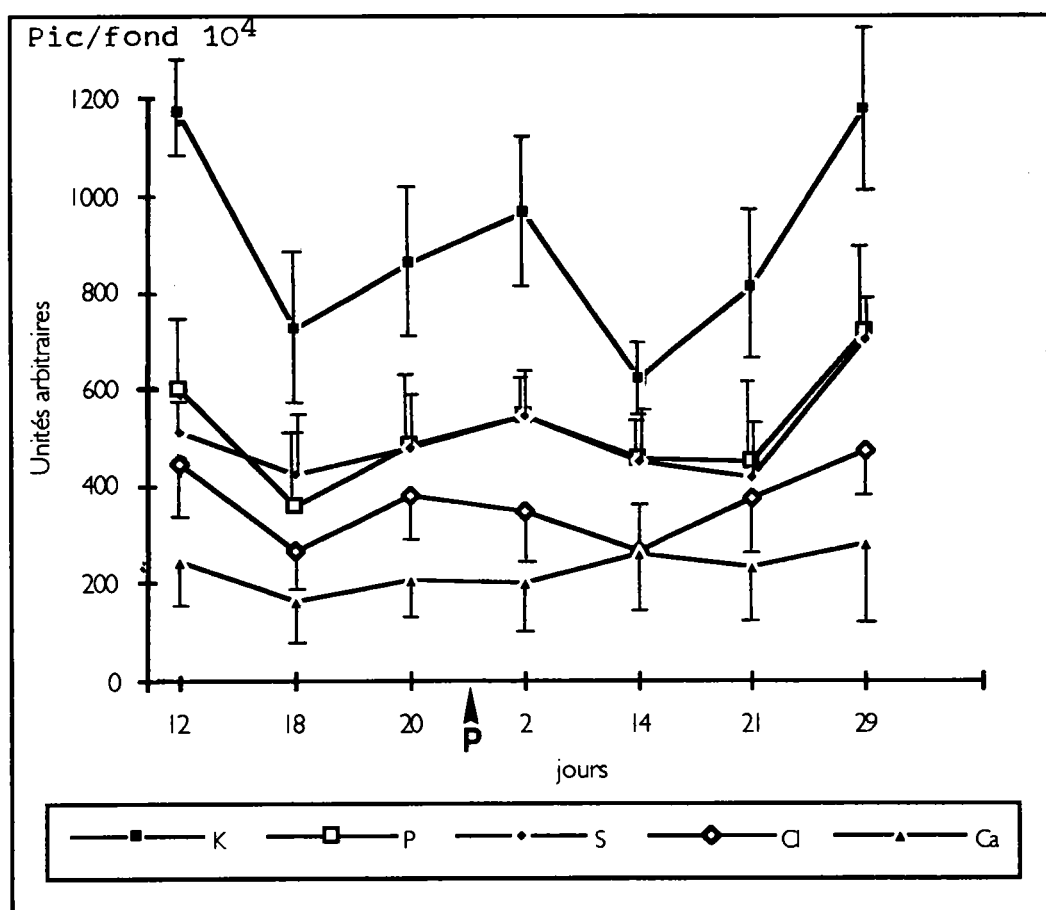


Fig 17b : Concentration des éléments chez la rate gestante et en lactation **P**: Parturition

potassium, du calcium, du chlore et de l'aluminium (Planche II). Il se forme des agrégats quelle que soit la densité de l'élément puisque celle-ci diminue du potassium à l'aluminium.

Les répartitions de P et S semblent évoluer de manière parallèle au cours du développement (Planche III) ; au 18ème jour, ils sont répartis par zones et leur densité est moyenne. Au stade + 7 jours après la naissance, leur densité est faible et au 15ème jour, elle est importante ; dans les deux cas ils sont uniformément répartis.

2.2. Variation des principaux éléments chimiques de l'épithélium intestinal chez la femelle vierge, la femelle gestante et la femelle en lactation.

2.2.1. Minéralisation chez la femelle gestante et la femelle en lactation

Comme le montre la figure 17a, la minéralisation de l'épithélium ne varie pas entre les jours 12 et 20 de gestation, puis diminue de 22,3 % jusqu'au jour post natal + 2. Ensuite elle demeure constante.

2.2.2. Concentration des éléments chez la femelle gestante et chez la femelle en lactation.

La figure 17b représente l'évolution de la concentration des principaux éléments.

Le potassium est toujours l'élément le plus concentré. Il diminue de façon marquée (38 %) entre les jours 12 et 18 de gestation, puis entre les jours post-nataux +2 et +14 (35,5 %). Ensuite sa concentration augmente significativement jusqu'au jour + 29 (test de Student ; $p < 0,001$). A ce dernier stade, 8 jours après le sevrage, les valeurs sont similaires à celles d'une femelle vierge âgée de 3 mois.

Tout comme K, P et Cl diminuent entre les jours 12 et 18 chez la femelle gestante (40 et 45 %, respectivement). Après une augmentation de 51,3 % jusqu'au stade + 2, la concentration de P ne change plus, excepté au jour + 29. La concentration de Cl augmente significativement

entre le 18ème jour de gestation et le jour post natal +29 (test ; $p < 0,001$), avec une valeur minimale transitoire au jour 14.

Excepté au stade 29 pour S, les valeurs de S et de Ca ne diffèrent jamais significativement entre les femelles gestantes et les femelles en lactation ; Ca étant toujours l'élément le moins concentré.

Tableau 41 : Evolution de la concentration (%) des éléments Cu, Zn, Al et Fe dans le duodenum chez la femelle au cours de la gestation, de la lactation et après le sevrage.

âge (jours)	période de gestation			période de lactation			après sevrage 29
	12	18	20	2	14	21	
Elément (%)							
Cu	1,48 ± 1,60	6,10 ± 4,13	1,99 ± 1,84	1,92 ± 0,77	7,27 ± 5,63	10,59 ± 6,32	2,91 ± 1,13
Zn	1,65 ± 3,65	4,16 ± 2,56	1,96 ± 1,67	3,53 ± 0,95	6,33 ± 2,61	5,58 ± 4,89	4,19 ± 1,60
Al	0,23 ± 0,20	0,66 ± 0,55	0,34 ± 0,50	0,50 ± 0,26	0,64 ± 0,57	0,97 ± 0,63	0,41 ± 0,19
Fe	2,28 ± 1,16	2,46 ± 0,72	3,45 ± 3,07	3,84 ± 2,16	2,36 ± 1,64	1,84 ± 0,43	2,25 ± 0,91

Comme l'indique le tableau 41, les éléments Cu et Zn varient de la même façon durant la gestation et la lactation. En particulier leur concentration diminue fortement durant deux périodes de la gestation : les 12 premiers jours, puis entre les jours 18 et 20.

Des traces d'aluminium et de fer ont également été détectées. Comparé à la totalité des 9 autres éléments étudiés, leur pourcentage ne varie pas au cours de la gestation et de la lactation. Leur valeur est toujours inférieure à 1 et 4 %, respectivement.

2.2.3. Distribution des éléments chez la femelle gestante, la femelle en lactation et la femelle vierge

Le tableau 42 résume les observations de l'ensemble des images X qui ont été réalisées sur les échantillons de duodenum des trois types de femelles.

Tableau 42 : Densité et répartition des principaux éléments chimiques de l'épithélium intestinal durant la gestation, la lactation et chez la femelle vierge

période		femelle en gestation		femelle en lactation			femelle vierge
âge en jours		18	20	14	17	21	
K	densité	+++	++	++	+++	+++	+++
	répartition	□	□	□	♥	♥	♥
P	densité	++	+	++	+++	++	+++
	répartition	♥	□	♥▲	♥▲	♥	♥
S	densité	++	++	+	++	++	++
	répartition	□	□	□	□	□	□
Ca	densité	++	+	++	+++	++	+++
	répartition	♥	□	♥▲	♥▲	♥	♥

Densité : +++ importante

++ moyenne

+ faible

répartition : □ uniforme

♥ par zones

▲ avec agrégats

éléments ayant la même densité et la même répartition

La densité des éléments K, P et Ca diminue du 18ème au 20ème jour de gestation (Tableau 42). Au 20ème jour de gestation et au 14ème jour de lactation, ces mêmes éléments sont moins denses que chez une femelle vierge de même âge (Tableau 42, Planches IV et V). La densité de l'élément S varie très peu, et les éléments P et Ca sont ceux qui présentent le plus souvent une zonation ou des agrégats (Tableau 42).

La répartition ou la densité d'un élément donné n'est pas la même selon que la femelle est en lactation ou en gestation. Ainsi, lorsque l'on compare le 18ème jour de gestation avec le 14ème jour de lactation, la densité du phosphore reste la même alors que sa zonation s'accroît au cours du second stade ; il se forme même des agrégats. A l'inverse, la répartition de K reste uniforme alors que sa densité diminue (Planche VI).

PLANCHE IV

Densité et répartition des éléments K, Ca, P et S dans les cellules épithéliales intestinales chez la femelle vierge et chez la femelle gestante (jour 20 de gestation)

Légende des photographies :

- a. Image X du potassium chez la femelle vierge
- b. Image X du potassium chez la femelle gestante
- c. Image X du calcium chez la femelle vierge
- d. Image X du calcium chez la femelle gestante
- e. Image X du phosphore chez la femelle vierge
- f. Image X du phosphore chez la femelle gestante
- g. Image X du soufre chez la femelle vierge
- h. Image X du soufre chez la femelle gestante.

Commentaire :

La gestation entraîne une diminution de la densité des éléments K, Ca, P mais pas de l'élément S. Les images X a, c, e, g d'une part, et les photographies b, d, f, h d'autre part ont été faites sur la même surface d'épithélium intestinal. Selon les images X a et c, il semble que les éléments K et Ca se répartissent de façon complémentaire dans les zones délimitées par les étoiles. Au contraire, dans les images X f et h, la concentration des éléments P et S semble diminuer dans les mêmes zones.

Le nombre insuffisant de photographies ne permet pas de dire si la répartition des éléments est affectée par la gestation.

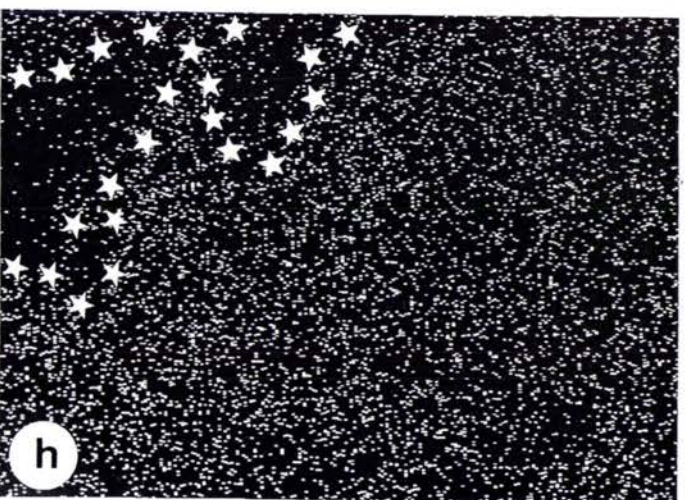
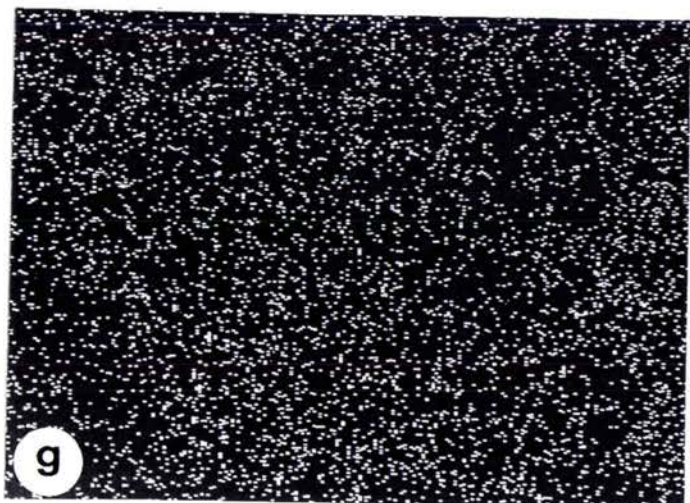
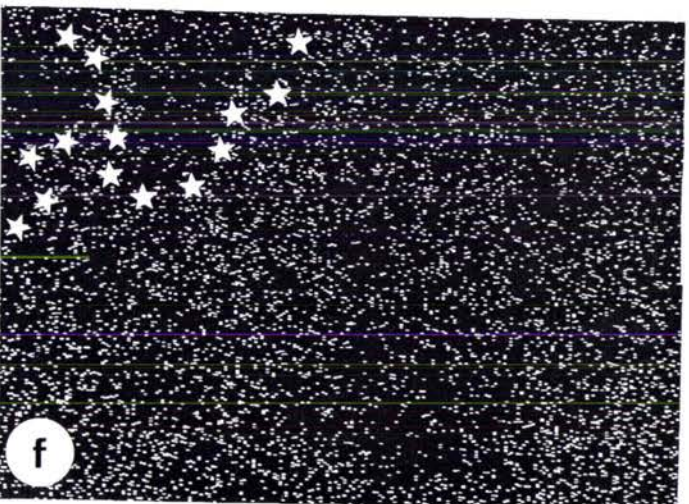
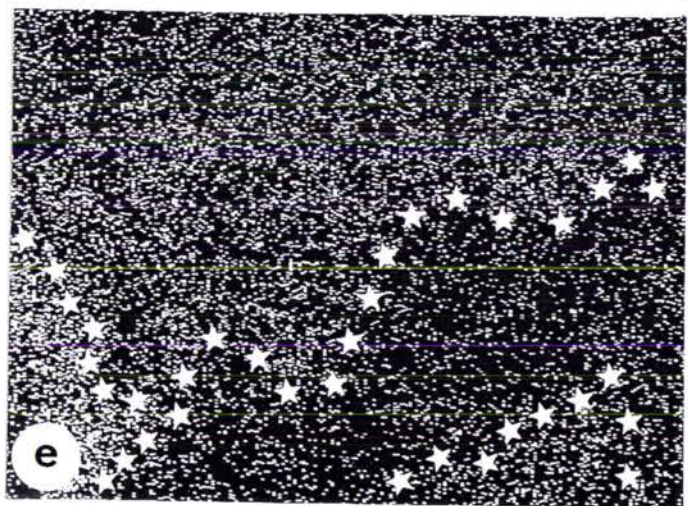
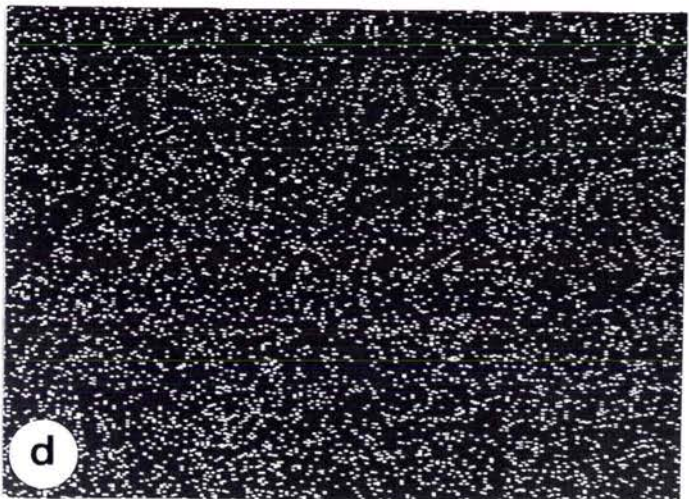
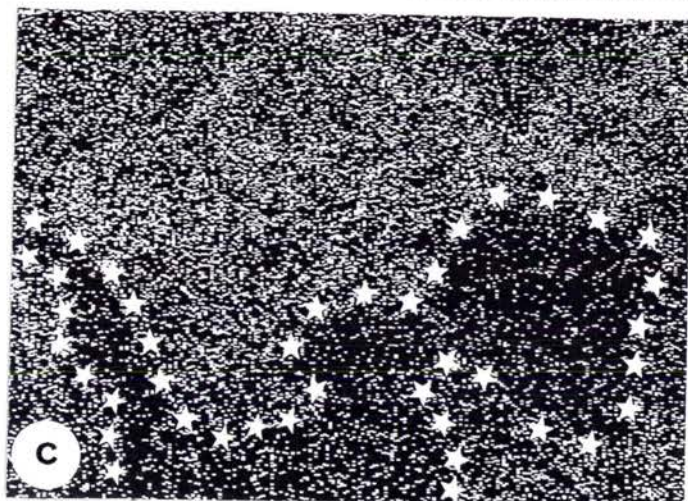
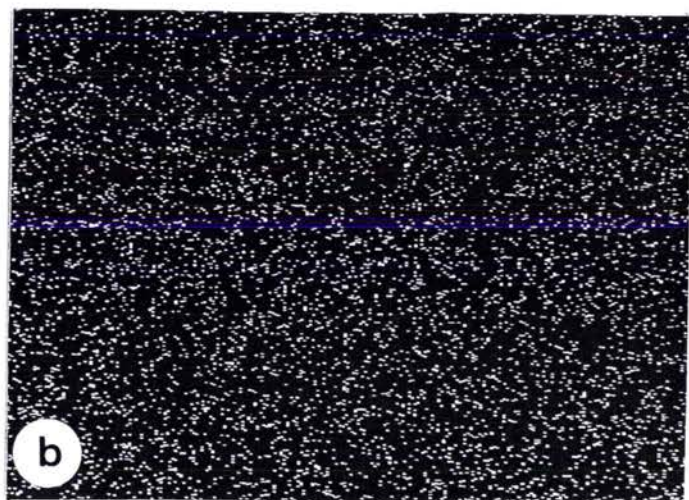
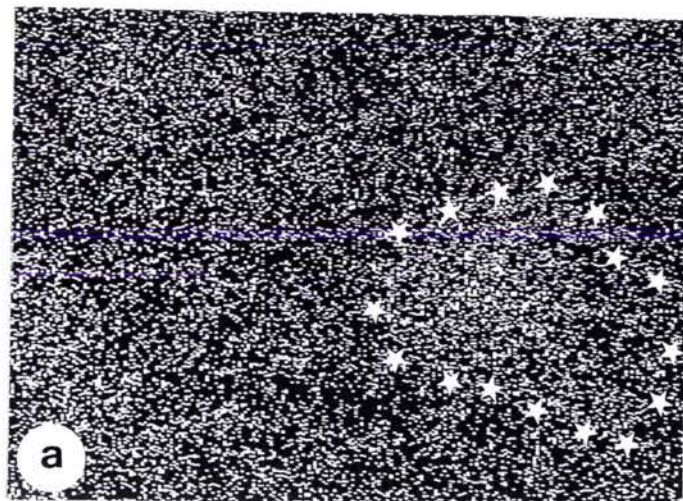


PLANCHE V

Densité et répartition des éléments K, Ca, P et S dans les cellules épithéliales intestinales chez la femelle vierge et chez la femelle allaitante (jour 14 de lactation)

Légende des photographies :

- a. Image X du potassium chez la femelle vierge
- b. Image X du potassium chez la femelle allaitante
- c. Image X du calcium chez la femelle vierge
- d. Image X du calcium chez la femelle allaitante
- e. Image X du phosphore chez la femelle vierge
- f. Image X du phosphore chez la femelle allaitante
- g. Image X du soufre chez la femelle vierge
- h. Image X du soufre chez la femelle allaitante.

Commentaire :

L'allaitement entraîne une très forte diminution de la densité des éléments K, Ca, P et S dans la cellule épithéliale intestinale. Chez la femelle vierge, l'élément Ca se concentre en certaines plages (fig c) ; chez la femelle allaitante, il forme plutôt des agrégats (fig d).

La comparaison des fig d et f révèle que les éléments Ca et P se trouvent au sein des mêmes agrégats - mais ces derniers sont moins denses dans la fig f que dans la fig d ; P est probablement associé à Ca, mais à une concentration plus faible.

La comparaison des photographies des planches IV et V montre que l'allaitement entraîne une diminution plus importante de la concentration des éléments K, Ca P que la gestation. Quant à l'élément S, il diminue lors de l'allaitement mais pas pendant la gestation.

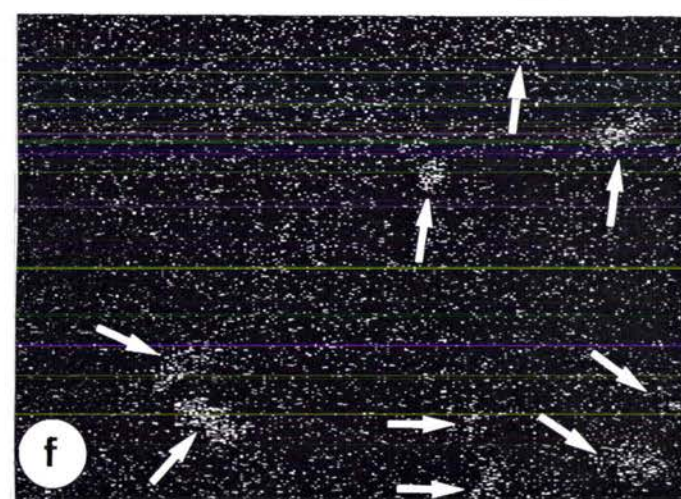
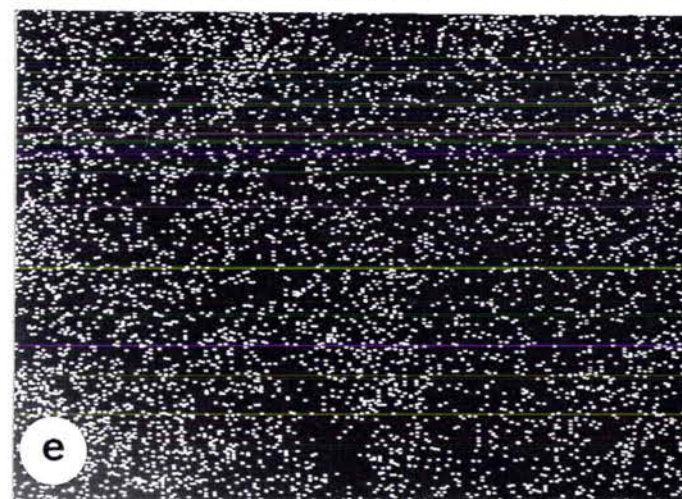
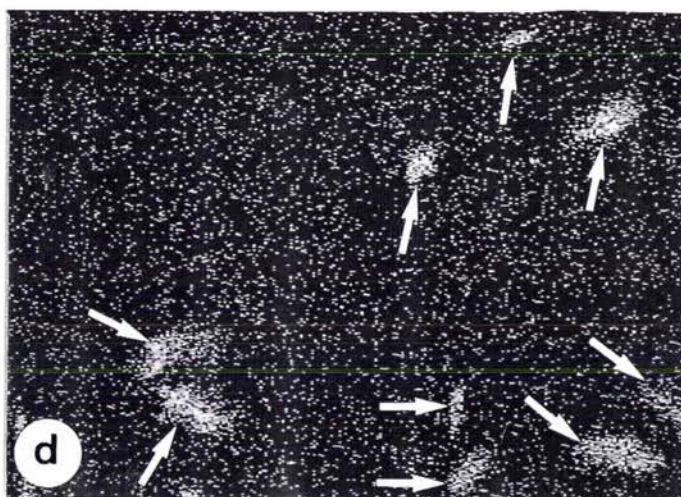
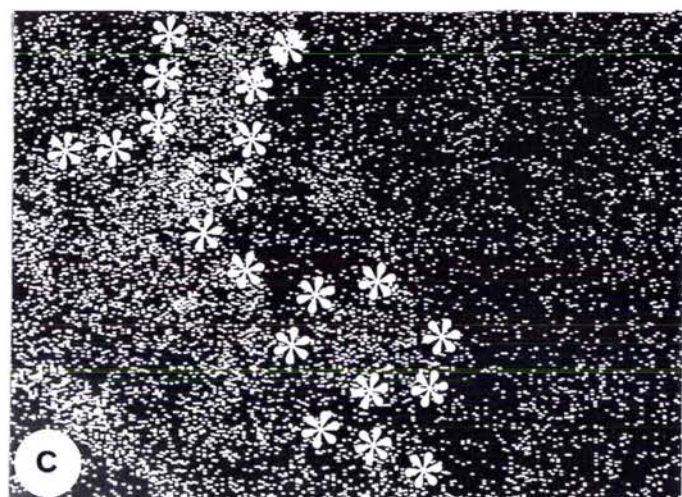
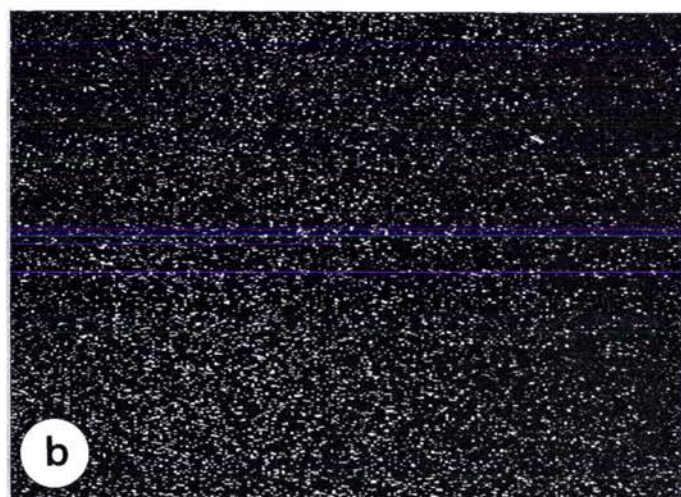
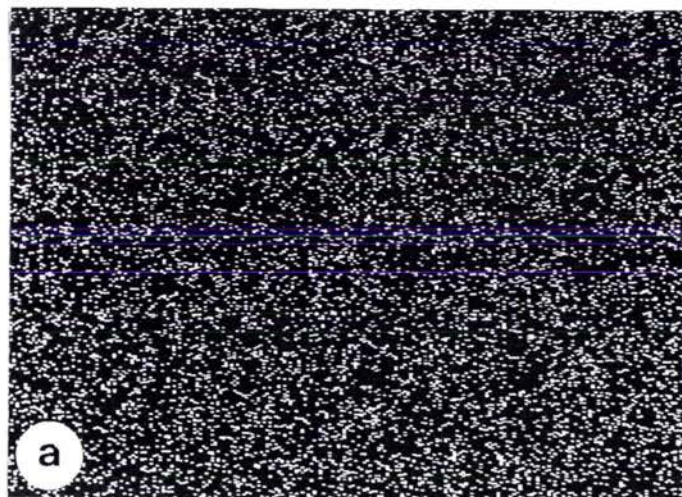


PLANCHE VI

Densité et répartition des éléments P et K dans les cellules épithéliales intestinales au jour 18 de gestation et au jour 14 de lactation

Légendes des photographies :

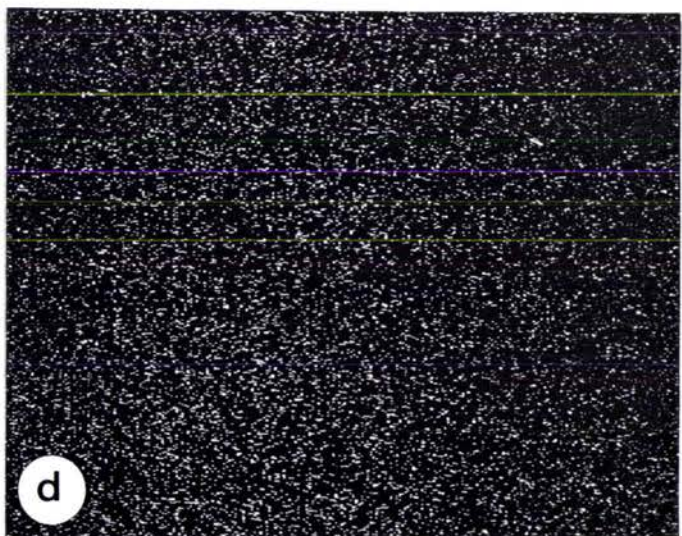
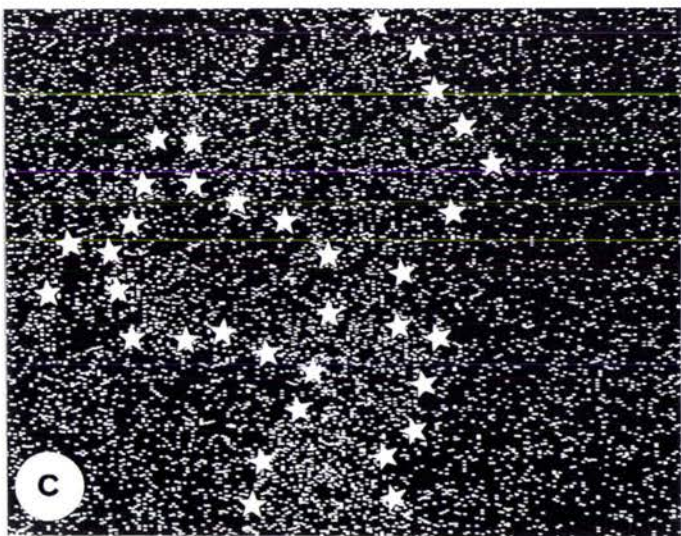
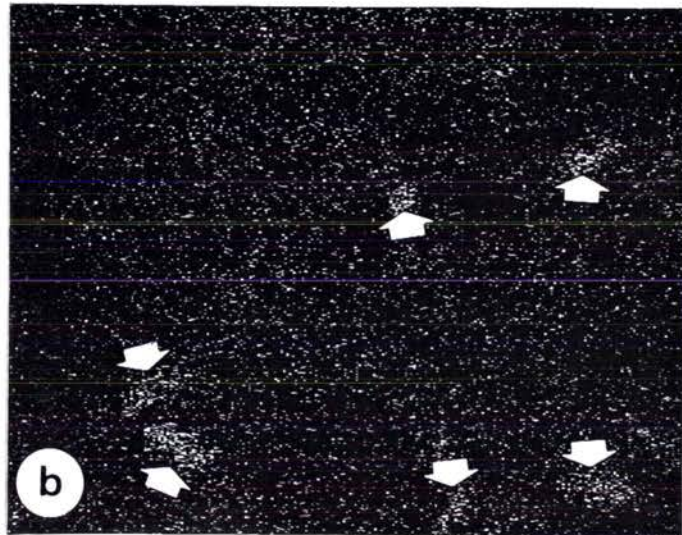
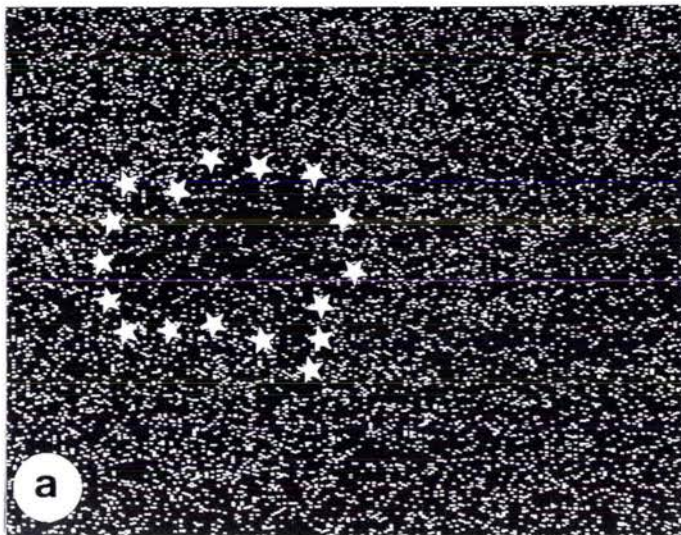
- a. Image X de l'élément P au jour 18 de gestation
- b. Image X de l'élément P au jour 14 de lactation
- c. Image X de l'élément K au jour 18 de gestation
- d. Image X de l'élément K au jour 14 de lactation

Commentaire :

la densité des éléments K et P est beaucoup plus faible au jour 14 de lactation qu'au jour 18 de gestation.

Au jour 18 de gestation, les deux éléments semblent se concentrer par plages. Au jour 14 de lactation, le phosphore présente des agrégats alors que le potassium est uniformément réparti.

Ces observations sont identiques à celles des images X n° f (élément P) et n° b (élément K) de la planche V. Ainsi l'allaitement influence nettement la densité et la répartition de l'élément P.



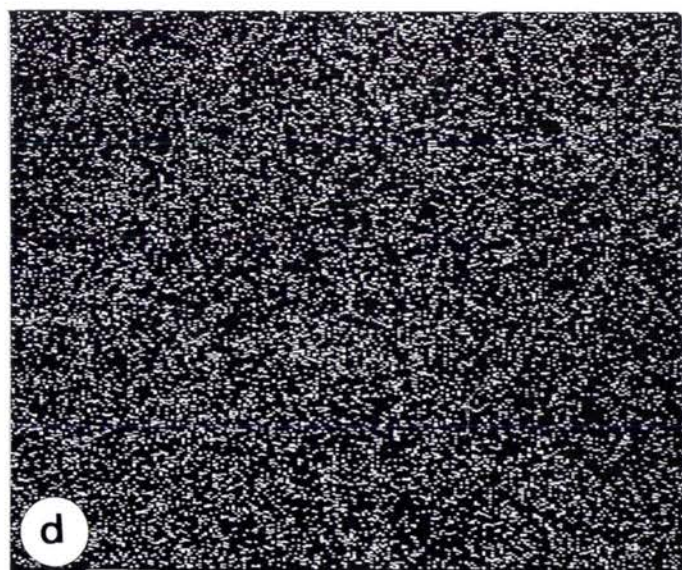
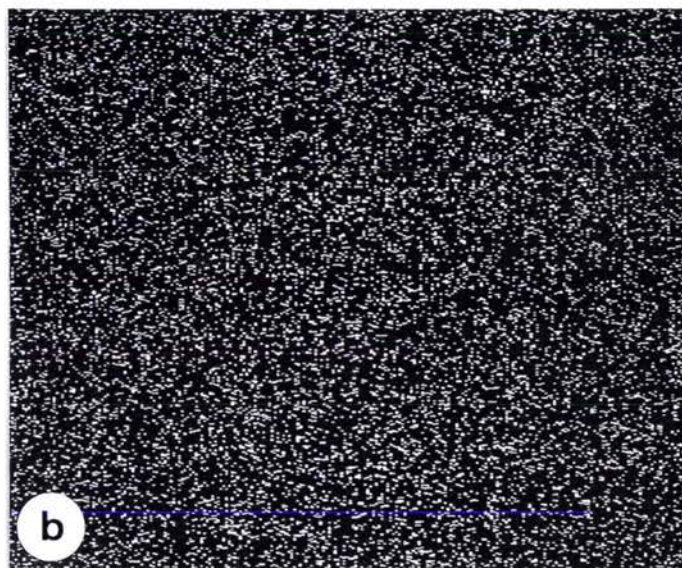
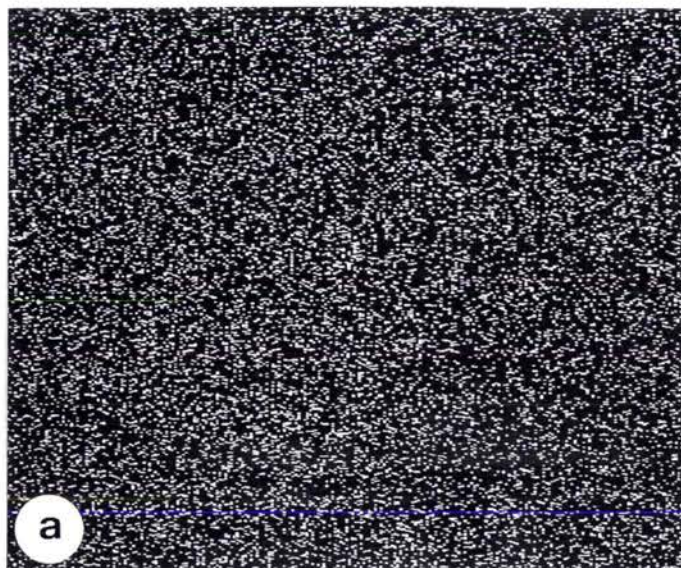


PLANCHE II

Quelques éléments disposés en agrégats dans les cellules épithéliales intestinales chez le jeune rat à différents stades du développement

Légende des photographies :

- a. Image X du potassium au stade - 1 j
- b. Image X du potassium au stade - 3 j
- c. Image X du calcium au stade + 2 j
- d. Image X du calcium au stade + 7 j
- e. Image X de l'aluminium au stade + 7 j
- f. Image X de l'aluminium au stade + 2 j.

Commentaire :

Les éléments K, Ca, Al présentent des agrégats. Le nombre de photographies est insuffisant pour affirmer que certains éléments se présentent davantage sous forme d'agrégats à certains stades du développement plutôt qu'à d'autres.

L'élément K apparaît toujours plus dense que l'élément Ca, lui-même toujours plus dense que Al. La présence d'agrégats n'est donc pas directement liée à la densité. L'élément Ca semble être celui qui présente le plus souvent des agrégats comme les montrent les planches IV c, Vc et d.

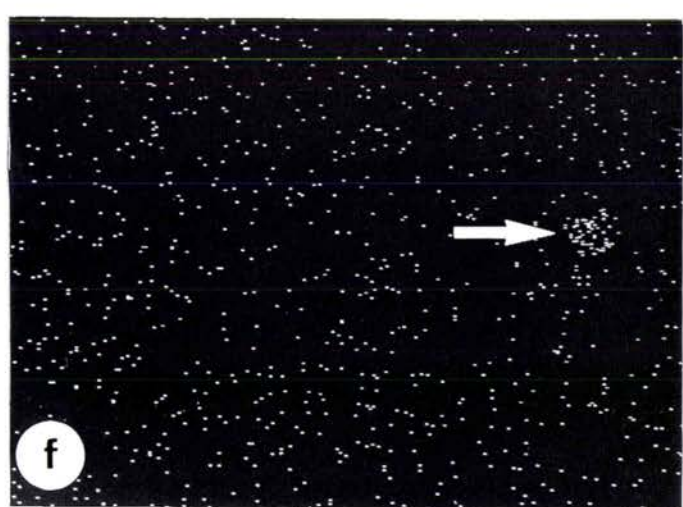
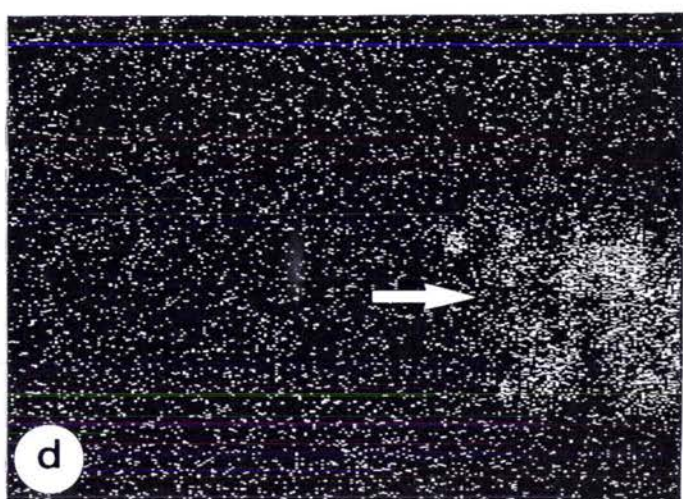
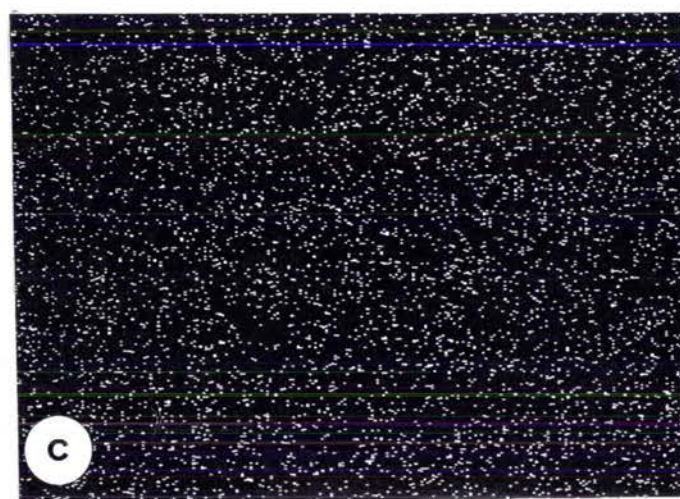
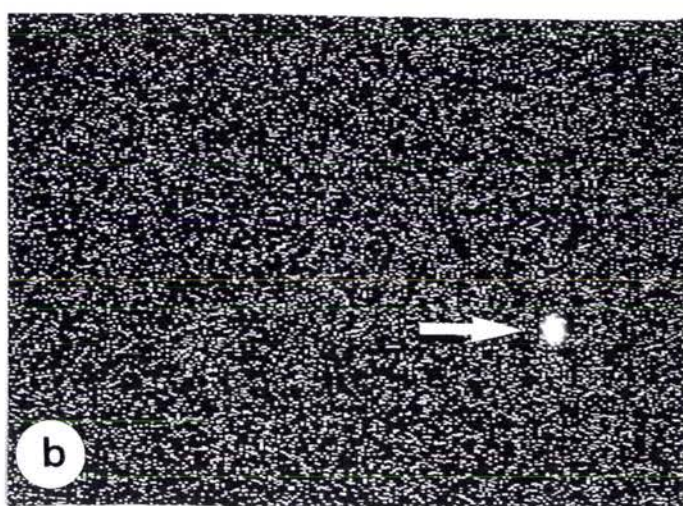
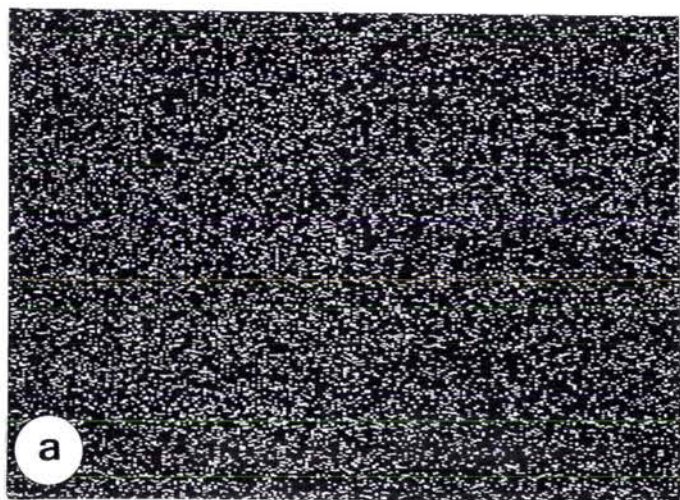


PLANCHE III

Evolution de la densité des éléments P et S dans les cellules épithéliales intestinales au cours du développement.

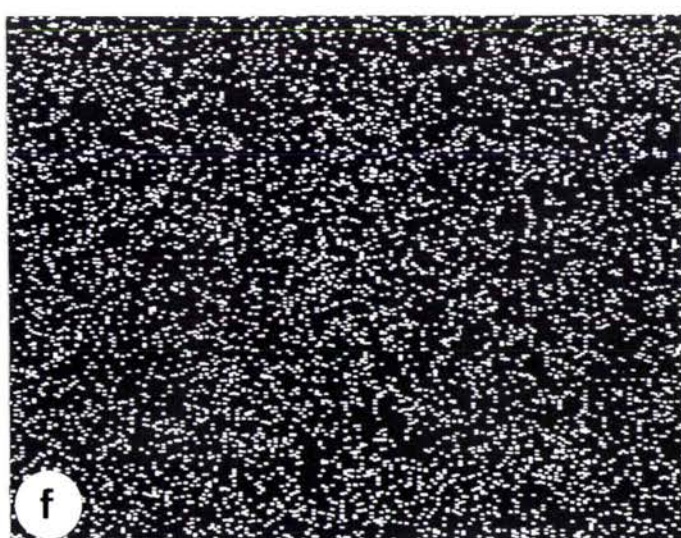
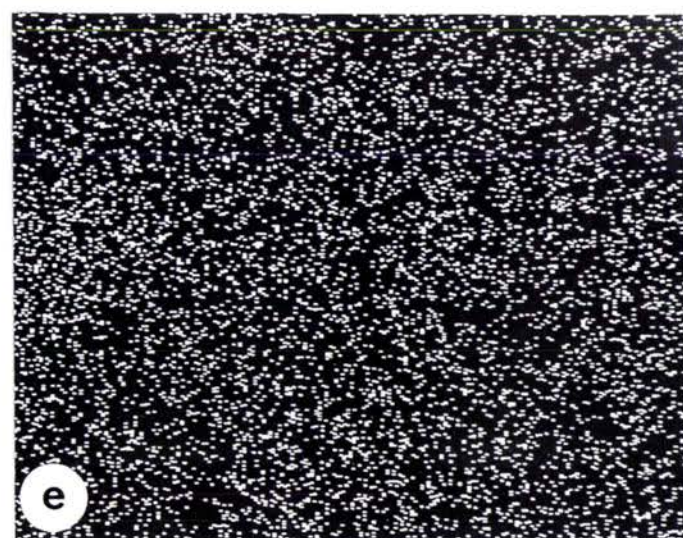
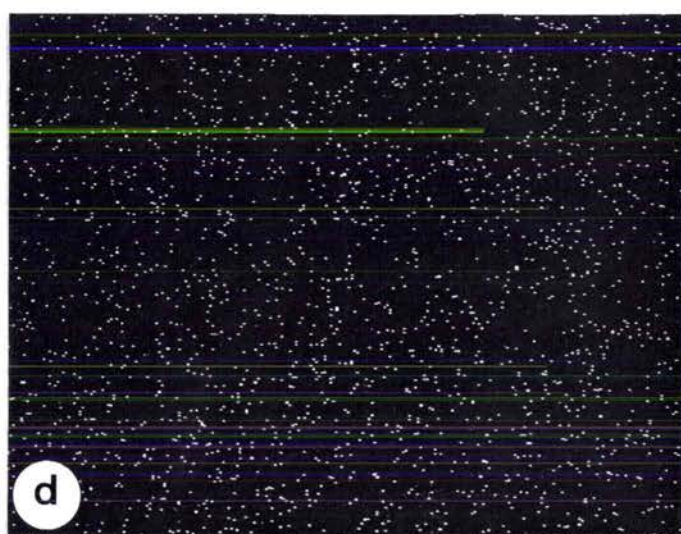
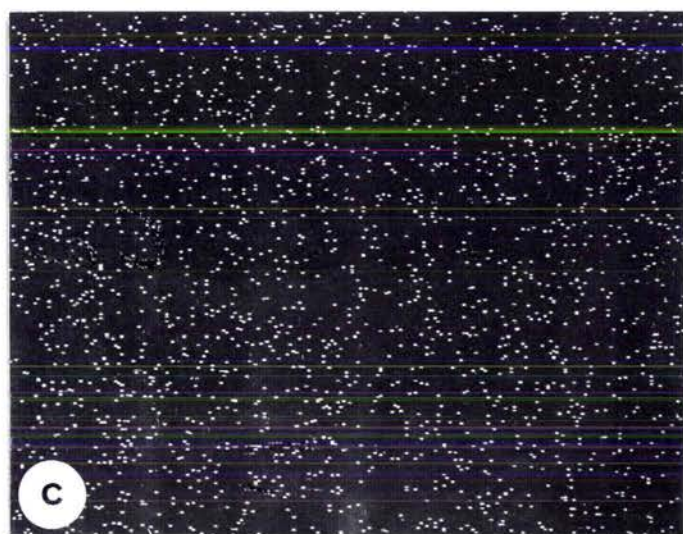
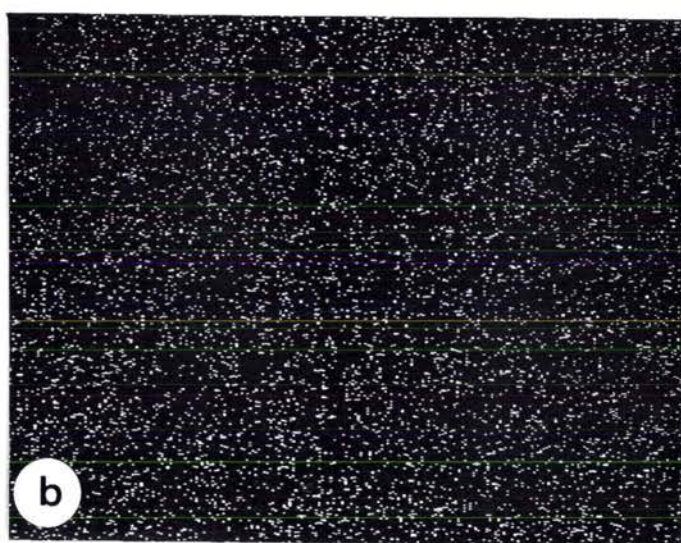
Légende des photographies :

- a. Image X du phosphore au stade - 3 j
- b. Image X du soufre au stade - 3 j
- c. Image X du phosphore au stade + 7 j
- d. Image X du soufre au stade + 7 j
- e. Image X du phosphore au stade + 15 j
- f. Image X du soufre au stade + 15 j.

Commentaire :

La densité des éléments P et S est moyenne au stade - 3 j, faible au stade + 7 j et importante au stade + 15 j.

Leur concentration évolue donc de façon similaire entre le stade - 3 j et le stade + 15 j ; leur répartition est uniforme.



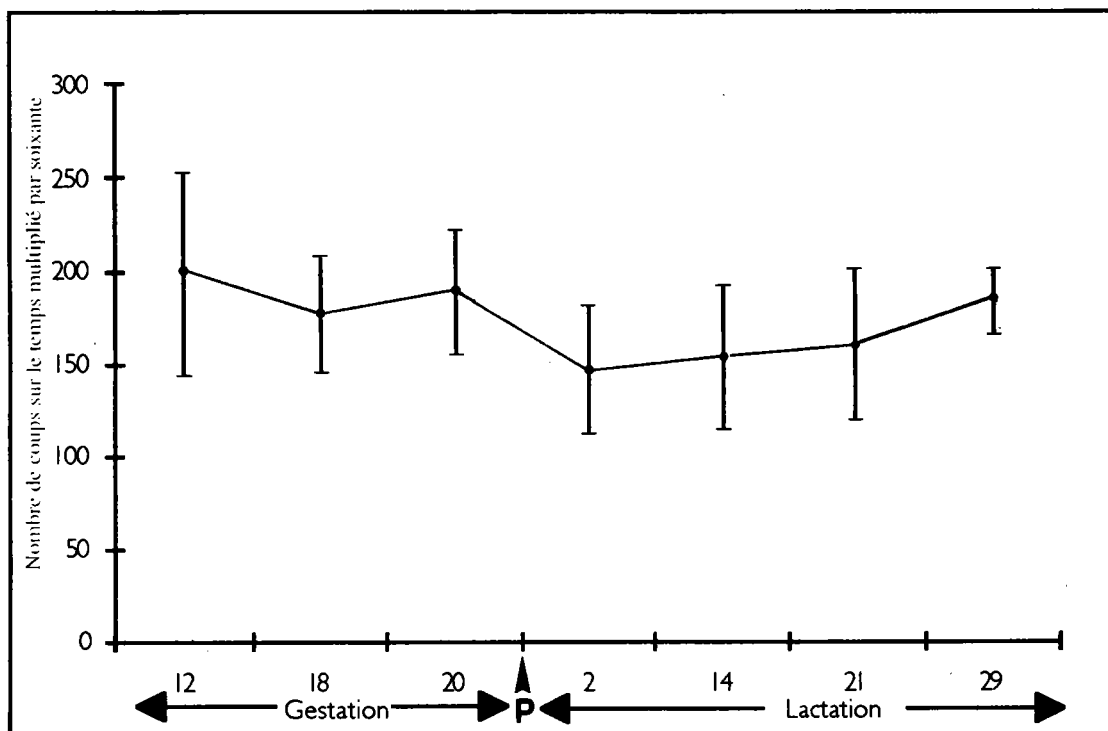


Fig 17a : Evolution de la minéralisation de l'épithélium intestinal chez la rate gestante et en lactation. **P: Parturition**

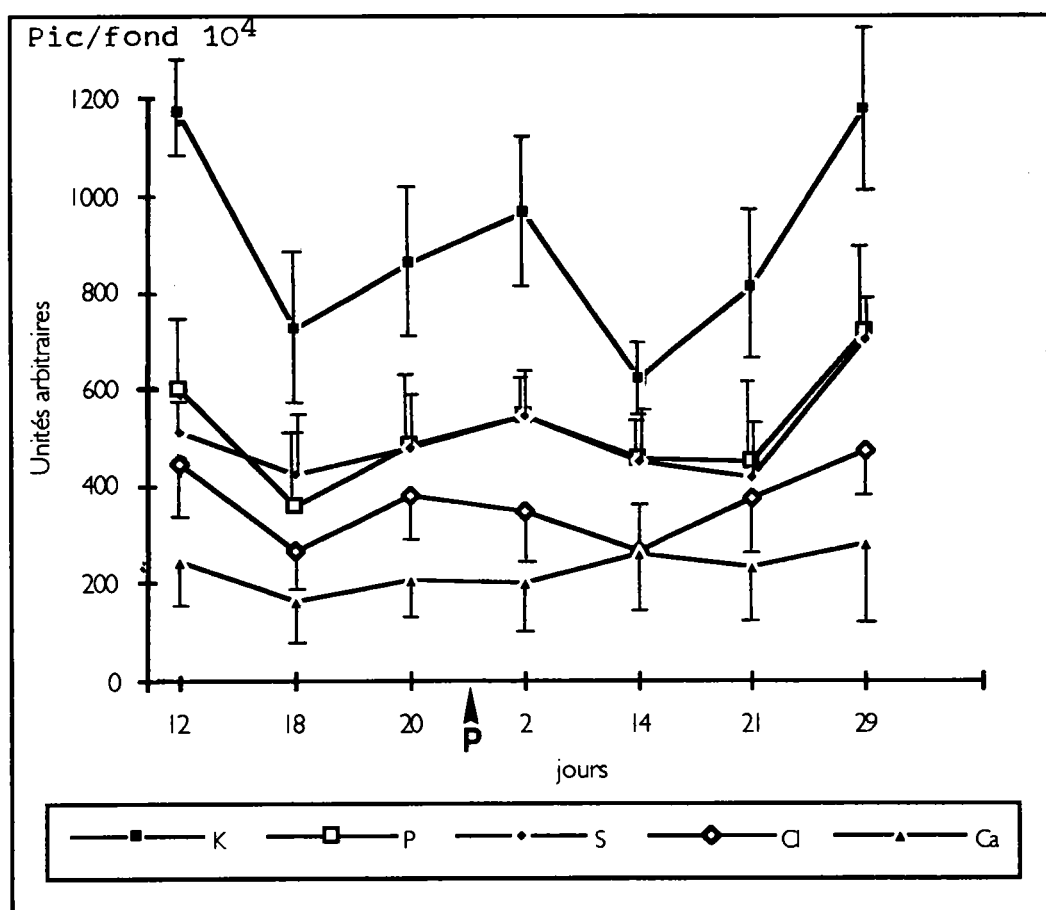


Fig 17b : Concentration des éléments chez la rate gestante et en lactation **P: Parturition**

potassium, du calcium, du chlore et de l'aluminium (Planche II). Il se forme des agrégats quelle que soit la densité de l'élément puisque celle-ci diminue du potassium à l'aluminium.

Les répartitions de P et S semblent évoluer de manière parallèle au cours du développement (Planche III) ; au 18ème jour, ils sont répartis par zones et leur densité est moyenne. Au stade + 7 jours après la naissance, leur densité est faible et au 15ème jour, elle est importante ; dans les deux cas ils sont uniformément répartis.

2.2. Variation des principaux éléments chimiques de l'épithélium intestinal chez la femelle vierge, la femelle gestante et la femelle en lactation.

2.2.1. Minéralisation chez la femelle gestante et la femelle en lactation

Comme le montre la figure 17a, la minéralisation de l'épithélium ne varie pas entre les jours 12 et 20 de gestation, puis diminue de 22,3 % jusqu'au jour post natal + 2. Ensuite elle demeure constante.

2.2.2. Concentration des éléments chez la femelle gestante et chez la femelle en lactation.

La figure 17b représente l'évolution de la concentration des principaux éléments.

Le potassium est toujours l'élément le plus concentré. Il diminue de façon marquée (38 %) entre les jours 12 et 18 de gestation, puis entre les jours post-nataux +2 et +14 (35,5 %). Ensuite sa concentration augmente significativement jusqu'au jour + 29 (test de Student ; $p < 0,001$). A ce dernier stade, 8 jours après le sevrage, les valeurs sont similaires à celles d'une femelle vierge âgée de 3 mois.

Tout comme K, P et Cl diminuent entre les jours 12 et 18 chez la femelle gestante (40 et 45 %, respectivement). Après une augmentation de 51,3 % jusqu'au stade + 2, la concentration de P ne change plus, excepté au jour + 29. La concentration de Cl augmente significativement

entre le 18ème jour de gestation et le jour post natal +29 (test ; $p < 0,001$), avec une valeur minimale transitoire au jour 14.

Excepté au stade 29 pour S, les valeurs de S et de Ca ne diffèrent jamais significativement entre les femelles gestantes et les femelles en lactation ; Ca étant toujours l'élément le moins concentré.

Tableau 41 : Evolution de la concentration (%) des éléments Cu, Zn, Al et Fe dans le duodenum chez la femelle au cours de la gestation, de la lactation et après le sevrage.

âge (jours)	période de gestation			période de lactation			après sevrage 29
	12	18	20	2	14	21	
Elément (%)							
Cu	1,48 ± 1,60	6,10 ± 4,13	1,99 ± 1,84	1,92 ± 0,77	7,27 ± 5,63	10,59 ± 6,32	2,91 ± 1,13
Zn	1,65 ± 3,65	4,16 ± 2,56	1,96 ± 1,67	3,53 ± 0,95	6,33 ± 2,61	5,58 ± 4,89	4,19 ± 1,60
Al	0,23 ± 0,20	0,66 ± 0,55	0,34 ± 0,50	0,50 ± 0,26	0,64 ± 0,57	0,97 ± 0,63	0,41 ± 0,19
Fe	2,28 ± 1,16	2,46 ± 0,72	3,45 ± 3,07	3,84 ± 2,16	2,36 ± 1,64	1,84 ± 0,43	2,25 ± 0,91

Comme l'indique le tableau 41, les éléments Cu et Zn varient de la même façon durant la gestation et la lactation. En particulier leur concentration diminue fortement durant deux périodes de la gestation : les 12 premiers jours, puis entre les jours 18 et 20.

Des traces d'aluminium et de fer ont également été détectées. Comparé à la totalité des 9 autres éléments étudiés, leur pourcentage ne varie pas au cours de la gestation et de la lactation. Leur valeur est toujours inférieure à 1 et 4 %, respectivement.

2.2.3. Distribution des éléments chez la femelle gestante, la femelle en lactation et la femelle vierge

Le tableau 42 résume les observations de l'ensemble des images X qui ont été réalisées sur les échantillons de duodenum des trois types de femelles.

Tableau 42 : Densité et répartition des principaux éléments chimiques de l'épithélium intestinal durant la gestation, la lactation et chez la femelle vierge

période		femelle en gestation		femelle en lactation			femelle vierge
âge en jours		18	20	14	17	21	
K	densité	+++	++	++	+++	+++	+++
	répartition	□	□	□	♥	♥	♥
P	densité	++	+	++	+++	++	+++
	répartition	♥	□	♥▲	♥▲	♥	♥
S	densité	++	++	+	++	++	++
	répartition	□	□	□	□	□	□
Ca	densité	++	+	++	+++	++	+++
	répartition	♥	□	♥▲	♥▲	♥	♥

Densité : +++ importante

++ moyenne

+ faible

répartition : □ uniforme

♥ par zones

▲ avec agrégats

éléments ayant la même densité et la même répartition

La densité des éléments K, P et Ca diminue du 18ème au 20ème jour de gestation (Tableau 42). Au 20ème jour de gestation et au 14ème jour de lactation, ces mêmes éléments sont moins denses que chez une femelle vierge de même âge (Tableau 42, Planches IV et V). La densité de l'élément S varie très peu, et les éléments P et Ca sont ceux qui présentent le plus souvent une zonation ou des agrégats (Tableau 42).

La répartition ou la densité d'un élément donné n'est pas la même selon que la femelle est en lactation ou en gestation. Ainsi, lorsque l'on compare le 18ème jour de gestation avec le 14ème jour de lactation, la densité du phosphore reste la même alors que sa zonation s'accroît au cours du second stade ; il se forme même des agrégats. A l'inverse, la répartition de K reste uniforme alors que sa densité diminue (Planche VI).

PLANCHE IV

Densité et répartition des éléments K, Ca, P et S dans les cellules épithéliales intestinales chez la femelle vierge et chez la femelle gestante (jour 20 de gestation)

Légende des photographies :

- a. Image X du potassium chez la femelle vierge
- b. Image X du potassium chez la femelle gestante
- c. Image X du calcium chez la femelle vierge
- d. Image X du calcium chez la femelle gestante
- e. Image X du phosphore chez la femelle vierge
- f. Image X du phosphore chez la femelle gestante
- g. Image X du soufre chez la femelle vierge
- h. Image X du soufre chez la femelle gestante.

Commentaire :

La gestation entraîne une diminution de la densité des éléments K, Ca, P mais pas de l'élément S. Les images X a, c, e, g d'une part, et les photographies b, d, f, h d'autre part ont été faites sur la même surface d'épithélium intestinal. Selon les images X a et c, il semble que les éléments K et Ca se répartissent de façon complémentaire dans les zones délimitées par les étoiles. Au contraire, dans les images X f et h, la concentration des éléments P et S semble diminuer dans les mêmes zones.

Le nombre insuffisant de photographies ne permet pas de dire si la répartition des éléments est affectée par la gestation.

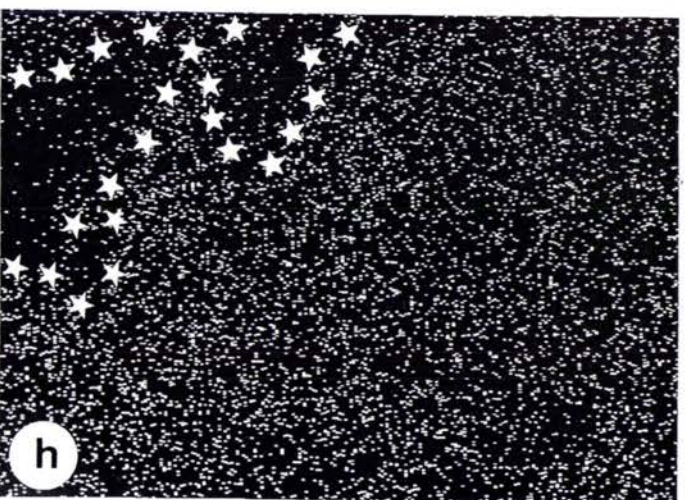
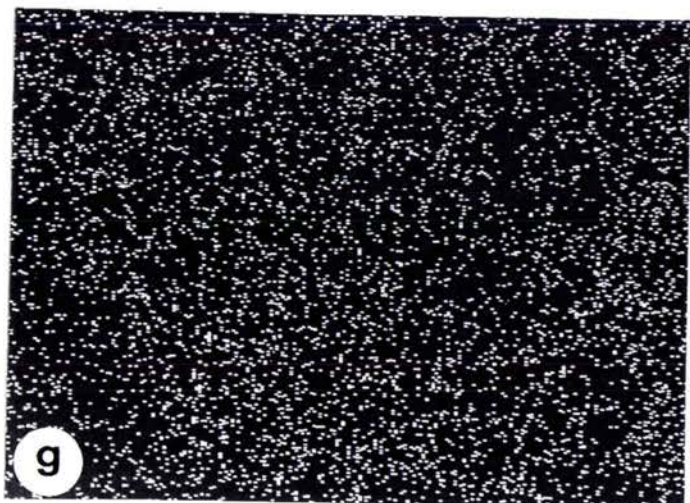
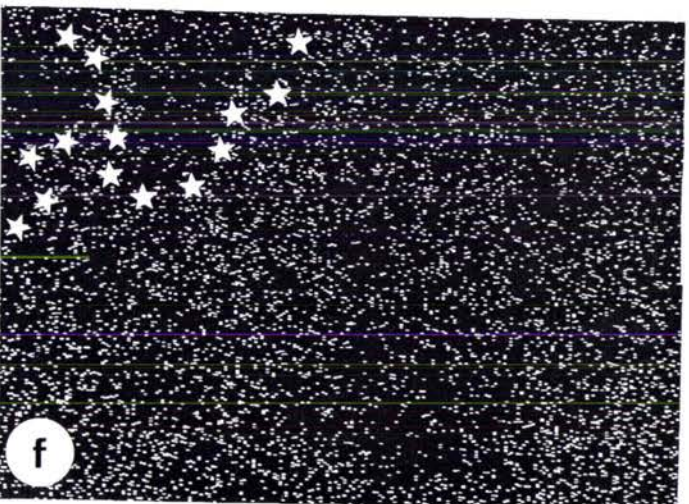
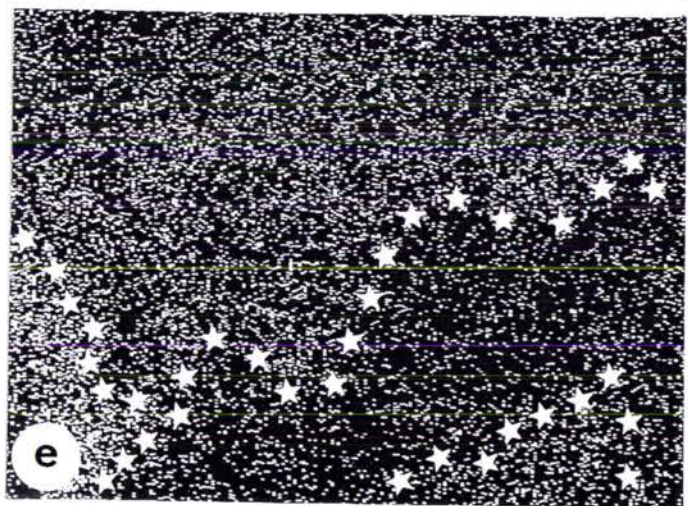
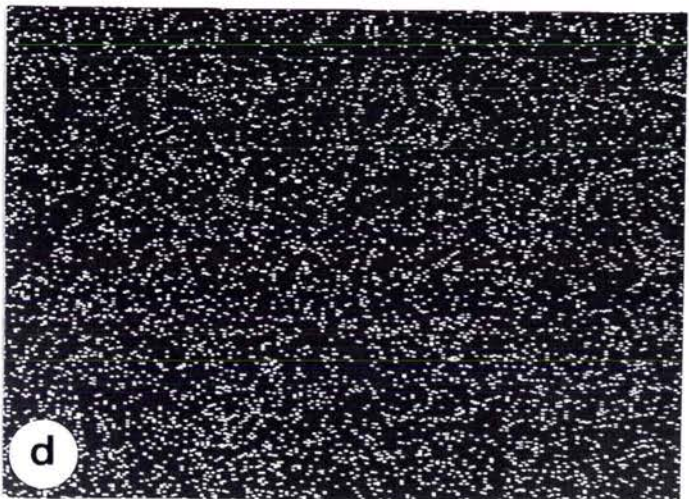
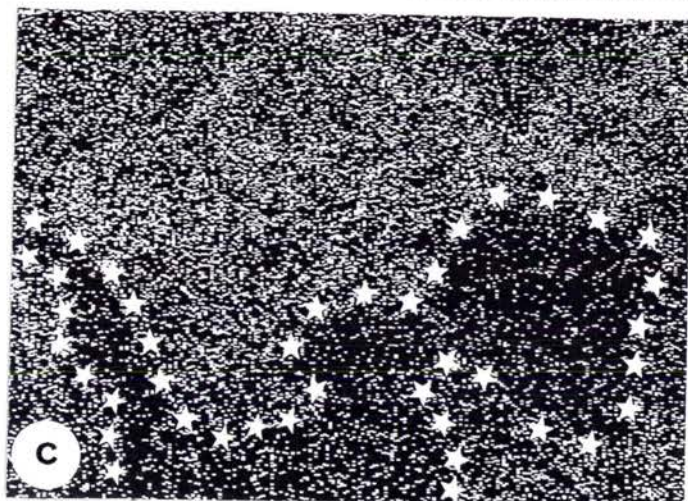
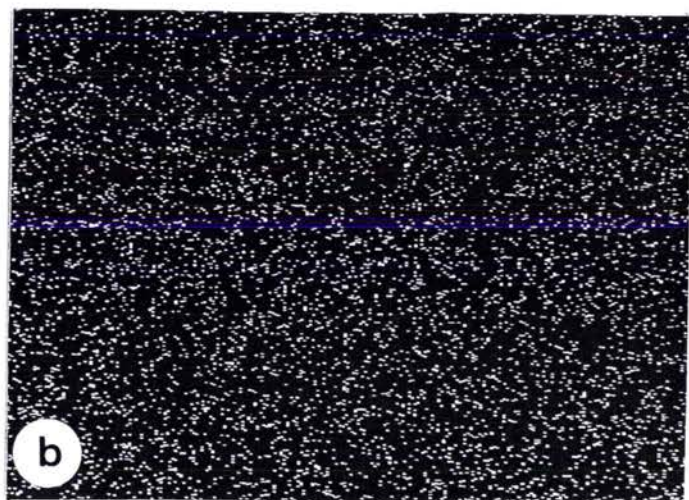
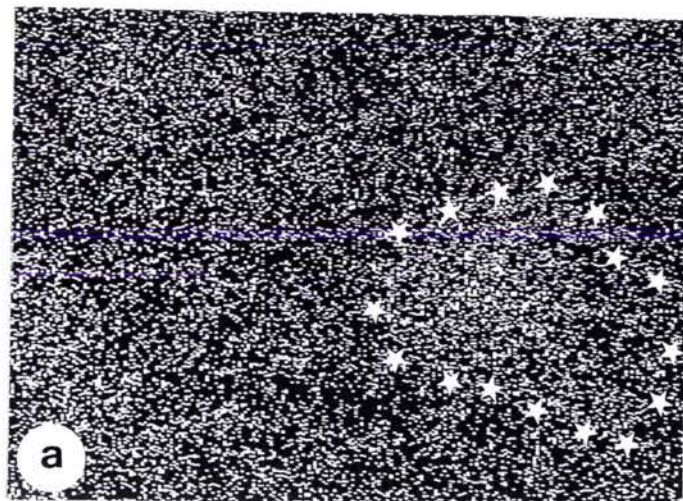


PLANCHE V

Densité et répartition des éléments K, Ca, P et S dans les cellules épithéliales intestinales chez la femelle vierge et chez la femelle allaitante (jour 14 de lactation)

Légende des photographies :

- a. Image X du potassium chez la femelle vierge
- b. Image X du potassium chez la femelle allaitante
- c. Image X du calcium chez la femelle vierge
- d. Image X du calcium chez la femelle allaitante
- e. Image X du phosphore chez la femelle vierge
- f. Image X du phosphore chez la femelle allaitante
- g. Image X du soufre chez la femelle vierge
- h. Image X du soufre chez la femelle allaitante.

Commentaire :

L'allaitement entraîne une très forte diminution de la densité des éléments K, Ca, P et S dans la cellule épithéliale intestinale. Chez la femelle vierge, l'élément Ca se concentre en certaines plages (fig c) ; chez la femelle allaitante, il forme plutôt des agrégats (fig d).

La comparaison des fig d et f révèle que les éléments Ca et P se trouvent au sein des mêmes agrégats - mais ces derniers sont moins denses dans la fig f que dans la fig d ; P est probablement associé à Ca, mais à une concentration plus faible.

La comparaison des photographies des planches IV et V montre que l'allaitement entraîne une diminution plus importante de la concentration des éléments K, Ca P que la gestation. Quant à l'élément S, il diminue lors de l'allaitement mais pas pendant la gestation.

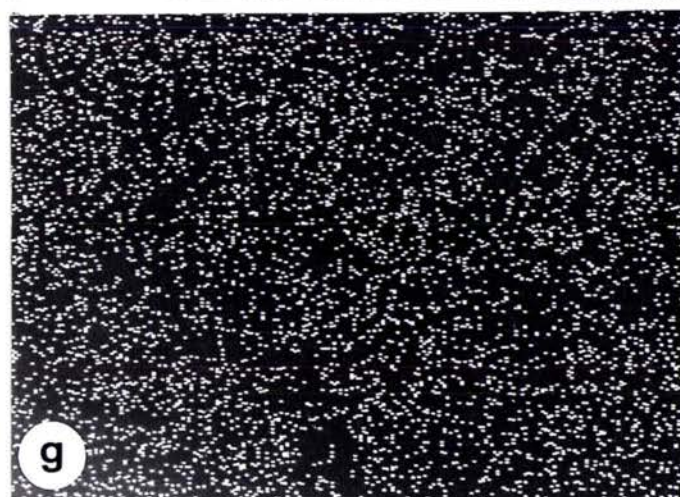
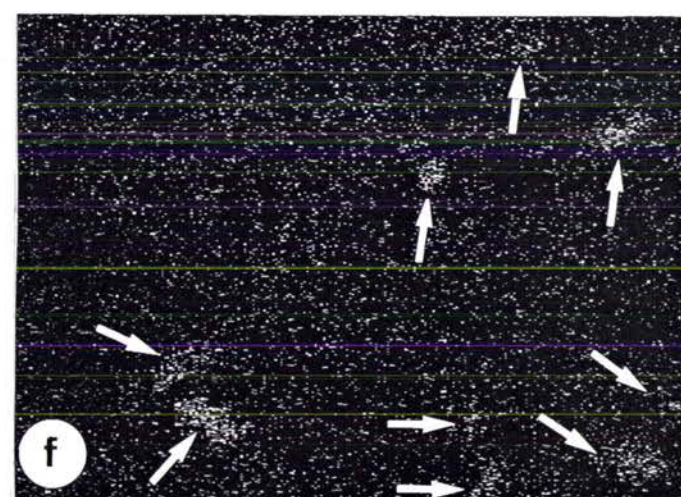
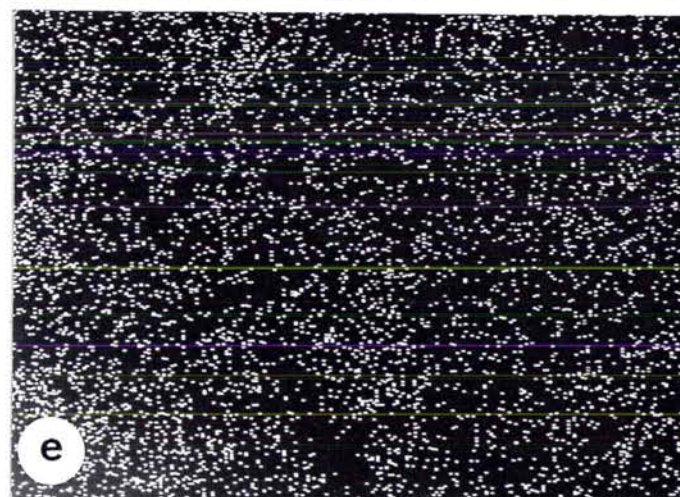
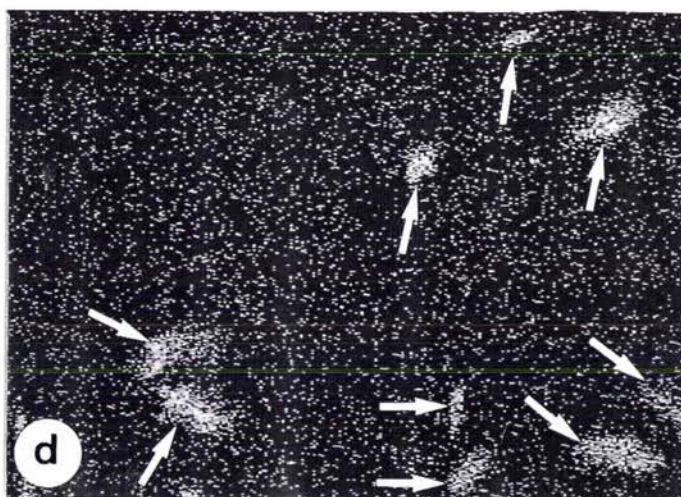
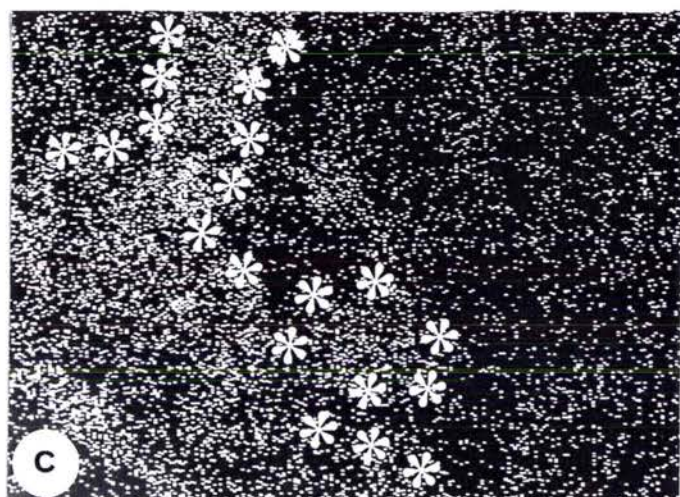
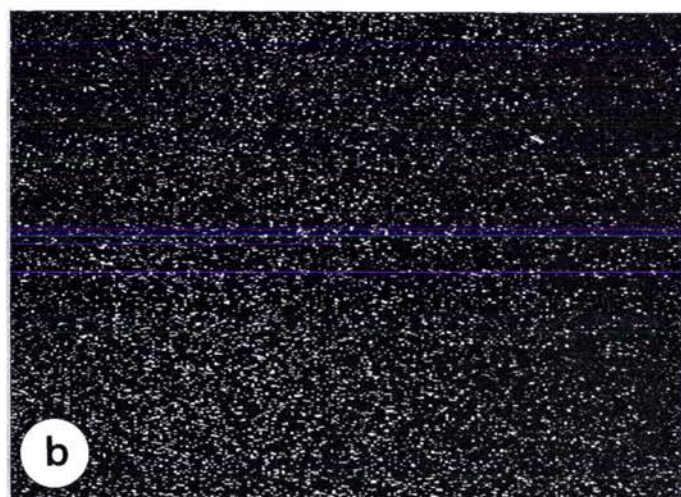
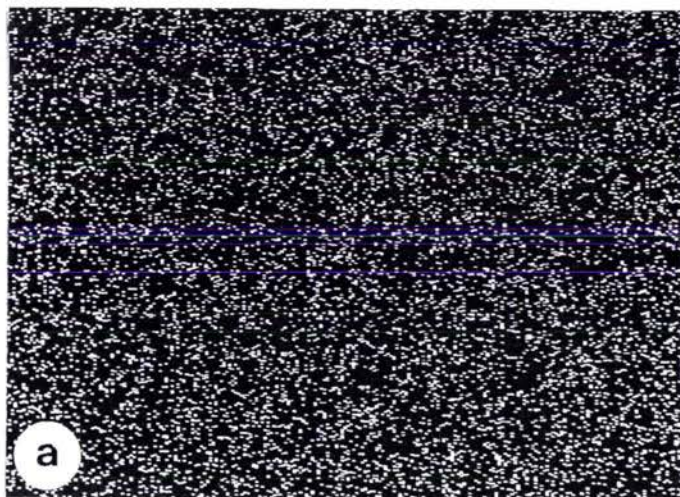


PLANCHE VI

Densité et répartition des éléments P et K dans les cellules épithéliales intestinales au jour 18 de gestation et au jour 14 de lactation

Légendes des photographies :

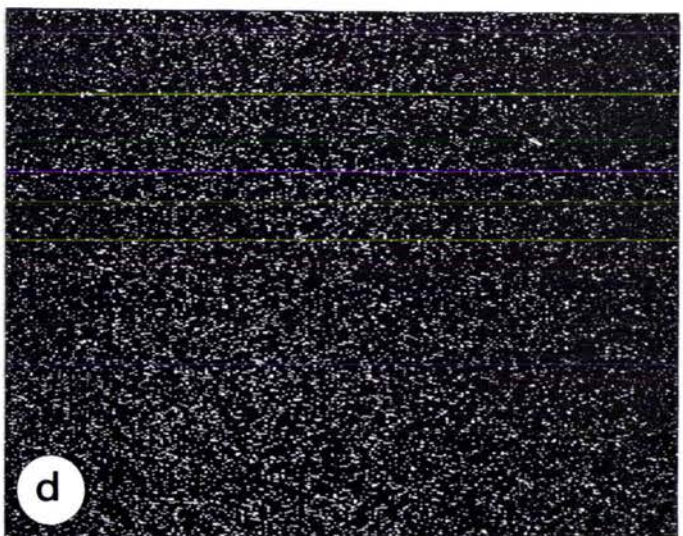
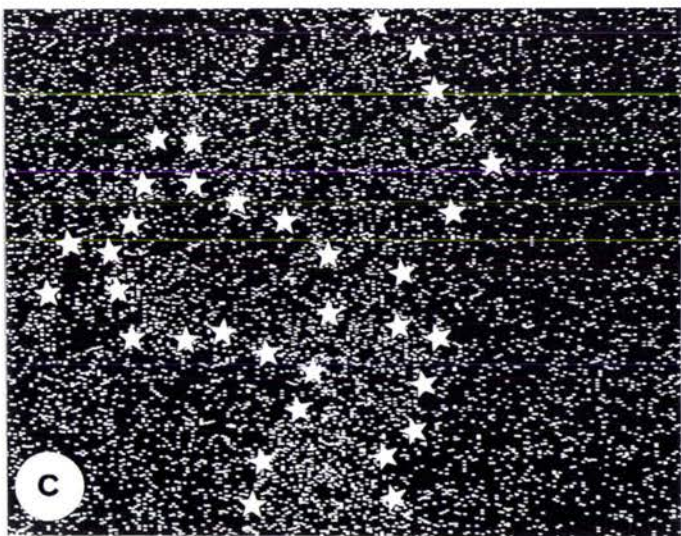
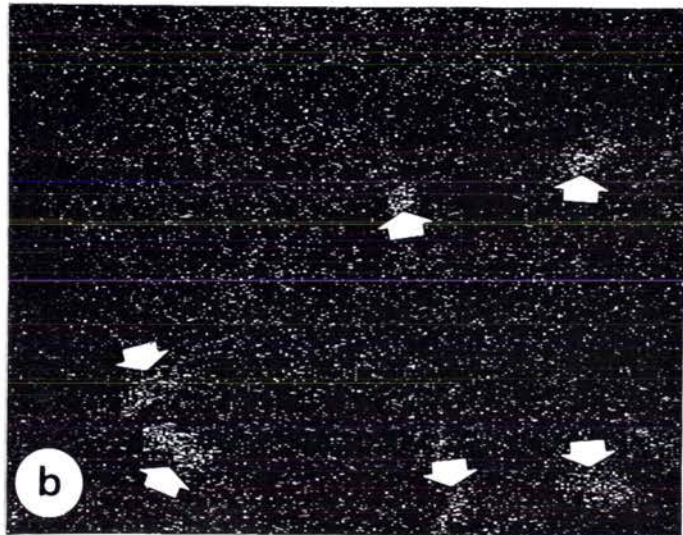
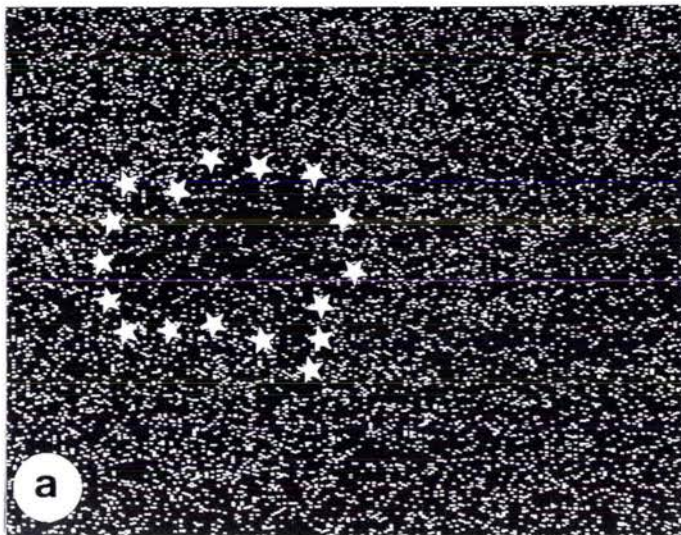
- a. Image X de l'élément P au jour 18 de gestation
- b. Image X de l'élément P au jour 14 de lactation
- c. Image X de l'élément K au jour 18 de gestation
- d. Image X de l'élément K au jour 14 de lactation

Commentaire :

la densité des éléments K et P est beaucoup plus faible au jour 14 de lactation qu'au jour 18 de gestation.

Au jour 18 de gestation, les deux éléments semblent se concentrer par plages. Au jour 14 de lactation, le phosphore présente des agrégats alors que le potassium est uniformément réparti.

Ces observations sont identiques à celles des images X n° f (élément P) et n° b (élément K) de la planche V. Ainsi l'allaitement influence nettement la densité et la répartition de l'élément P.



2.3. Impact des intoxications aluminiques sur la concentration des principaux éléments

Les travaux concernant les effets de l'intoxication aluminique par gavage des jeunes en développement sont réalisés par Melle Isabelle Durand dans le laboratoire de Biologie Cellulaire du Développement du Professeur Dauça sous la responsabilité du Docteur Keller (Université de Nancy I). Les résultats qui font l'objet d'une soutenance de DEA, peuvent être résumés ainsi :

- l'intoxication au lactate 100 mg Al/kg/j n'a aucun impact significatif sur la concentration des éléments étudiés
- par contre le traitement au chlorure 100 et au lactate 200 mg Al/kg/j entraînent une variation de la concentration de certains éléments. Le chlorure 100 provoque une élévation de K et une diminution de Fe ; le lactate 200 une élévation de S et de K, et d'une diminution de Ca et Fe. Les teneurs en Al, P, Cl, Cu et Zn ne varient pas.

3. DISCUSSION

Les concentrations de la plupart des éléments contenus dans l'épithélium intestinal varient suivant l'âge et les conditions physiologiques.

Les valeurs de K d'une femelle en gestation ou en lactation sont nettement inférieures à celles d'une femelle vierge. Cette chute n'est observée qu'après le 12ème jour de gestation et la valeur initiale est retrouvée seulement 8 jours après le sevrage. La diminution de K dans l'espace intracellulaire s'accompagne d'une élévation de l'élément dans le plasma. Ainsi chez une femelle qui allaite depuis 14 jours, la concentration en K des entérocytes est réduite de moitié alors que dans le plasma elle est 3 fois plus élevée que celle d'une femelle témoin (Muller, résultats non publiés).

Alors que la teneur en potassium diminue dans l'épithélium intestinal de la femelle de rat en gestation, elle augmente nettement dans les enterocytes du fœtus, spécialement au jour 20 de gestation. Tout se passe comme s'il y avait un transfert de K entre la mère et le fœtus, via le sang et le placenta. En effet l'induction de fortes doses de potassium dans le sang d'une rate gestante entraîne une élévation de l'élément dans le sang fœtal, prouvant ainsi que le placenta prélève l'excès de K (Munro et coll. 1983).

La diminution de P dans l'épithélium duodéal de la rate gestante et son maintien à une valeur constante dans l'épithélium intestinal du fœtus pendant le même temps peut aussi s'expliquer par un transfert de la mère vers le fœtus. En effet les ions phosphate sont activement transportés à travers le placenta, utilisant un gradient de sodium comme source d'énergie (La Jeunesse et Brunette, 1988).

La diminution de K dans l'épithélium duodéal du fœtus après le jour 20 de gestation, également observée dans le fœtus entier (Greizerstein et Abel, 1979) peut s'expliquer de la façon suivante : durant les 2 h qui suivent la délivrance, juste avant l'allaitement, le nouveau-né ne vit que sur ses réserves ; son activité catabolique est stimulée (Cuezva et coll. 1980 ; Medina 1985). La parturition est une période de prématurité ; il s'agit d'une phase critique pour le jeune rat qui d'une certaine façon, peut être rapprochée de la métamorphose des amphibiens. En effet, au cours de cette période, l'individu vit aussi sur ses réserves et son métabolisme est modifié. Dans les entérocytes larvaires d'*Alytes obstetricans*, la concentration de K est également 2 à 3 fois supérieure à celle des éléments P, S et Cl et, au climax de la métamorphose, le taux de K chute, ainsi que celui de Cl. Par contre la concentration de P, et à un degré moindre celle de S, augmente (Keller et Dauça, 1988).

Chez le Rat, au delà du jour post-natal + 2, la quantité de P augmente dans les entérocytes du jeune et de la mère car les besoins pour la croissance et la lactation sont très importants (Shirazi - Beechy et coll. 1988).

L'augmentation de S dans l'épithélium des jeunes après la naissance peut s'expliquer par le rôle joué par les entérocytes dans le métabolisme nutritionnel de la cystéine (Coloso et Stipanuk, 1989).

La déminéralisation de l'épithélium duodénal d'une part chez la mère durant les 12 premiers jours de gestation et d'autre part chez le jeune au moment de la parturition peut être due à la diminution des éléments K et Cl au cours des mêmes périodes. Chez *Alytes obstetricans*, la minéralisation passe par un maximum en prométamorphose, demeure élevée pendant toute la métamorphose puis diminue en postclimax (Keller et coll. 1990). Le taux de minéralisation est donc aussi modifié au cours de la période critique du développement, mais en sens inverse.

Chez le Rat, les résultats de la microanalyse des entérocytes révèlent que la transition entre le stade prénatal et le stade postnatal n'est pas un phénomène continu. Même si la concentration de certains minéraux comme le Ca, qui a un rôle fondamental dans un grand nombre de fonctions, ne varie pas (figure 16b), leur répartition varie (Planche II).

En ce qui concerne l'impact des intoxications aluminiques, l'augmentation de la teneur en potassium pourrait être liée à une perturbation des mécanismes de transport transmembranaires au niveau apical ou au niveau basal de la cellule. Par exemple les canaux potassiques calcium-dépendants (Hammond et Tritsch, 1990) pourraient être affectés puisque le calcium diminue.

Selon Adler et Berlyne (1985), l'aluminium et le calcium franchissent la barrière intestinale à l'aide du même transporteur et entrent en compétition. Ainsi le passage de l'aluminium entraîne une diminution du taux de calcium. Si la synthèse protéique est réduite au niveau du foie, les acides aminés soufrés comme la méthionine ne sont plus utilisés et s'accumulent dans les tissus (Bocok et Zlotkin, 1990).

En ce qui concerne la diminution du pourcentage de fer, Van der Voet et de Wolff (1987) ont montré qu'ils entrent en compétition au moment de l'absorption. Cannata et coll. (1991), ainsi que Fernandez et coll. (1991) ont montré, à l'aide d'expériences *in vitro* et *in vivo*, que les entérocytes absorbent moins de fer lorsqu'ils absorbent de l'aluminium.

et inversement. Or les dosages aluminiques plasmatiques réalisés dans le chapitre 2 - partie II ont montré que précisément l'aluminémie augmente de manière significative uniquement chez les animaux intoxiqués au chlorure (dose : 100 mg Al/kg/j) et au lactate à la dose de 200 mg Al/kg/j.

Ainsi le chlorure à un effet à une dose inférieure au lactate ; ceci est en accord avec les résultats concernant l'évolution pondérale, le taux de protéines plasmatiques, les concentrations plasmatiques et hépatiques de Al.

Troisième partie
Intoxications aluminiques
par voie intrapéritonéale

Chapitre 1

Cinétique des taux sanguins d'aluminium chez le Rat jeune et adulte après une injection I.P. unique de chlorure d'aluminium.

INTRODUCTION

Dans la bibliographie on trouve un grand nombre d'études relatives à l'élimination urinaire de l'aluminium suite à une inhalation de poussières ou de fumées par des ouvriers (Sjögren et coll. 1983, Mussi et coll. 1984, Sjögren et coll. 1988) ou, à une ingestion de composés aluminiques par des patients sains ou urémiques (Recker et coll. 1977). Dans tous les cas, lorsque la fonction rénale est normale, l'élimination est rapide donc l'aluminémie est peu importante.

L'objet des travaux qui suivent a été d'évaluer la capacité d'élimination rénale de l'aluminium par le Rat jeune et adulte lorsque le taux sanguin de ce métal est élevé.

1 MATERIEL ET METHODE

1.1 Les animaux

Les rats adultes mâles de souche Wistar (Iffa Credo, l'Arbresle, France) sont âgés de 12 semaines (poids : 320 - 340 g).

Les jeunes rats sont élevés au laboratoire. Ils restent avec leur mère et sont âgés de 13 jours au moment de l'intoxication.

Les animaux sont nourris *ad libitum* avec des croquettes Extra Labo (Provins - France) et de l'eau. La température de la salle d'élevage est de 20 - 22 ° C et l'éclairage circadien est normal.

1.2. L'intoxication

L'aluminium, sous forme de chlorure d'aluminium dissous dans du NaCl 9 ‰ est administré en une seule fois par voie IP. Deux doses sont testées : 20 et 40 mg Al/kg. Les volumes injectés sont de 0.5 ml pour les jeunes et de 1 ml pour les adultes. Les témoins reçoivent le même volume de NaCl 9‰.

1.2.1. Rats adultes

Les dosages d'Al se font d'une part sur des rats sacrifiés au cours des 6 premiers jours qui suivent l'intoxication (5 traités et 5 témoins par jour), d'autre part sur des rats sacrifiés au 9ème jour après le début du traitement (5 traités et 5 témoins) ; ces derniers ont été placés dans des cages à métabolisme durant les 9 jours afin de suivre l'élimination aluminique urinaire quotidienne.

La discontinuité entre les jours 6 et 9 a eu pour but de limiter le nombre d'animaux à sacrifier.

1.2.2. Rats jeunes

L'intoxication a lieu à l'âge de 13 jours et les dosages se font durant les 6 jours suivants, ainsi qu'au jour 9. L'évolution de l'aluminémie est ainsi suivie au cours d'une période qui correspond à la phase critique du développement et qui en même temps se situe avant le sevrage. Par ailleurs, la technique de dosage de l'aluminium nécessitant un volume plasmatique d'au moins 0.5 ml, il est indispensable de réaliser un pool de sang à partir de deux rats. Deux portées de 12 jeunes sont utilisées en parallèle ; au sein de chacune d'elles, la moitié des rats reçoit une injection de NaCl 9‰ (rats témoins) et l'autre moitié une injection de chlorure d'aluminium (rats traités). Chaque jour un animal témoin et un animal traité sont sacrifiés dans chacune des deux portées ; les plasmas des témoins d'une part et ceux des traités d'autre part sont mélangés, ce qui permet d'obtenir le volume nécessaire pour effectuer le dosage d'Al. Autrement dit chaque valeur est obtenue à partir de deux animaux issus de deux portées différentes. La détermination des taux d'Al plasmatique chez les jeunes au 9ème jour après l'injection a nécessité

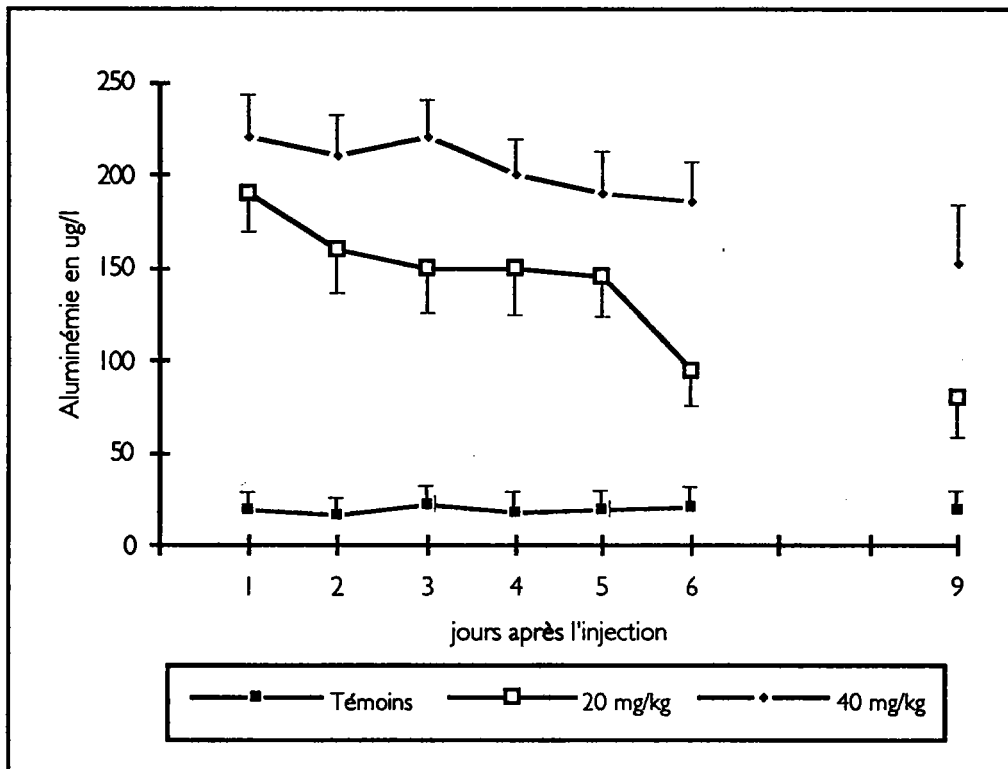


Fig 18 : Evolution de Al plasmatique chez le rat âgé de 13j après une injection unique (IP) de chlorure d'Al.

des portées différentes des précédentes puisque deux portées de 12 ne permettent de faire des dosages que pendant 6 jours.

1.3. Les dosages

L'aluminium est dosé à l'aide d'un spectromètre d'émission à plasma d'argon dans le service de chimie générale appliquée à la médecine du Professeur Burnel. La technique a été décrite dans la seconde partie, § 1.4.2.

2. RESULTATS

2.1. Evolution de l'aluminémie chez le jeune rat

L'évolution de la concentration en aluminium plasmatique consécutive à une injection unique de 20 ou 40 mg d'Al/kg est résumée dans la fig .18

Chez les rats ayant reçu une injection de 40 mg/kg, l'aluminémie ne varie pas significativement durant les 4 premiers jours ; elle est comprise entre 200 et 220 µg/l.

Au 9ème jour, elle a diminué de 30,9 % par rapport au jour 1 ($p < 0,001$) ; elle est alors 7,6 fois supérieure à celle des témoins.

Chez ceux ayant reçu une injection de 20 mg/kg, l'aluminémie diminue significativement entre le jour 1 et le jour 2 ($p < 0,005$). Au bout de 9 jours, elle est réduite de plus de moitié (57,9 %) mais reste tout de même 4 fois supérieure à celle des témoins.

2.2. Evolution de l'aluminium plasmatique et urinaire chez le rat adulte.

La figure 19 représente l'évolution de la teneur en Al du plasma.

Suite à une injection unique de chlorure d'aluminium à la dose de 40 mg/kg, l'aluminémie atteint en moyenne 480 µg/l après 24h. Au bout de

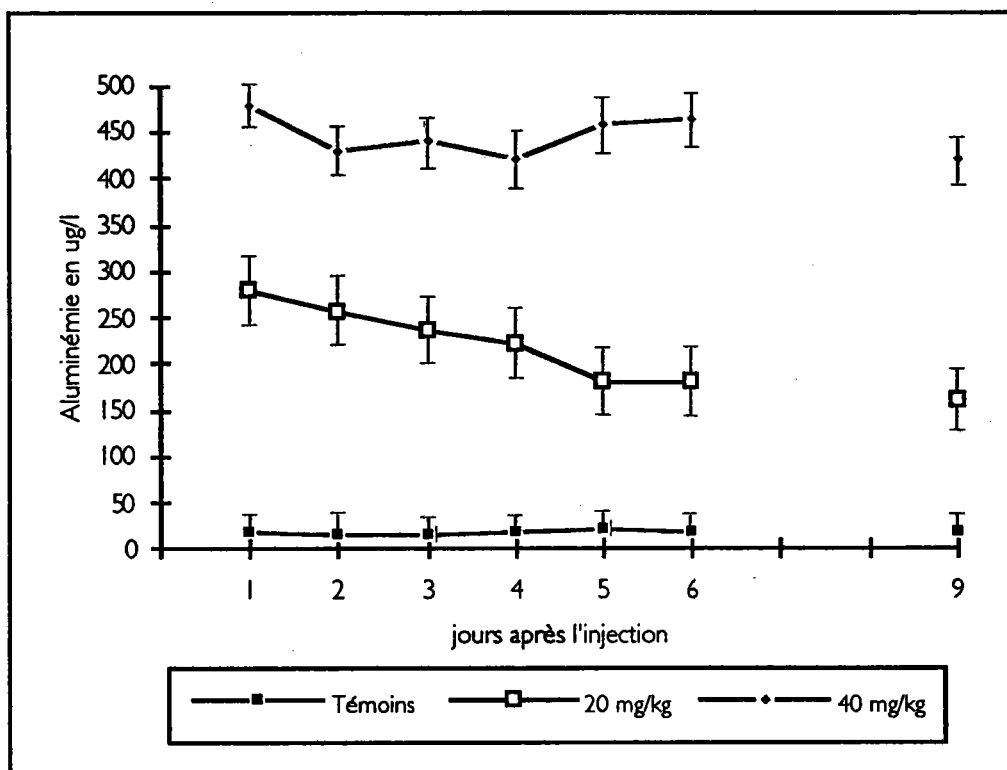


Fig 19 : Evolution de Al plasmatique chez le rat adulte après une injection unique (IP) de chlorure d'Al.

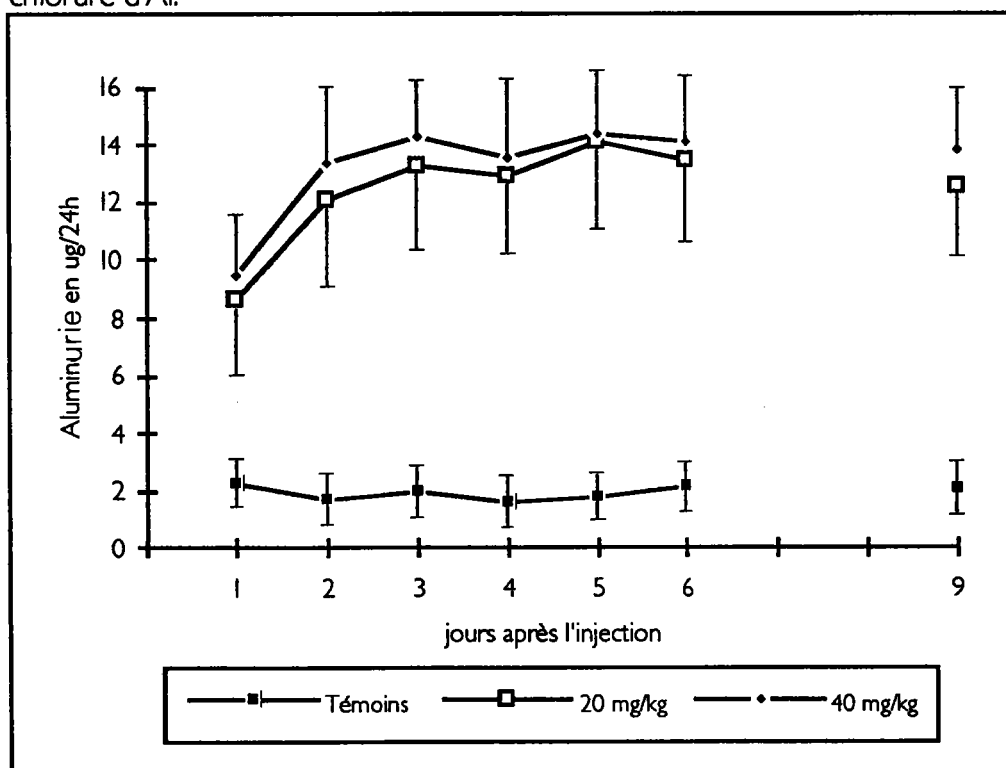


Fig 20 : Evolution de Al urinaire chez le rat adulte après une injection unique (IP) de chlorure d'Al.

9 jours, elle n'a diminué que de 12,5 % ($p < 0,05$), et n'a pas varié significativement entre les jours 2 et 9.

Durant les 9 premiers jours le taux de mortalité, calculé sur la base de 40 rats, est inférieur à 10 %. Des essais sur 12 animaux ont montré qu'après le 9ème jour le taux de mortalité atteint 40 %.

A la dose de 20 mg/kg l'aluminémie atteint en moyenne 280 $\mu\text{g/l}$ après 24h. Elle diminue ensuite régulièrement pour atteindre 160 $\mu\text{g/l}$ au 9ème jour. A ce stade elle a baissé de 42.8% par rapport au jour 1 mais elle est encore 8 fois supérieure à celle des témoins.

A la dose de 20 mg/kg, sur la base du nombre de rats utilisés (35), le taux de mortalité est de 0% après 9 jours.

La figure 20 représente l'évolution du taux d'Al dans l'urine. Après 24h, l'aluminurie est respectivement de 8,7 et 9,5 μg aux doses de 20 et 40 mg/kg. Au jour 2, ces valeurs passent respectivement à 12,1 et 13,4 $\mu\text{g}/24\text{h}$ puis, au cours des 8 jours suivants elles ne varient plus de manière significative. Au bout de 9 jours ils sont encore en moyenne respectivement 5,9 et 6,6 fois supérieurs aux taux décelés chez les témoins. Durant cette période, l'aluminurie ne varie pas significativement entre les deux groupes.

3. DISCUSSION

Chez le jeune, l'injection a lieu à l'âge de 13 jours et l'aluminurie est suivie jusqu'à l'âge de 22 jours, soit un jour après le sevrage. Au cours de cette période le développement se poursuit et le métabolisme subit des modifications importantes, en particulier au moment du sevrage. La croissance est accélérée : le poids et donc la masse sanguine s'accroissent considérablement ; ils augmentent d'autant plus vite que la réduction progressive des portées fait que les jeunes restants s'alimentent davantage. L'aluminium est dilué. Enfin, le renouvellement cellulaire est rapide, ce qui augmente les capacités de fixation dans les tissus.

Par exemple dans le tissu osseux l'aluminium se fixe au détriment du calcium. L'influence des tous ces paramètres fait que l'on ne peut pas comparer l'évolution du taux d'aluminium sérique entre le jeune et l'adulte.

Chez le jeune le suivi a été étudié à titre indicatif. Toutefois les résultats obtenus appellent plusieurs remarques : malgré tous les facteurs qui tendent à abaisser l'aluminémie, celle-ci ne diminue que de 14,4 % en 6 jours à la dose de 40 mg/kg ; ceci prouve que les capacités d'élimination rapide sont nettement dépassées.

Le taux d'aluminium plasmatique des rats ayant reçu une injection de 20 mg/kg devrait être environ moitié moins élevé que celui des rats ayant reçu une injection de 40 mg/kg. Or la différence n'est que de 13,6 % après 24h et de 34,2% après 5 jours. En tenant compte des écarts-types, on peut considérer qu'elle atteint 50% au bout de 6 jours seulement. Ceci est lié à la croissance et au fait que, probablement, à la dose de 40 mg/kg, davantage d'aluminium pénètre dans les tissus qu'à la dose de 20 mg/kg.

Par exemple le foie, dont la masse double durant cette période, concentre fortement l'aluminium. Le cadmium, le zinc et le cuivre induisent la formation de métallothionéines, protéines qui fixent ces métaux dans les tissus (Bremmer, 1981). En supposant que l'aluminium stimule aussi la formation de telles protéines (il n'existe pas de publication sur ce sujet), l'administration d'une dose plus forte entrainera une fixation plus importante.

Chez l'adulte, à la dose de 40 mg/kg, l'aluminémie diminue entre les jours 1 et 2 qui suivent l'injection puis ne varie plus jusqu'au jour 9. Par contre, à la dose de 20 mg/kg, la diminution est faible mais constante durant toute cette période. Dans le premier cas le taux plasmatique est très supérieur à la capacité d'élimination journalière si bien que celle-ci, après 9 jours, n'a pas encore d'influence sur l'aluminémie. Yokel et Mc Namara (1989) qui ont administré du lactate d'aluminium à des lapins par voie IV en une seule fois, à la dose de 200 μ moles/kg ont montré que l'aluminémie est réduite de moitié après 42 jours seulement, et qu'il faut 128 jours pour qu'elle soit équivalente aux témoins. Toujours à 40

mg/kg, l'élimination urinaire augmente entre les jours 1 et 2, ce qui correspond à la chute du taux plasmatique d'Al durant cette même période. Ensuite, elle semble avoir atteint un maximum qui, en moyenne, se situe entre 12 et 14 $\mu\text{g}/24\text{h}$. Le fait que le taux d'élimination urinaire n'augmente pas lorsque l'on passe de 20 à 40 mg/kg d'Al prouve que la capacité maximale d'élimination est déjà atteinte à la dose de 20 mg/kg.

Enfin dans les cages à métabolisme il y a toujours un risque de contamination par les fèces mais les effets sont limités compte tenu des doses éliminées par voie urinaire.

Si, à la dose de 40 mg/kg l'aluminémie ne change pas chez l'adulte alors qu'elle diminue chez le jeune, c'est parce que chez ce dernier une partie de l'aluminium est dilué à cause de la croissance et du renouvellement cellulaire et moléculaire accéléré.

Enfin, dans le plasma l'aluminium est presque entièrement lié à des composés non saturables (transferrine, albumine, citrate) si bien que sa clearance est faible ; chez l'homme, elle ne représente que 5% de la filtration glomérulaire (Polinsky et Gruskin 1984). Selon Sjögren et coll. (1988), la fraction libre est éliminée rapidement alors que la fraction liée aux molécules plasmatiques se fixe en partie dans les tissus et est éliminée beaucoup plus lentement. Allain et coll. (1990) rapportent que chez l'homme en bonne santé qui prend du sucralfate par voie orale à raison de 4 g/j pendant 28 jours, le taux d'aluminium plasmatique diminue rapidement après la fin de l'intoxication alors que le taux d'aluminium urinaire reste élevé pendant 10 jours ; les auteurs considèrent que l'aluminium éliminé au cours de cette période est celui qui a été fixé temporairement dans certains tissus. Dans nos expériences, l'essentiel de l'aluminium éliminé durant les premiers jours correspond sans doute à la fraction libre.

Chapitre 2

Effet d'une intoxication aiguë unique de chlorure d'aluminium par voie IP sur l'activité de la CAT chez le Rat jeune et adulte

INTRODUCTION

Lors des intoxications orales de rats jeunes et adultes décrites dans les chapitres précédents, l'aluminémie ne dépasse pas 80 $\mu\text{g/l}$ et, chez l'adulte, l'activité de la CAT ne varie pas.

Chez l'homme adulte, aucun cas d'encéphalopathie aluminique consécutive à la seule prise orale de composés renfermant de l'aluminium n'est signalée dans la bibliographie, et l'aluminémie des patients est également peu élevée. Autrefois l'encéphalopathie survenait lors des dialyses après une période de traitement de l'ordre de 2 ans au cours de laquelle des doses massives d'Al finissaient par s'accumuler dans le sang et se concentrer dans le cerveau. Maintenant les risques d'intoxication par dialyse sont pratiquement nuls car l'eau est traitée, toutefois l'aluminium administré par voie orale a encore des effets toxiques.

Le but des travaux décrits ci-après est de rechercher si, expérimentalement, une intoxication aiguë qui s'accompagne d'une élévation importante et rapide du taux d'Al dans le sang peut entraîner une variation de l'activité de la CAT chez le rat jeune et adulte.

1. MATERIEL ET METHODE

1.1. Animaux

Les rats adultes mâles, de souche Wistar (Iffa Credo, l'Arbresle, France), sont âgés de 10 semaines (poids : 270 - 280 g).

Les jeunes rats sont élevés au laboratoire. Ils restent avec leur mère.

Les animaux sont nourris *ad libitum* avec des croquettes Extra Labo (Provins - France) et de l'eau. La température de la salle d'élevage est de 20 - 22°C et l'éclairage circadien est normal.

1.2. Protocole d'intoxication

L'aluminium, sous forme de chlorure d'aluminium dissous dans du NaCl 9‰ est administré en une seule fois par voie IP à la dose de 40 mg/kg chez le jeune et chez l'adulte (des expériences préliminaires ont montré qu'il s'agit de la dose limite au delà de laquelle il apparaît un certain pourcentage de mortalité après 48h).

Chez le jeune l'activité de la CAT cérébrale est évaluée à l'âge de 15 j (au même stade que lors de l'intubation gastrique) donc l'injection est pratiquée à l'âge de 13 j.

Les volumes administrés sont de 0,5 ml pour les jeunes et de 1 ml pour les adultes. Les témoins reçoivent le même volume de NaCl 9‰.

1.3. Mesures et analyses

Les animaux sont sacrifiés par décapitation ; le sang est prélevé et centrifugé à 900 g afin de récupérer le plasma. La dissection et l'homogénéisation des structures cérébrales qui servent à évaluer l'activité de la CAT (cerveau basal antérieur et neostriatum) se font selon les techniques décrites dans la première partie.

L'activité de la CAT est évaluée à l'aide de la microméthode de Fonnum (1975). L'aluminium est dosé dans le plasma et dans l'homogénat des structures cérébrales, avec un spectromètre d'émission à plasma d'argon dans le service de chimie générale appliquée à la médecine du Professeur Burnel. Ces deux méthodes ont été décrites respectivement dans la première partie et dans la seconde partie, chapitre 1.

Pour les rats âgés de 15 jours, un pool de sang de deux animaux provenant d'une même portée est réalisé afin d'avoir un volume de plasma suffisant pour le dosage de l'Al et, parallèlement, l'homogénat se fait à partir des structures cérébrales de ces deux mêmes rats.

Pour les rats adultes, les mesures et analyses se font sur chaque animal.

2. RESULTATS

2.1. Rats âgés de 15 jours

2.1.1. Concentration en Al du plasma et de l'homogénat cérébral

Les taux d'Al trouvés dans le plasma et dans l'homogénat cérébral sont inscrits dans le tableau 43. Les chiffres représentent des moyennes $\pm$ SD.

Tableau 43 : Concentration en Al du plasma et de l'homogénat cérébral chez le rat de 15 jours.

	plasma (en $\mu\text{g/l}$)	homogénat cérébral (en $\mu\text{g/g}$ de tissu frais)
Témoins (n = 6)	34 ± 7	$1,90 \pm 0,45$
Traités (n = 6)	$185 \pm 20^*$	$1,75 \pm 0,36$

Différence significative par rapport aux témoins : * $p < 0,001$ (Test de Student)
n = nombre d'expériences.

48 heures après l'injection les rats intoxiqués ont une aluminémie 5,4 fois plus élevée que les témoins ($p < 0,001$) mais le taux d'Al contenu dans les structures cérébrales étudiées ne varie pas de manière significative.

2.1.2. Activité spécifique de la CAT

L'activité de la CAT des rats témoins et intoxiqués est inscrite dans le tableau 44 ; les chiffres représentent des moyennes $\pm$ SD.

Les résultats montrent que l'activité de la CAT n'est pas modifiée par l'intoxication.

Tableau 44 : Effet d'une intoxication au chlorure d'Al (40 mg/kg) par voie IP sur l'activité spécifique de la CAT (nmoles/h/mg de protéines) chez le rat de 15 jours.

Témoins (n = 6)	15,2 ± 2,1
Traités (n = 6)	16,1 ± 0,9

n = nombre d'expériences

2.2. Rats adultes

2.2.1. Concentration en Al du plasma et de l'homogénat cérébral

Les concentrations en Al du plasma et des structures cérébrales sont dans le tableau 45 ; les chiffres représentent des moyennes ± SD.

Tableau 45 : Concentration en Al du plasma et de l'homogénat cérébral chez le rat adulte.

	plasma (en µg/l)	homogénat cérébral (en µg/g de tissu frais)
Témoins (n = 6)	30 ± 13	3,42 ± 0,68
Traités (n = 6)	420 ± 89 *	3,25 ± 1,05

Différence significative par rapport aux témoins : * p < 0,001

n = nombre d'animaux

Chez les rats traités, l'aluminémie est 14 fois plus élevée que chez les témoins 48 h après l'injection ; toutefois les taux d'Al dans les structures cérébrales étudiées ne sont pas statistiquement différents entre les deux groupes.

Chez les témoins, les concentrations en Al du cerveau sont environ deux fois plus élevées chez les adultes que chez les jeunes ; les mêmes proportions ont été trouvées lors des expériences de gavage. La

différence est peut être due au fait que le sang résiduel présent dans les structures est plus abondant chez l'adulte.

2.2.2. Activité spécifique de la CAT

Les résultats de l'évaluation de l'activité spécifique de la CAT sont inscrits dans le tableau 46. Les chiffres représentent des moyennes $\pm$ SD.

Tableau 46 : Effet d'une intoxication unique au chlorure d'Al (40 mg/kg) par voie IP sur l'activité spécifique de la CAT (nmoles/h/mg de protéines) chez le rat adulte.

Témoins (n = 6)	26,9 $\pm$ 2,0
Traités (n = 6)	28,0 $\pm$ 2,1

n = nombre d'animaux

L'activité spécifique de la CAT n'est pas modifiée par une intoxication aiguë au chlorure d'Al chez le rat adulte.

3. DISCUSSION

En proportion, l'aluminémie de l'adulte intoxiqué est beaucoup plus élevée que celle du jeune. Chez ce dernier, une partie de Al se fixe rapidement dans certains tissus, notamment les tissus osseux et hépatiques.

Cependant dans les deux cas la quantité d'Al contenu dans les structures cérébrales n'augmente pas. Ainsi une aluminémie élevée n'entraîne pas de modification de la concentration en Al dans le cerveau au bout de 48 h chez le rat jeune et adulte, lorsque le sel administré est du chlorure d'aluminium.

L'activité de la CAT n'est pas modifiée chez le rat jeune et adulte. Soit l'enzyme n'est pas atteinte par Al, soit elle l'est mais durant une période trop brève ou à une dose trop faible. Chez le rat de 15 jours intoxiqué par intubation gastrique durant 10 jours, l'activité de l'enzyme diminue peut-être à cause d'un effet différé de Al, qui peut agir dans les premiers jours du traitement, lorsque l'animal est plus jeune. En ce qui

concerne le rat adulte, ces résultats peuvent être rapprochés de ceux de Johnson et Jope (1986) qui après avoir administré du citrate d'Al à des rats adultes par injection intracrânienne unique à la dose de 0,5 μ mole d'Al n'ont pas observé d'effet sur la concentration en acétylcholine dans le cortex.

Chapitre 3

Effets d'intoxications "subaiguës" au chlorure d'Al administré par voie IP chez le Rat adulte.

INTRODUCTION

Dans la démence de type Alzheimer, l'activité de la CAT diminue de 50 à 90% dans le cerveau basal antérieur et le seul élément dont la concentration augmente dans les structures en dégénérescence, mis à part le calcium non spécifique, est l'aluminium (Krishnan et coll. 1988).

Lors d'encéphalopathie aluminique, dans le cortex, la concentration en Al augmente en même temps que l'activité de la CAT diminue de 10 à 20% (Perry et coll. 1977 ; Sweeney et coll. 1985).

Les intoxications orales par gavage ou par la nourriture chez les rats adultes n'ont pas entraîné de modification de l'activité de la CAT mais l'aluminémie était faible et la durée de l'intoxication peu importante. De la même façon après l'intoxication aiguë l'activité de la CAT n'a pas varié ; l'aluminémie a été importante mais pendant une période très brève.

L'objectif des expériences décrites ci-dessous a été de rechercher si l'administration d'une dose massive de chlorure d'aluminium par voie IP durant 14 jours, qui entraîne une aluminémie très élevée, est capable de provoquer une modification de l'activité de l'enzyme.

1. MATERIEL ET METHODES

1.1. Animaux

1.1.1. Origine, caractères et conditions d'élevage

Les rats mâles de race Wistar (Iffa Credo, l'Arbresle) pèsent entre 230 et 260 g. Ils sont nourris *ad libitum* avec des croquettes Extralabo (Provins) et de l'eau. La température de la salle d'élevage est de 20 - 22°C et l'éclairage circadien est normal (alternance de 12 h de lumière et de 12 h d'obscurité).

1.1.2. Intervention chirurgicale

La moitié des rats a une insuffisance rénale créée par néphrectomie du rein droit et ligature vasculaire partielle du rein gauche selon la technique de Chanutin et Ferris (1932), légèrement modifiée ; cette méthode a été décrite dans la partie 2, chapitre 1. Pour les mêmes raisons que celles évoquées précédemment, les rats les plus gros sont opérés.

1.2. Protocole

1.2.1. Première expérience

A. Répartition des rats en 4 lots

La créatinine plasmatique est dosée chez les rats normaux (non opérés) et chez les rats néphrectomisés, 10 jours après l'opération ; le sang est prélevé par ponction oculaire des sinus caverneux après anesthésie au Kétalar.

Les rats normaux sont alors répartis en deux lots ayant approximativement le même taux de créatinine : le groupe 1 constituera les "témoins normaux" (créatinémie : $56 \pm 8 \mu\text{moles/l}$) et le groupe 2 les "témoins traités" (créatinémie : $61 \pm 7 \mu\text{moles/l}$). De la même façon les rats néphrectomisés sont répartis en un groupe 3, le groupe "urémiques témoins" (créatinémie : $99 \pm 9 \mu\text{moles/l}$) et un groupe 4, le groupe "urémiques" traités (créatinémie : $102 \pm 8,5 \mu\text{moles/l}$).

B. Intoxication

L'intoxication débute 5 jours après le dosage de la créatinine. L'aluminium, sous forme de chlorure d'Al dissous dans du NaCl 9 ‰ à la

dose de 20 mg/kg/j, est administré quotidiennement par voie IP durant 14 jours. La solution est préparée chaque jour, extemporanément ; le pH, initialement de 2,5 est ramené à 3,8 avec de l'hydrogénocarbonate de Na (au-delà de pH 4 il se forme de l'hydroxyde et du carbonate d'Al). Le volume injecté est compris entre 1 et 1,5 ml. Parallèlement aux rats intoxiqués, les témoins reçoivent du NaCl 9 ‰. Les rats sont sacrifiés 24 h après la fin du traitement pour les analyses.

C. Suivi durant l'intoxication

Durant tout le traitement les rats sont placés dans des cages à métabolisme. Le volume d'eau ingéré quotidiennement et la diurèse sont notés, ainsi que le poids de nourriture ingérée. L'urine recueillie permet aussi de doser l'aluminium excrété.

D. Mesures et analyses 24 h après le fin du traitement

24 heures après la fin du traitement, les rats sont sacrifiés par décapitation. Le sang est récupéré et, après centrifugation à 900 g le plasma recueilli est séparé en 2 aliquots : un pour doser l'aluminium et l'autre pour doser 4 variables plasmatiques : protéines totales, urée, acide urique, créatinine.

Les techniques employées ont été décrites dans les chapitres précédents : l'activité de la CAT cérébrale est évaluée par la micro méthode de Fonnum (1975) (partie I), l'aluminium est dosé à l'aide d'un spectromètre d'émission à plasma d'argon dans le service de Chimie Générale Appliquée à la médecine du Professeur Burnel (Partie 2, chapitre 1). Les variables plasmatiques ont été dosées par méthode spectrophotométrique, à l'aide d'un automate multiparamétrique de chimie, dans le laboratoire d'analyses médicales du Centre Hospitalier Régional de Metz-Thionville (chef de service : Monsieur Capolaghi) (partie 2, chapitre 2) ; enfin, à titre indicatif, les protéines de 3 échantillons ont été séparées par électrophorèse sur cellogel avec l'automate Cello System 2 dans ce même laboratoire.

1.2.2. Seconde expérience

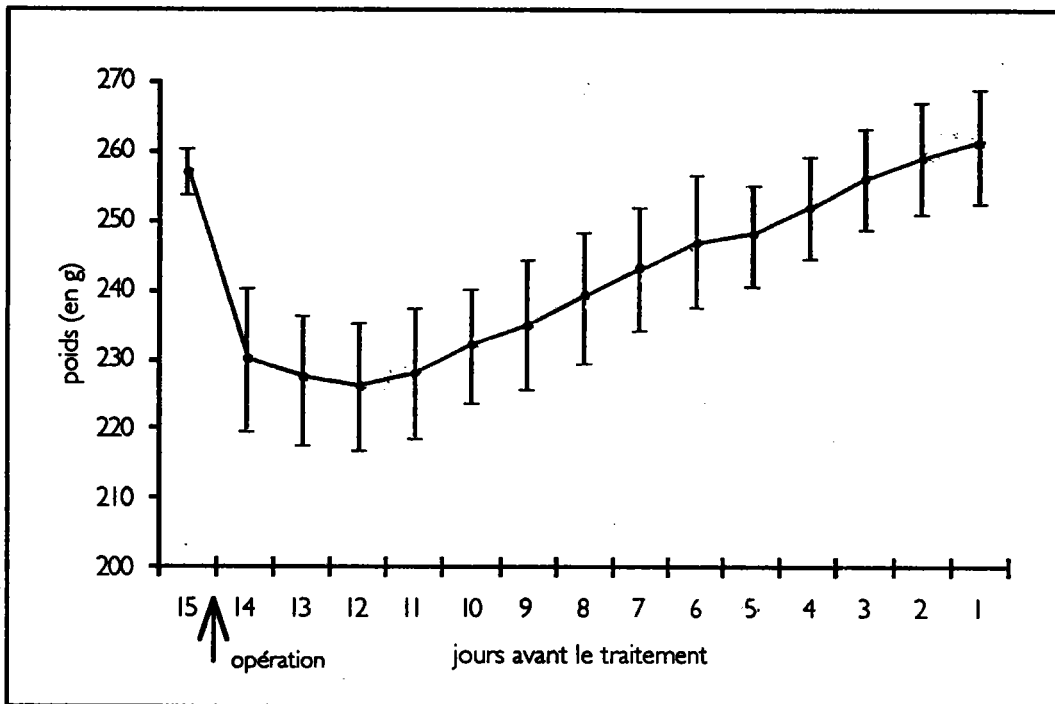


Fig 21A Evolution pondérale des rats néphrectomisés entre le jour de l'opération et le premier jour de traitement

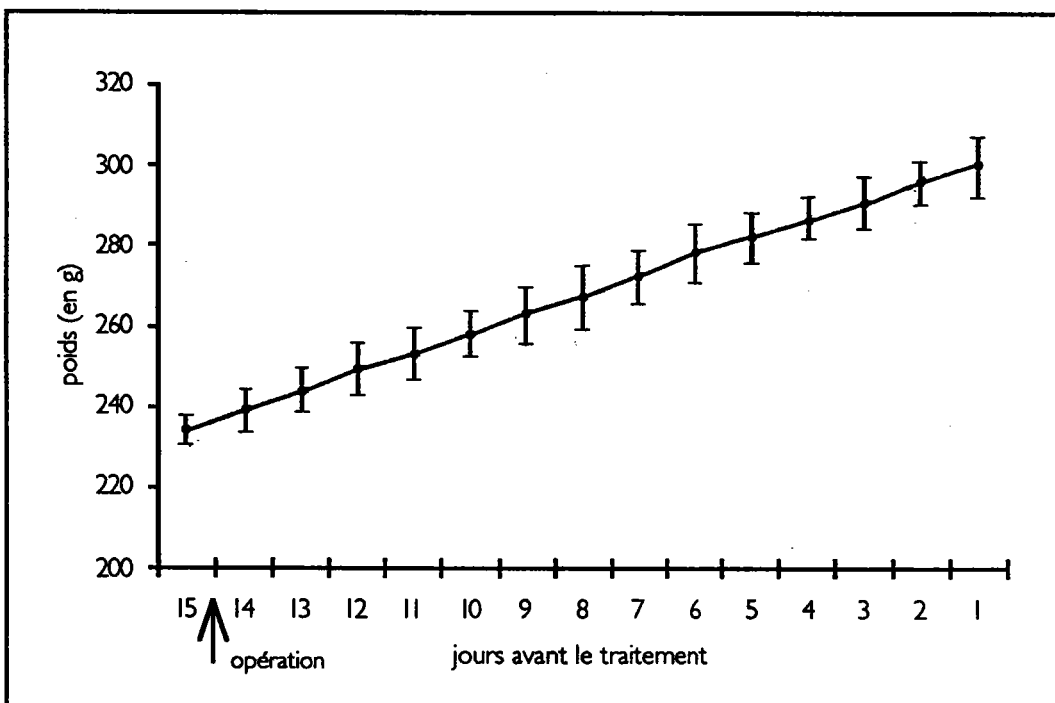


Fig 21B Evolution pondérale des rats normaux durant les 15 jours qui précèdent le traitement.

Suite aux résultats de la première expérience, une seconde expérience est menée dans le but de rechercher les effets éventuels d'une sous-nutrition sur l'activité de la CAT cérébrale et le taux des variables plasmatiques précédemment citées : protéines totales, urée, acide urique et créatinine. Quatre nouveaux groupes de rats sont donc constitués :

- deux groupes de rats normaux : l'un nourrit *ad libitum* (groupe 1) et l'autre restreint en nourriture (groupe 2) ; ce groupe reçoit la même quantité de nourriture que celle ingérée par des rats normaux intoxiqués dans la première expérience ;
- deux groupes de rats insuffisants rénaux : l'un nourri *ad libitum* (groupe 3) et l'autre restreint en nourriture (groupe 4) ; ce groupe reçoit la même quantité de nourriture que les rats néphrectomisés intoxiqués dans la première expérience.

Tous les rats reçoivent une injection IP quotidienne de 1 ml de NaCl 9 ‰.

2. RESULTATS ET DISCUSSIONS

2.1. Première expérience

2.1.1. Evolution pondérale des rats au cours des 15 jours précédant le traitement

A. Résultat des mesures

Le graphique de la figure 21a représente l'évolution pondérale des rats insuffisants rénaux entre le jour de l'opération et le premier jour de l'intoxication ; et le graphique de la fig 21b représente l'évolution pondérale des rats normaux durant la même période.

Le premier jour, les 14 rats opérés maigrissent en moyenne de 27 g. Les deux jours suivants ils perdent encore respectivement 3 puis 1 g. Le

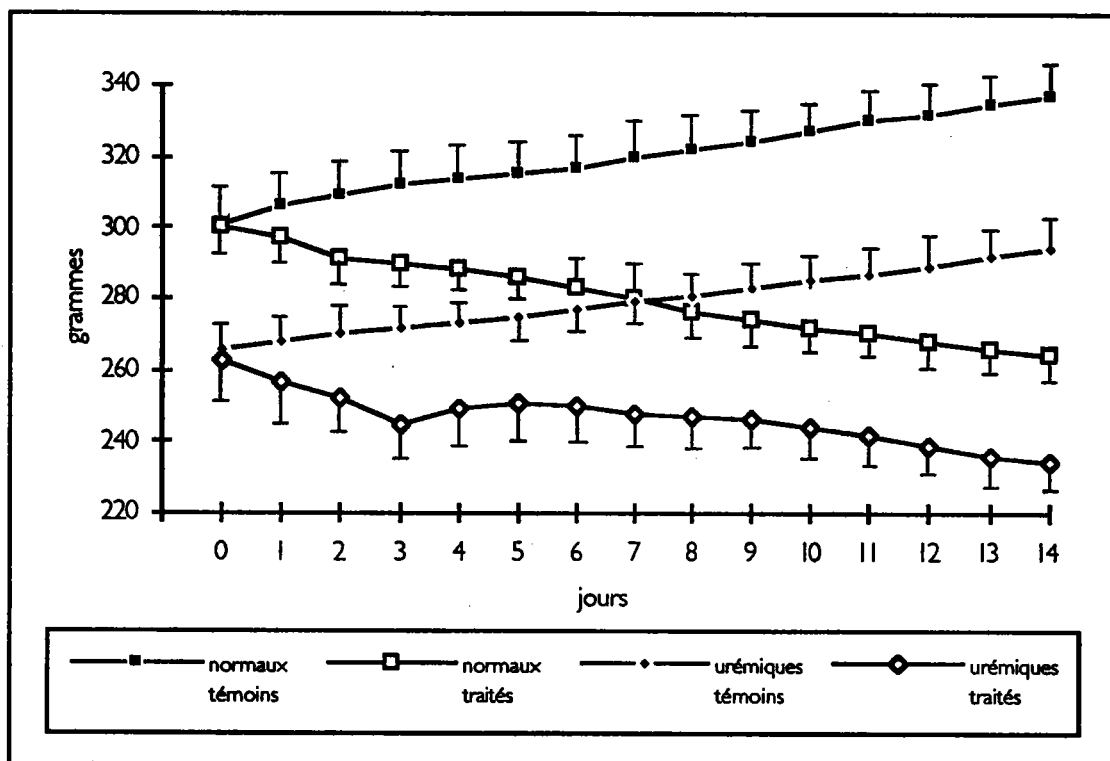


Fig.22 : Evolution pondérale des rats adultes mâles intoxiqués au chlorure d'Al par voie IP à la dose de 20 mg/kg/j.

quatrième jour la croissance reprend ; elle est régulière et de 4 g/j en moyenne. Parallèlement, la croissance moyenne des rats normaux est de 4,5 g/j.

B. Commentaire

Comme dans les expériences précédentes, l'amaigrissement temporaire des rats opérés est lié à la fois au choc opératoire et aux conséquences immédiates de la néphrectomie : anorexie, hypertension et hypercréatinémie (Laourri et coll. 1982, cité par Kleinknecht et coll. 1988).

2.1.2. Evolution pondérale et masse de nourriture ingérée durant le traitement

A. Résultats des mesures

L'évolution pondérale et la quantité de nourriture ingérée par chacun des 4 groupes pendant le traitement sont représentés respectivement par les fig 22 et 23

La croissance du groupe 1 (rats normaux témoins) est régulière ; elle est en moyenne de 2,5 g/j. Le groupe 2 (rats normaux traités) maigrit régulièrement ; l'amaigrissement est en moyenne de 2,1 g/j. Alors que l'écart pondéral entre les 2 groupes est de 1 g au jour 0 de l'intoxication, il est de 73 g après 14 j.

La croissance du groupe 3 (rats urémiques témoins) est aussi très régulière et parallèle au groupe 1 ; elle est en moyenne de 2 g/j. Le groupe 4 (rats urémiques intoxiqués) maigrit en moyenne de 6 g/j entre les jours 0 et 3 jours, reprend du poids les jours 4 et 5 (l'accroissement est de 4 et 2 g, respectivement) puis maigrit à nouveau entre les jours 5 et 14, de 1 à 3 g/j. L'écart pondéral entre les groupes 3 et 4 passe de 3 g au jour 0 de l'intoxication à 60 g au bout de 14 jours. Quant à l'écart pondéral entre les groupes 2 et 4, il passe de 37 g à 30 g entre les jours 0 et 14 de traitement.

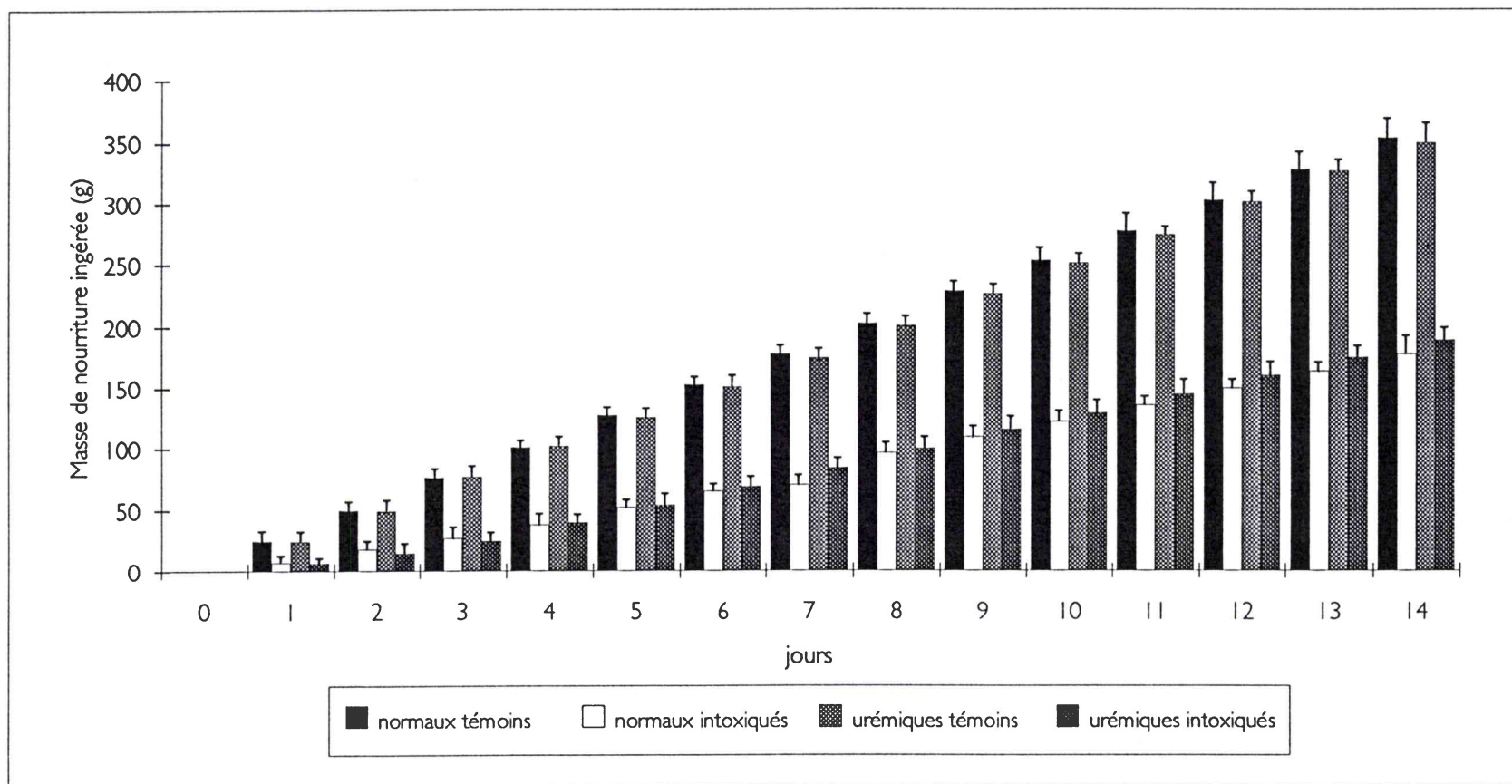


Fig23 : Masse de nourriture ingérée par les rats mâles adultes intoxiqués au chlorure d'Al par voie IP à la dose de 20 mg/kg/j.

Le test ANOVA à un facteur appliqué au gain de poids exprimé en données cumulées indique que le traitement a un effet très significatif à partir du jour 2 : $F(3,22) = 198,31$, $p < 0,0001$; le tableau donne les résultats des comparaisons multiples à l'aide du test PLSD de Fisher appliqué au gain de poids (données cumulées) après 2 j de traitement ; il apparaît que seuls les groupes 1 et 3 ne diffèrent pas l'un de l'autre.

Tableau 47 : Résultats du test PLSD de Fisher appliqué au gain pondéral des rats adultes intoxiqués avec $AlCl_3$ par voie IP (20 mg/kg)

	groupe 2	groupe 3	groupe 4
groupe 1	$p < 0,001$	NS	$p < 0,001$
groupe 2	•	$p < 0,001$	$p < 0,01$
groupe 3	$p < 0,001$	•	$p < 0,001$

Au sein de chaque groupe, la quantité de nourriture ingérée quotidiennement ne varie pas significativement d'un jour à l'autre durant tout le traitement, et lorsque l'on calcule la moyenne sur 14 jours, elle est pour les groupes 1, 2, 3 et 4 respectivement de 24,4 ; 12,7 ; 25,2 et 13,5 g/j. Elle ne diffère pas entre les groupes 1 et 3 ni entre les groupes 2 et 4. Par contre celle du groupe 2 est inférieure de 49,4 % à celle du groupe 1, et celle du groupe 4 inférieure de 46,4 % à celle du groupe 3.

Le test ANOVA à un facteur montre que le traitement a un effet très significatif dès le jour 1 ($F(3,22) = 180,88$; $p < 0,0001$) et le test PLSD de Fisher révèle que à partir de ce stade les différences entre les groupes 1 et 2 d'une part et entre les groupes 3 et 4 d'autre part sont très significatives ($p < 0,001$).

B. Discussion

L'amaigrissement très important des groupes 2 et 4 est lié essentiellement à l'anorexie. Les quantités de nourriture ingérées par ces deux groupes ne sont pas significativement différentes entre elles, pourtant le groupe 2 maigrit davantage que le groupe 4 (36 g contre 29 g en moyenne). La raison est que les rats du groupe 4 retiennent de l'eau, en raison de l'hyperaluminémie liée à la néphrectomie, et si ils reprennent du poids en apparence les jours 4 et 5 de l'intoxication, c'est

parce que la rétention d'eau débute à ce stade et masque alors l'amaigrissement (voir § 4).

L'amaigrissement est tel que les animaux sont en survie. Toutefois, après 14 jours, le taux de mortalité est de 0 %. Selon Llobet et coll. (1987), la DL50 du chlorure d'Al administré par voie IP en une seule injection est de 728 mg/kg après 14 jours;

De nombreuses équipes qui ont pratiqué des injections IP de chlorure d'Al à des rats ou des lapins font état d'un amaigrissement de leurs animaux, sans toutefois préciser son importance. Ainsi Llobet et coll. (1987) ont observé un amaigrissement lors de la détermination de la DL50 à 14 jours. Berlyne et coll. (1972) qui ont injecté de l'hydroxyde d'Al et du sulfate d'Al à des rats à la dose de 90 mg/kg/j pendant 5 jours ont également observé une perte de poids. Bennett et coll. (1975) ont provoqué un retard de croissance chez des rates gestantes après leur avoir injecté du chlorure d'Al durant 5 jours à de très fortes doses (75, 100 et 200 mg/kg).

De même chez le Lapin des injections quotidiennes de chlorure d'Al à la dose de 100 µg/j entraînent une perte de poids (Strong et coll. 1991).

Constantini et coll. (1989) qui ont également administré du chlorure d'Al par voie IP à des rats adultes durant 14 jours précisent que les animaux ont maigri de 1% seulement, mais la dose totale d'Al injectée était de 14,04 mg/rat, soit exactement 10 fois plus faible que la nôtre. Par contre selon Ellis et coll. (1979) des rats qui ont des injections IP de chlorure d'Al durant 52 jours à la dose de 2,7 mg/Al/j ont une croissance normale.

En fait plus la dose est forte, plus l'amaigrissement est important, et inversement.

Selon Kleinknecht et coll. (1988) et Bocock et Zlotkin (1990), l'urémie entraîne par elle-même une anorexie mais cette affirmation est contestée par Gretz et coll. (1988). Dans cette expérience il apparaît que les quantités de nourriture consommées par les groupes 1 et 3 ne sont pas significativement différentes. Les animaux traités étaient

léthargiques et ont développé une péritonite, comme l'ont signalé tous les auteurs qui ont pratiqué le même type d'injection, à l'exception de Ellis et coll. (1979). En revanche, contrairement à Berlyne et coll. (1972) et Llobet et coll. (1987) nous n'avons pas observé de saignement périorbital.

Le pH de la solution a une grande importance dans l'apparition de la péritonite. Il est indispensable qu'il soit le plus proche possible de 4. Au cours d'expériences préliminaires où le pH était de 3,2, tous les rats sont morts après 3 jours de traitement.

2.1.3. Dosages de quelques variables plasmatiques liées à la nutrition

A. Résultats

Les résultats du dosage de 4 variables plasmatiques : protéines totales, urée, acide urique et créatinine figurent dans le tableau 48 ; les valeurs représentent des moyennes $\pm$ SD.

Tableau 48 : Dosage de quelques variables plasmatiques chez le rat adulte

variable	groupe 1 (n = 6)	groupe 2 (n = 6)	groupe 3 (n = 7)	groupe 4 (n = 7)
protéines totales (g/l)	65,3 $\pm$ 1,7	53,8 $\pm$ 2,7 *	65 $\pm$ 2,1	52,5 $\pm$ 1,3 *
urée (mmoles/l)	8,5 $\pm$ 0,1	8,3 $\pm$ 0,8	16,5 $\pm$ 3 *	15,8 $\pm$ 1,2 *
acide urique (mmoles/l)	235 $\pm$ 44	244 $\pm$ 27	210 $\pm$ 31	225 $\pm$ 22
créatinine (mmoles/l)	58,5 $\pm$ 11	60 $\pm$ 7	109 $\pm$ 6,5 *	112 $\pm$ 11 *

Différence significative par rapport au groupe 1 (protéines) et par rapport aux groupes 1 et 2 (urée et créatinine) : * $p < 0,001$ (test de Fisher)

Le taux de protéines du groupe 2 est inférieur de 17,6 % à celui du groupe 1. Le taux de protéines du groupe 4 est inférieur de 2,4% (NS) à celui du groupe 2 et de 19,2 % à celui du groupe 3 ($p < 0,001$).

Le test ANOVA à un facteur indique que l'effet du traitement est très significatif : $F(3,22) = 79,274$; $p < 0,0001$, ce qui autorise à comparer les 4 groupes à l'aide du test PLSD de Fisher (tableau 49).

Tableau 49 : Résultats du test PLSD de Fisher appliqué au taux de protéines plasmatiques chez le rat intoxiqué avec $AlCl_3$ par voie IP (20 mg/kg/j)

	groupe 2	groupe 3	groupe 4
groupe 1	$p < 0,001$	NS	$p < 0,001$
groupe 2	•	$p < 0,001$	NS
groupe 3	$p < 0,001$	•	$p < 0,001$

Lorsqu'on compare les groupes 1 et 2 d'une part, et les groupes 3 et 4 d'autre part, l'effet du traitement sur la diminution du taux de protéines plasmatiques est significatif dans les deux cas. En revanche l'urémie seule n'a pas d'effet sur la protéinurie. De même l'intoxication aluminique n'abaisse pas davantage le taux des protéines plasmatiques chez les rats urémiques que chez les rats normaux.

Les taux d'urée et de créatinine ne diffèrent pas entre les groupes 1 et 2, ni entre les groupes 3 et 4. Par contre l'urémie et la créatinémie des groupes 3 et 4 sont significativement plus élevées que celles du groupe 1 (94,1 % et 85,9 % pour l'urémie, 86,3 % et 91,4 % pour la créatinémie, respectivement).

La créatinémie des groupes 1 et 2 n'est pas significativement différente de ce qu'elle était lors du précédent dosage effectué 20 jours auparavant. Par contre celle des groupes 3 et 4 a augmenté respectivement de 10,1 % et 9,8 % (test de Student : $p < 0,05$).

L'uricémie ne diffère pas significativement entre les groupes : l'urémie seule et l'intoxication aluminique n'ont pas d'effet sur le taux d'acide urique du plasma.

B. Discussion

Selon certains auteurs (Adelman et coll. 1977, Tizianello et coll. 1987), l'urémie seule entraîne une anorexie, un retard de croissance et une diminution du taux des protéines plasmatiques ; au niveau du foie, le

métabolisme des acides aminés est perturbé : la concentration plasmatique de certains d'entre eux augmente (c'est le cas de la phénylalanine) ; Young et Parsons, 1973 cités par Bocock et Zlotkin 1990). Tout comme d'autres équipes (Gawlik et coll. 1984 ; Gretz et coll. 1988), nous n'avons pas observé de variation de la concentration en protéines totales dans le plasma, 20 jours après la néphrectomie.

Entre les groupes 2 et 4, la quantité de nourriture consommée et la protéinémie ne varient pas de manière significative. La chute du taux des protéines plasmatiques dans ces deux groupes, par rapport aux groupes 1 et 3 est due essentiellement à l'anorexie des animaux, mais elle pourrait être liée aussi à une diminution de la synthèse des protéines dans le foie, à cause de l'accumulation de Al dans cet organe (voir § 2.1.7), comme le suggèrent Berlyne et coll. 1972 qui ont fait le même type d'observations.

Expérimentalement lorsque l'on réduit la quantité de protéines contenue dans la ration alimentaire de rats néphrectomisés, la survie des animaux est prolongée car la toxicité liée à l'urémie diminue (Kleinknecht et coll. 1988). L'anorexie avec chute de la protéinémie pourrait constituer une adaptation à l'intoxication.

L'élévation de la créatinémie entre les deux dosages dans les groupes 3 et 4 est la conséquence des modifications histologiques progressives qui se produisent dans le rein restant ; d'après Gretz et coll. (1988), la déficience rénale progresse régulièrement pendant 4 semaines.

La créatinémie ne semble pas influencée par l'intoxication, que les rats soient normaux ou urémiques. Bräunlich et coll. (1986) qui ont pratiqué des injections IP de $AlCl_3$ à des rats femelles normaux et néphrectomisés à la dose de 0,5 mg/kg pendant 12 semaines ont observé une légère augmentation du taux d'urée et de créatinine, mais elle était non significative.

2.1.4. Séparation des protéines plasmatiques par électrophorèse

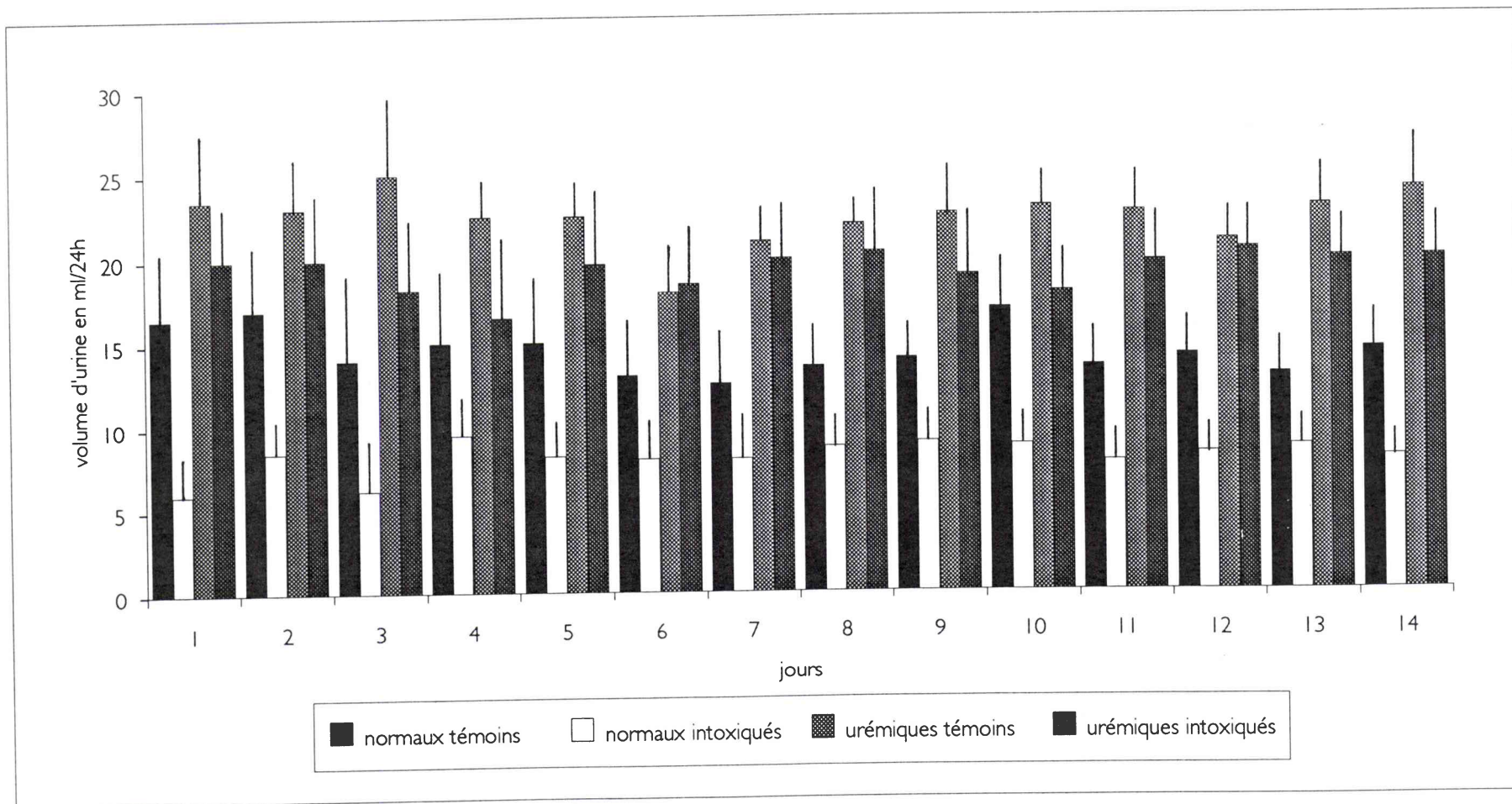
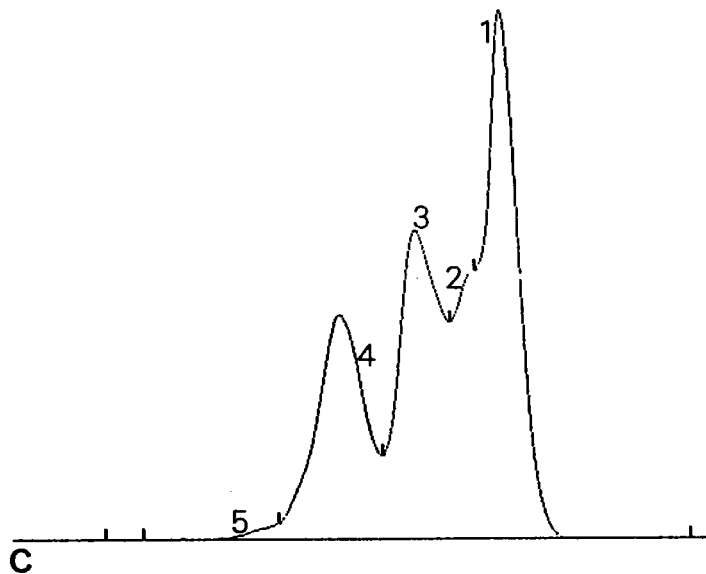
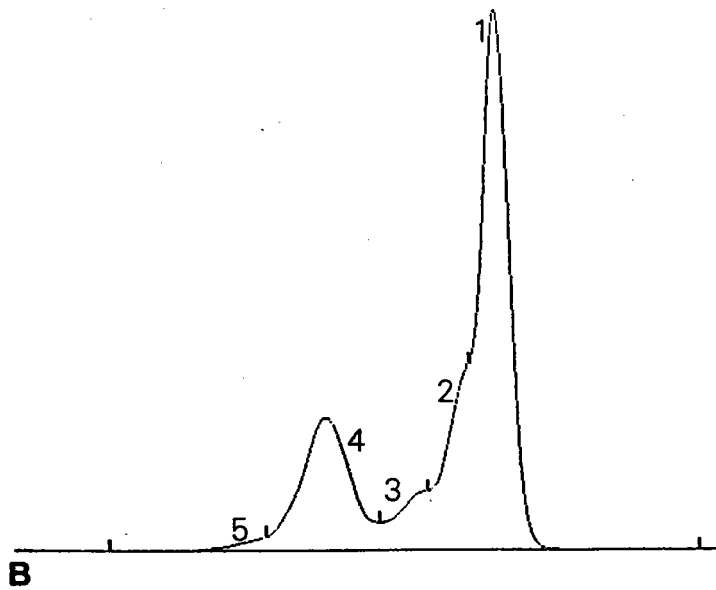
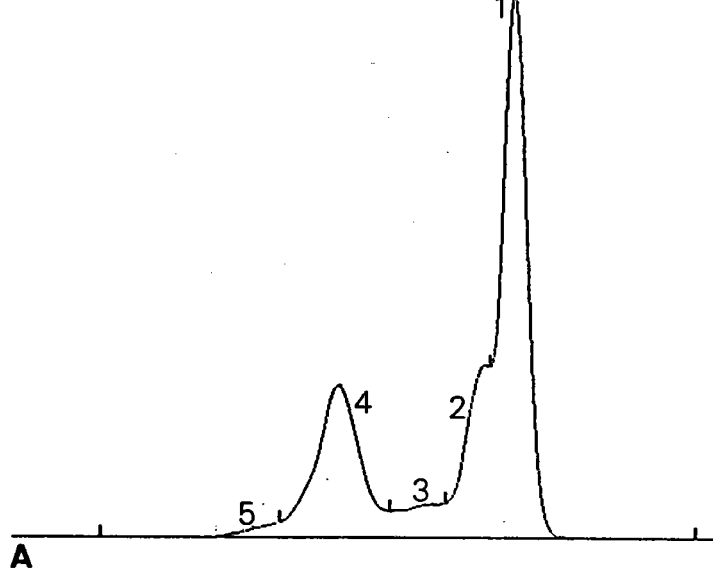


Fig24 : Diurèse journalière de rats adultes normaux et urémiques intoxiqués par voie IP avec AlCl 3 à raison de 20 mg/Kg/j



PROFILS ELECTROPHORETIQUES DE RATS MÂLES ADULTES

A. Rat témoin normal (injection IP de NaCl 9 ‰)

B. Rat témoin urémique (injection IP de NaCl 9 ‰)

C. Rat urémique intoxiqué (injection IP de AlCl_3 20 mg/kg)

1 : albumine

2.: α_1 globulines

3.: α_2 globulines

4 : β globulines + fibrinogène

5 : γ globulines

Le rat C présente une péritonite.

A titre indicatif, 3 profils électrophorétiques sont représentés sur la page ci-contre. Les résultats du dosage des différentes protéines plasmatiques sont dans le tableau 50.

Tableau 50 : Taux des principales protéines plasmatiques après 14 j d'intoxication (en g/l)

Protéines	rat témoin normal	rat témoin urémique	rat urémique intoxiqué
Albumine	33,9	35	19,4
α 1 globulines	9,7	8,8	5,6
α 2 globulines	3,7	4,0	14,9
β globulines + fibrinogène	16,8	15,2	12,07
γ globulines	1,0	0,9	0,4

Les dosages sont une confirmation de l'aspect des profils. Le taux d'albumine diminue fortement, alors que celui des α 2 globulines augmente. La chute du taux d'albumine est liée à une diminution de la synthèse au niveau du foie. L'augmentation du taux des α 2 globulines est principalement dû à la péritonite. Ces résultats sont à confirmer.

2.1.5. Diurèse et quantité d'eau ingérée au cours du traitement

A. Résultat des mesures

Les figures 24 et 25 représentent respectivement le volume d'urine émise et le volume d'eau ingérée quotidiennement par les 4 groupes.

A l'intérieur de chaque groupe, la diurèse ne varie pas significativement d'un jour à l'autre au cours du traitement (test de Student). La diurèse moyenne calculée sur 14 jours est respectivement pour les groupes 1, 2, 3 et 4 de 16,5 ; 6 ; 23,5 et 20 ml. L'urémie seule entraîne une élévation de la diurèse de 42,4 % et l'intoxication aluminique s'accompagne au contraire d'une réduction de celle-ci de 63,6 % lorsque les rats sont normaux et de 14,9 % lorsqu'ils sont urémiques.

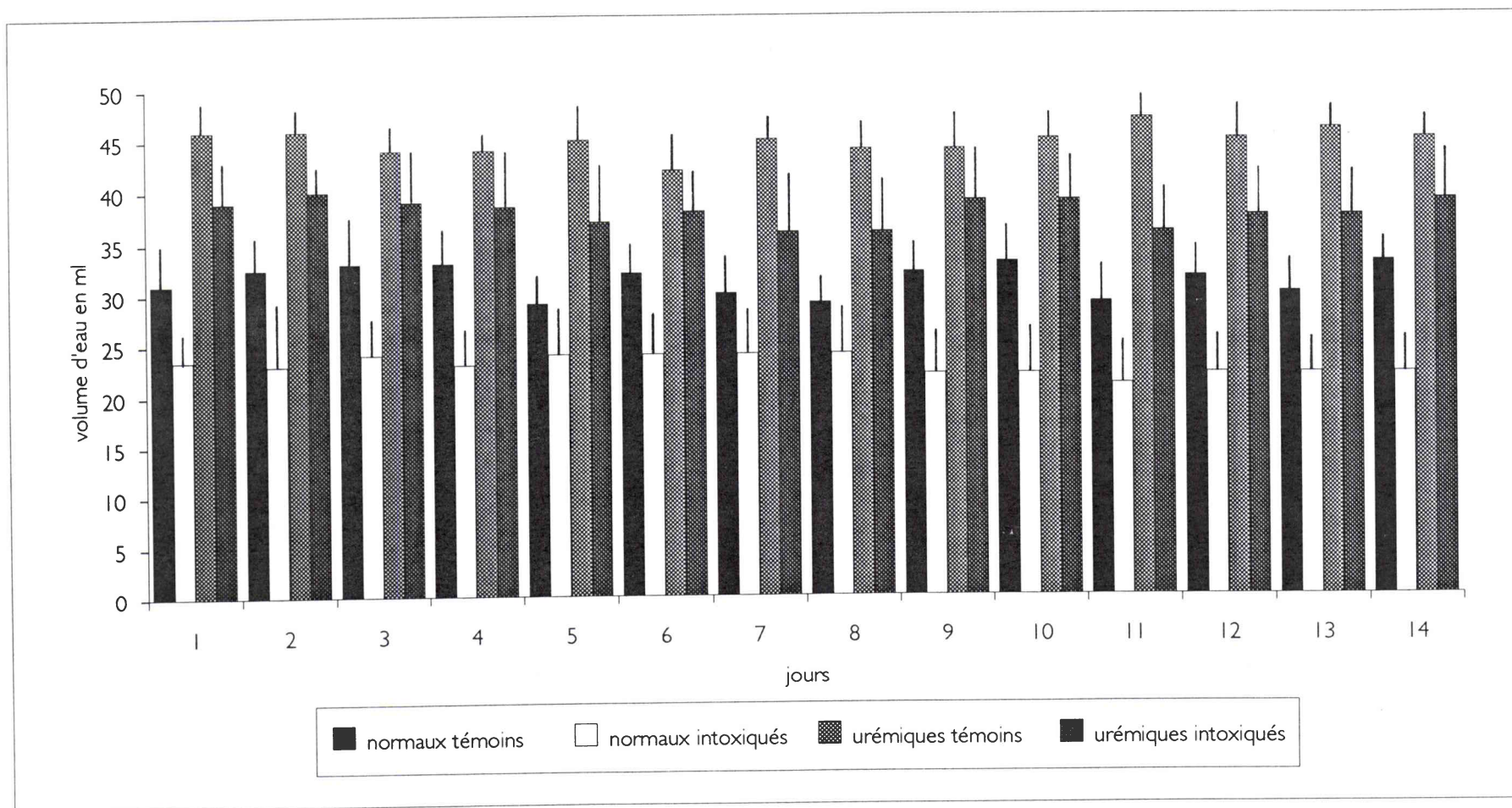


Fig25 : volume d'eau ingérée par les rats mâles adultes intoxiqués au chlorure d'Al par voie IP à la dose de 20 mg/kg/j

Le test ANOVA à un facteur indique que l'effet du traitement est très significatif : $F(3,22) = 31,757$; $p < 0,0001$, ce qui permet de faire des comparaisons multiples entre les groupes à l'aide du test PLSD de Fisher (Tableau 51).

Tableau 51 : Résultat du test PLSD de Fisher appliqué à la diurèse des rats adultes intoxiqués avec $AlCl_3$ par voie IP (20 mg/kg)

	groupe 2	groupe 3	groupe 4
groupe 1	$p < 0,001$	$p < 0,01$	$p < 0,05$
groupe 2	•	$p < 0,01$	$p < 0,001$
groupe 3	$p < 0,01$	•	NS

Il ressort de ce test que l'élévation de la diurèse provoquée par l'urémie seule est significative et que sa réduction liée à l'intoxication l'est aussi chez les rats normaux mais pas chez les rats urémiques.

La quantité d'eau consommée par chacun des groupes ne varie pas d'un jour à l'autre au cours du traitement. Le volume moyen d'eau ingérée, calculé sur 14 jours, est respectivement pour les groupes 1, 2, 3 et 4 de 31 ; 23 ; 44,2 et 38,6 ml. Ainsi l'urémie seule entraîne une élévation de la consommation d'eau de 42,6 % alors que l'intoxication entraîne une baisse de cette consommation de 25,8 % lorsque les rats sont normaux et de 5,6 % seulement lorsqu'ils sont urémiques.

D'après le test ANOVA à un facteur l'effet du traitement est très significatif ($F(3,22) =$; $p < 0,0001$), ce qui permet de faire des comparaisons multiples à l'aide du test PLSD de Fisher (tableau 52).

Tableau 52 : Résultats du test PLSD de Fisher appliqué à la quantité d'eau ingérée chez le rat intoxiqué avec $AlCl_3$ par voie IP (20 mg/kg/j)

	groupe 2	groupe 3	groupe 4
groupe 1	$p < 0,001$	$p < 0,001$	$p < 0,01$
groupe 2	•	$p < 0,001$	$p < 0,001$
groupe 3	$p < 0,001$	•	$p < 0,05$

Ainsi les variations de la consommation d'eau entre les différents groupes sont toutes significatives.

B. Discussion

Chez les rats urémiques l'hyperfiltration est une conséquence des modifications qui se produisent dans le rein restant environ une semaine après la néphrectomie. Ces modifications ont été bien étudiées par Waldherr et Gretz (1988). Elles consistent en une hypertrophie compensatrice et une adaptation fonctionnelle. Histologiquement, la taille du glomérule augmente, les tubules se dilatent ainsi que les vaisseaux sanguins associés au néphron. Les conséquences sont un accroissement de l'afflux de sang et une augmentation de la surface de filtration. Au niveau cytotogique, il y a hypertrophie et hyperplasie des cellules. Pour Swenseid et coll. 1975, l'hyperfiltration au niveau du glomérule entraîne une détérioration tubulaire qui fait que la réabsorption d'eau diminue fortement. Selon Swenseid et coll. (1975), et Meisinger et coll. (1988), l'élévation du taux d'acides aminés dans le plasma serait elle-même à l'origine de l'hyperfiltration. Si la diminution de la protéinémie s'accompagne d'une élévation du taux d'acides aminés dans le plasma, ce qui reste à démontrer, ceux-ci accentuent l'hyperfiltration chez les rats urémiques traités. Ceci expliquerait pourquoi la différence de diurèse entre les groupes 3 et 4 est beaucoup moins importante que celle entre les groupes 1 et 2 (63,6 % contre 14,9 %).

D'un autre côté les rats du groupe 4 retiennent davantage d'eau que ceux du groupe 2. La diminution de la diurèse que l'on observe dans le groupe 4 les jours 3, 4 et 5 (fig 24) est à mettre en relation avec la croissance apparente des animaux de ce groupe pendant cette même période (fig 22). La rétention d'eau est liée à une réduction de la différence de pression osmotique entre le sang et les tissus, à cause de l'abaissement du taux d'albumine.

Si le groupe 4 retient davantage d'eau que le groupe 2 alors qu'il est polyurique, c'est parce que sa consommation d'eau est beaucoup plus importante (fig 25). La consommation d'eau est directement en rapport avec la diurèse.

2.1.6. Quantité d'aluminium éliminée quotidiennement dans l'urine

A. Résultats

La quantité moyenne d'Al contenu quotidiennement dans l'urine, calculée sur 14 jours, est pour les groupes 1, 2, 3, et 4 respectivement de 4,6 ; 38 ; 4 et 21 μg . Le résultat du test ANOVA à un facteur appliqué à l'aluminémie après un jour d'intoxication montre que l'effet de celle-ci est très significatif : $F(3,22) = 19,747$; $p < 0,0001$, et le test PLSD de Fisher montre que dès ce stade de 1 jour les différences entre les groupes 1 et 2, 3 et 4 et 2 et 4 sont significatives ($p < 0,001$, $p < 0,001$ et $p < 0,05$ respectivement). Chez les deux groupes traités, les écarts-types sont extrêmement importants : ils varient entre 44 et 50 % pour le groupe 2 et entre 35 et 38 % pour le groupe 4.

B Discussion

Chez le Rat, l'aluminium est éliminé par voie urinaire et par voie fécale, par l'intermédiaire de la bile (Klein et coll. 1983, cité par Höhr et coll. 1989). L'urine recueillie à l'aide des cages à métabolisme est en partie contaminée par les fécès, et l'Al qu'elle contient est la somme de Al éliminé effectivement par voie urinaire, et d'une partie de Al contenu dans les fécès.

En perfusant un rein isolé de Rat, avec du sang contenant des concentrations croissantes en Al Höhr et coll. (1989) ont montré que la clearance rénale de Al est inversement corrélée avec la concentration de celui-ci dans le perfusat ; ils interprètent leurs résultats en émettant l'hypothèse que plus l'aluminémie est élevée, plus la fraction liée aux protéines est importante. Si parallèlement la quantité d'Al éliminée par la voie biliaire augmente avec la concentration en Al du sang, la contamination de l'urine recueillie augmente également. Ceci reste à démontrer mais cela expliquerait les grandes variations que l'on observe dans les groupes 2 et 4. Lors des expériences décrites dans le chapitre 1

(troisième partie), nous n'avons pas constaté de telles variations, mais l'aluminémie était 4 fois moins élevée (voir § suivant).

Dans le groupe 4, la rétention d'Al est due à l'urémie. Enfin d'après Casini et Yokel (1988) ainsi que Höhr et coll. (1989), des doses aiguës d'Al n'affectent pas les fonctions rénales.

2.1.7. Concentration en Al du plasma et des homogénats hépatiques et cérébraux

A. Résultats

Les résultats du dosage de Al dans le plasma et les homogénats hépatiques et cérébraux de chacun des 4 groupes figurent dans le tableau 53 ; les valeurs représentent des moyennes $\pm$ SD.

Tableau 53 : Concentrations en Al du plasma et des homogénats hépatiques et cérébraux

	plasma (en $\mu\text{g/l}$)	homogénats de foie (en $\mu\text{g/g}$ de tissu frais)	homogénat cérébral(en $\mu\text{g/g}$ de tissu frais)
groupe 1 (n = 6)	27 ± 4	$3,17 \pm 0,37$	$3,64 \pm 0,31$
groupe 2 (n = 6)	$812 \pm 42^{**}$	$63,06 \pm 11,25^{**}$	$4,39 \pm 0,38^{*}$
groupe 3 (n = 7)	24 ± 5	$3,20 \pm 0,32$	$3,57 \pm 0,35$
groupe 4 (n = 7)	$1034 \pm 199^{**}$	$59,88 \pm 5,68^{**}$	$4,51 \pm 0,43^{*}$

Différence significative par rapport au groupe 1 (test de Fisher) : $* p < 0,01$;

$** p < 0,001$.

Le test ANOVA à un facteur indique que l'effet du traitement sur le taux d'Al plasmatique est très significatif : $F(3,22) = 163,573$; $p < 0,0001$, ce qui permet d'appliquer le test PLSD de Fisher (tableau).

Tableau 54 : Résultats du test PLSD de Fisher appliqué aux taux d'Al plasmatiques

	groupe 2	groupe 3	groupe 4
groupe 1	$p < 0,001$	NS	$p < 0,01$
groupe 2	•	$p < 0,001$	$p < 0,01$
groupe 3	$p < 0,001$	•	$p < 0,001$

L'aluminémie est multipliée par 30 entre les groupes 1 et 2 ($p < 0,001$) et par 43 entre les groupes 3 et 4 ($p < 0,001$). Lorsque les rats sont intoxiqués, l'effet de l'urémie sur le taux d'Al plasmatique est également significatif : il augmente de 27,3 % entre les groupes 2 et 4 ($p < 0,01$).

L'effet du traitement sur le taux d'Al hépatique est très significatif : $F(3,22) = 184,582$, $p < 0,0001$ (test ANOVA) ; les résultats du test PLSD de Fisher figurent dans le tableau 55.

Tableau 55 : Résultats du test PLSD de Fisher appliqué aux taux d'Al hépatiques.

	groupe 2	groupe 3	groupe 4
groupe 1	$p < 0,001$	NS	$p < 0,001$
groupe 2	•	$p < 0,001$	NS
groupe 3	$p < 0,001$	•	$p < 0,001$

Le taux d'Al hépatique est multiplié par 19,8 fois entre les groupes 1 et 2, et par 18,7 fois entre les groupes 3 et 4 ; le taux du groupe 4 est légèrement inférieur à celui du groupe 2 (5 %) mais la différence n'est pas significative.

L'effet du traitement sur les taux d'Al cérébraux est également très significatif ; d'après le test ANOVA à un facteur $F(3,22) = 11,274$; $p < 0,0001$. Les comparaisons multiples entre les 4 groupes à l'aide du test PLSD de Fisher figurent dans le tableau 56.

Tableau 56 : Résultats du test PLSD de Fisher appliqué aux taux d'Al cérébraux.

	groupe 2	groupe 3	groupe 4
groupe 1	$p < 0,05$	NS	$p < 0,05$
groupe 2	•	$p < 0,05$	NS
groupe 3	$p < 0,05$	•	$p < 0,05$

Le taux d'Al cérébral augmente de 17 % entre les groupes 1 et 2 et de 26,3 % entre les groupes 3 et 4. La différence entre les groupes 2 et 4 est non significative.

Ainsi lorsque l'on compare les deux groupes de rats intoxiqués, on s'aperçoit que l'urémie entraîne une élévation significative du taux d'Al dans le plasma, mais pas dans le foie ni dans les structures cérébrales.

B. Discussion

Comme on pouvait s'y attendre, les taux d'Al plasmatiques des groupes 2 et 4 sont très importants. L'aluminémie du groupe 4 est supérieure à celle du groupe 2 ; ce résultat, dû à l'urémie, est à mettre en parallèle avec les taux d'Al trouvés dans l'urine qui au contraire sont plus élevés dans le groupe 2 que dans le groupe 4 ; dans les deux cas l'urine est contaminée par les fèces.

Lorsqu'on pratique une injection IP unique d' AlCl_3 à la dose de 20 mg/kg à des rats normaux adultes, l'aluminémie, après 24 h, est en moyenne de 280 $\mu\text{g/l}$ (chapitre 1, partie 3). Lorsque la même dose est injectée quotidiennement pendant 14 jours, l'aluminémie, au 15^{ème} jour, est de 812 $\mu\text{g/l}$. Ceci confirme bien l'idée énoncée dans le chapitre 1 et selon laquelle à la dose de 20 mg/kg les capacités d'élimination quotidienne sont nettement dépassées.

L'augmentation progressive de l'aluminémie au cours de l'intoxication s'accompagne d'une forte élévation du taux d'Al dans le foie - avec toutefois pas de différence significative entre les groupes 2 et 4 - et d'une faible élévation de la teneur en Al des structures cérébrales.

Tous les auteurs qui ont pratiqués des injections IP de sels d'aluminium à des rats adultes ont obtenu des résultats comparables, quel que soit le sel injecté. Le tableau 57 donne, à titre d'exemples, les valeurs trouvées par quatre équipes.

Tableau 57 : Taux d'Al hépatique et cérébraux obtenus par 4 équipes ayant pratiqué des injections IP de sels d'Al à des rats adultes.

Auteurs	sel	dose	Al hépatique (en $\mu\text{g/g}$ de tissu frais)		Al cérébral (en $\mu\text{g/g}$ de tissu frais)	
			témoins	traités	témoins	traités
Chan et coll. (1983)	Chlorure d'Al	1,5 mg/kg/j pendant 63 jours	$0,7 \pm 0,7$	$174,8 \pm 47$	$2,7 \pm 0,9$	$3,8 \pm 0,9$
Costantini et coll. (1989)	Lactate d'Al	7,02 mg/semaine pendant 78 jours	$1,23 \pm 0,16$	243 ± 26	$0,51 \pm 0,09$	$2,98 \pm 0,79$
Giordano et coll. (1989)	Lactate d'Al	1,35 mg/kg/j pendant 109 jours	$1,54 \pm 0,16$	667 ± 87	$0,74 \pm 0,24$	$6,1 \pm 2,1$
Llobet et coll. (1989)	Nitrate d'Al	901 mg/kg (DL50) en une seule fois - dosage après 14 j	non décelable	138 ± 26	non décelable	$8,6 \pm 2,0$

En ce qui concerne les taux d'Al contenus dans foie des rats traités, les valeurs obtenues par les auteurs cités sont nettement plus élevées que les nôtres mais un grand nombre de paramètres diffèrent : nature du sel, méthode de dosage (dans les 4 cas Al a été dosé par un spectrophotomètre d'absorption atomique), durée de l'intoxication, dose. Quoiqu'il en soit l'aluminium pénètre beaucoup plus facilement dans le foie que dans le cerveau, à cause de la BHE. Néanmoins chaque équipe mentionnée dans le tableau 57 précise que l'élévation du taux d'Al dans le cerveau est significative.

Les rats traités urémiques n'ont pas des taux d'Al hépatiques et cérébraux supérieurs à ceux des rats traités normaux, alors qu'ils ont une aluminémie beaucoup plus élevée.

Berlyne et coll. (1972) et Chan et coll. (1983) (tableau 57) ont également intoxiqué des rats normaux et urémiques ; ils ont constaté que le taux d'Al hépatique des rats urémiques était inférieur à celui des rats normaux. Alfrey et coll. (1985) ont obtenu des résultats similaires en pratiquant des injections IP de AlCl_3 à des rats adultes à la dose de 1,5 mg/kg 5 jours par semaine, pendant 79 jours. Selon ces auteurs, l'urémie entraîne un hyperparathyroïdisme avec une sécrétion accrue de HPT qui favorise le prélèvement de Al plasmatique par le tissu osseux au détriment du foie ; ils parlent de compartimentation de l'aluminium liée à l'urémie. Mayor et coll. (1980), Drueke et coll. (1985), Ballanti et coll. (1989) ont montré en effet que HPT favorise la pénétration de Al dans le tissu osseux. Dans les expériences de Alfrey et coll. (1985), les concentrations en Al du tissu osseux, exprimées en mg/kg, étaient de 113 ± 16 chez les rats urémiques traités contre 80 ± 7 chez les rats urémiques traités parathyroïdectomisés et 55 ± 9 chez les témoins.

Cependant pour Hirschberg et coll. (1985), Costantini et coll. (1989), HPT favorise également la pénétration de Al dans le foie, et lors d'intoxications orales, Arief et coll. (1979), Drueke et coll. (1985), Hirschberg et coll. (1985) et nous-mêmes (partie 2, chapitre 3) avons décelé des taux d'Al légèrement plus élevés chez les rats urémiques que chez les rats normaux. Ces différences s'expliquent sans doute par le fait que les voies d'administration ne sont pas les mêmes, et par les taux d'Al plasmatique qui dans ces cas sont faibles. Quant aux taux d'Al contenus dans le foie, ils ne dépassent pas 10 $\mu\text{g/g}$ de tissu frais.

D'après Galle et GIUDICELLI (1982), qui ont pratiqué des injections IP de AlCl_3 à des rats adultes pendant 15 jours à raison de 5 mg/j, l'aluminium pénètre dans la cellule hépatique et se concentre dans les lysosomes, mais il entraîne aussi la formation de vacuoles au contenu clair, une diminution du nombre des mitochondries et des ribosomes. La diminution du nombre des ribosomes peut avoir comme conséquence un ralentissement de la synthèse des protéines, et expliquer en partie l'abaissement de la protéinémie. La chute du taux de protéines plasmatiques est pratiquement la même dans les groupes 2 et 4 (tableau) car, dans les deux cas, l'aluminium agit de la même façon.

2.1.8. Activité de la CAT cérébrale

A. Résultats

Les résultats des mesures de l'activité de la CAT cérébrale figurent dans le tableau 58 ; les valeurs représentent des moyennes $\pm$ SD.

Tableau 58 : Activité de la CAT cérébrale (en nmoles/h/mg de protéines)

groupe 1 (n = 6)	groupe 2 (n = 6)	groupe 3 (n = 7)	groupe 4 (n = 7)
28,47 $\pm 1,34$	25,43 * $\pm 1,31$	28,82 $\pm 0,89$	24,50 * $\pm 1,59$

Différence significative par rapport au groupe 1 (test de Fisher) : * $p < 0,01$

Le test ANOVA appliqué à ces résultats donne la valeur suivante : $F(3,22) = 18,95$; $p < 0,0001$. L'effet du traitement sur l'activité spécifique de la CAT est donc significatif. Les résultats des comparaisons multiples entre les 4 groupes à l'aide du test PLSD de Fisher figurent dans le tableau 59.

Tableau 59 : Résultats du test PLSD de Fisher appliqué à l'activité spécifique de la CAT.

	groupe 2	groupe 3	groupe 4
groupe 1	$p < 0,01$	NS	$p < 0,01$
groupe 2	•	$p < 0,01$	NS
groupe 3	$p < 0,01$	•	$p < 0,01$

Lorsque les rats sont normaux, l'intoxication entraîne une diminution de l'activité de la CAT de 10,6 % ($p < 0,01$) ; lorsqu'ils sont urémiques, la diminution est de 14,9 % ($p < 0,01$) mais du point de vue statistique, l'inhibition n'est pas plus importante.

B. Discussion

Statistiquement, l'inhibition de la CAT n'est pas plus importante dans le groupe 4 que dans le groupe 2 car les taux d'Al contenu dans les structures cérébrales de ces deux groupes ne sont pas significativement différents.

Johnson et Jope (1987) qui chez le Rat ont injecté par voie intracrânienne 0,5 μ mole de citrate ou de sulfate d'Al par hémisphère n'ont pas observé d'élévation du taux d'Al ni de modification de l'activité de la CAT dans le cortex, l'hippocampe et le striatum. Selon Perry et coll. (1987), des injections sous-cutanées de $\text{Al}(\text{OH})_3$ 200 mg Al/kg/j à des rats adultes normaux ou urémiques pendant une durée de 49 jours n'entraînent pas de modification du taux d'Al cérébral ni de l'activité de la CAT dans le cortex occipital ; les auteurs concluent que le Rat n'est pas un modèle pour étudier l'encéphalopathie aluminique. Mais d'après Lipman et coll. (1988), des injections intraventriculaires de tartrate de Na (dose totale : 0,2057 mg) provoquent chez le Rat une encéphalopathie létale après 30 - 35 jours. Celle-ci se caractérise par une modification du comportement, ainsi que des capacités d'apprentissage et de mémorisation. Le tracé de l'électrocorticogramme est également modifié. Les synaptosomes du cortex, du striatum et de l'hippocampe prélèvent moins de glucose que ceux des témoins. D'après cette équipe, la dose administrée reproduit les concentrations trouvées dans le cerveau des personnes atteintes d'encéphalopathie, et le Rat est un bon modèle pour étudier cette maladie. Ils n'ont pas évalué l'activité de la CAT.

Chez le Lapin adulte, l'administration intracisternale de poudre d'aluminium (130 μ l renfermant 1 % d'Al) entraîne une encéphalopathie, avec une diminution de l'activité de la CAT de plus de 30 % dans le striatum, une des rares structures qui ne comporte pas de dégénérescence neurofibrillaire (Hofstetter et coll. 1987).

Milland et coll. (1986) ont étudié les effets du chlorure d'Al sur l'activité de la CAT du cerveau basal antérieur chez le Poulet. Après avoir pratiqué une injection unique de chlorure d'Al (dose de 1 mmole/hémisphère) à l'âge de 2 jours, ils ont constaté une diminution d'activité de l'enzyme de 46 % à l'âge de 12 jours. L'inhibition est importante mais l'Al a été administré au début du développement.

Tous les auteurs cités précédemment qui ont étudié l'effet de Al sur l'activité de la CAT ont utilisé la microméthode de Fonnum (1975).

Perry et coll. (1987) n'ont pas obtenu de modification de l'activité de la CAT probablement parce que la concentration en Al du cerveau n'a pas varié, mais l'aluminémie ne dépassait pas 80 µg/l, contre des valeurs supérieures à 800 µg/l dans notre expérience. Lorsque chez le rat adulte le taux d'Al plasmatique est peu élevé, ce qui est généralement le cas lors des intoxications par les voies orales et sous-cutanées, la durée du traitement doit être suffisamment longue pour entraîner une variation du taux d'Al cérébral.

Les auteurs cités dans le tableau, qui ont pratiqué des injections IP de sels d'Al à des doses beaucoup plus faibles que la nôtre mais pendant une durée plus longue ont enregistré une élévation du taux d'Al dans le cerveau mais n'ont pas évalué l'activité de la CAT. Quoi qu'il en soit, dans cette expérience, l'activité de l'enzyme est inhibée d'environ 10 %.

Dans l'encéphalopathie aluminique des dialysés, l'inhibition varie de 10 à 30 % au niveau du cortex, suivant les régions (Perry et coll. 1977 ; Sweeney et coll. 1985). Rappelons que le noyau basal de Meynert, situé dans le cerveau basal antérieur, projette sur une grande partie du cortex (Fibiger 1982 ; Rye et coll. 1984).

A titre d'exemple, d'après Alfrey et coll. (1976), chez les personnes décédées d'encéphalopathie, les taux d'Al cérébraux, exprimés en µg/g de poids frais sont, dans le cerveau total, la substance blanche et la substance grise respectivement de $8,91 \pm 4,29$; $5,59 \pm 1,88$ et $24,98 \pm 9,10$ contre $1,30 \pm 0,68$; $2,00 \pm 0,63$ et $2,18 \pm 0,69$ pour les témoins.

Dans cette expérience, les structures cérébrales prises en compte sont différentes de celles de Perry et coll. 1977 et de Sweeney et coll. (1985). D'autre part elles sont composées essentiellement de substance blanche, mais comportent aussi de la substance grise. La comparaison avec les résultats des deux équipes précédentes est donc difficile, tant du point de vue de la diminution de l'activité de la CAT que de celui de la concentration en aluminium.

Mais l'intoxication entraîne une anorexie importante. Certains auteurs ont montré que chez le Rat adulte la malnutrition a des conséquences

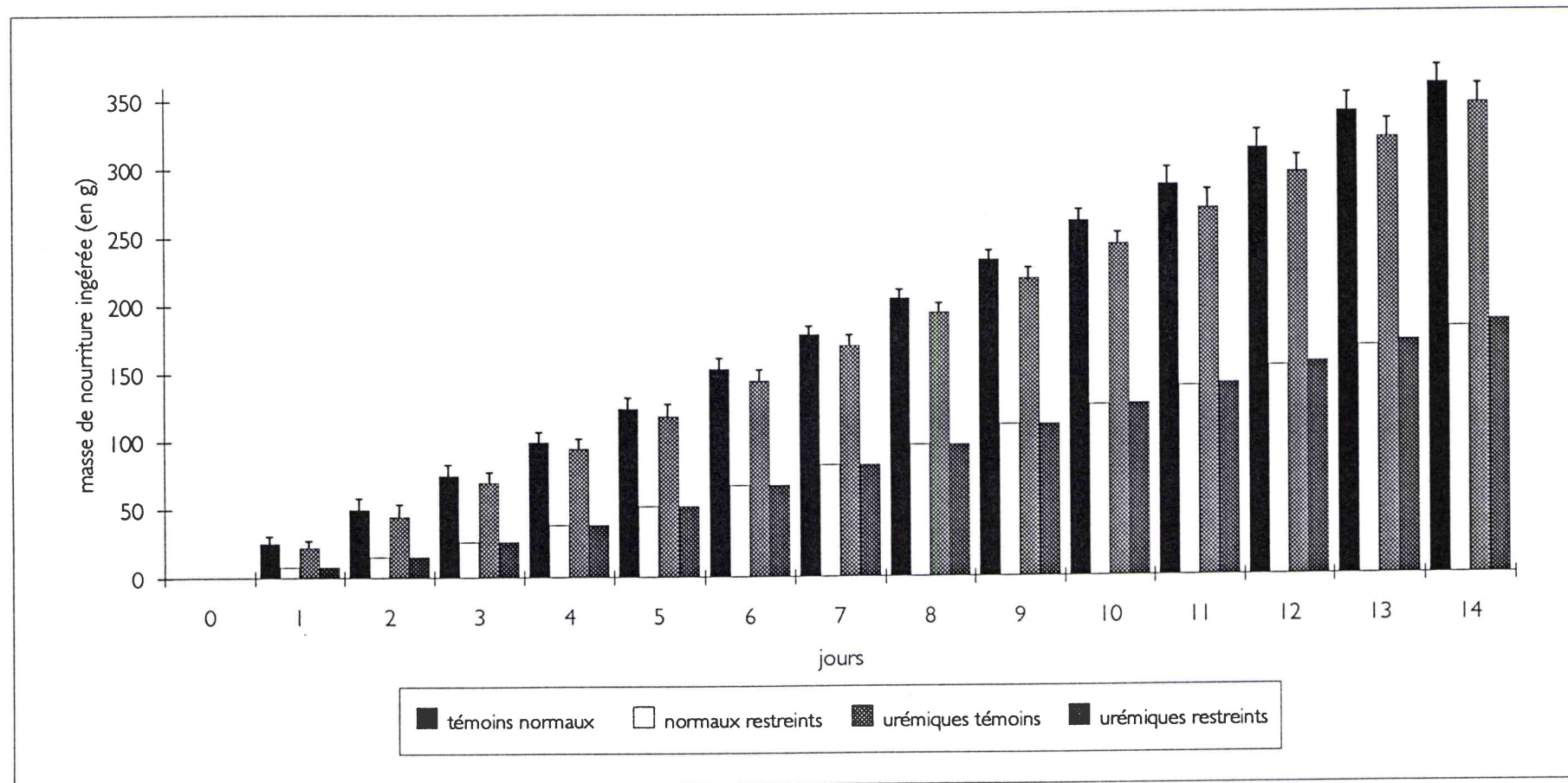


Fig 27 : Masse de nourriture ingérée par les rats mâles adultes restreints en nourriture

sur le comportement, en particulier sur la mémorisation (Oliveira et Almeida 1985 ; Katz 1980), et les systèmes cholinergiques, en particulier le noyau basal de Meynert, interviennent dans les processus mnésiques (Miyamoto et coll. 1987). D'autre part Patel et coll. (1978), Clos et coll. (1989) ont montré que lorsque la mère a été restreinte en nourriture, l'activité de la CAT est très réduite chez le jeune Rat. Il était donc indispensable de savoir si la baisse de l'activité de la CAT n'est pas due simplement à la malnutrition.

2.2. Seconde expérience

2.2.1. Masse de nourriture ingérée et évolution pondérale : résultat et commentaire

L'évolution pondérale et la masse de nourriture ingérée sont représentées respectivement par les fig 26 et 27

Au bout de 14 j, le groupe 2 a maigri de 28 g en moyenne, soit 7 g de moins que les rats normaux intoxiqués. Le groupe 4 a maigri autant que le groupe de rats urémiques intoxiqués - mais ces derniers retiennent de l'eau. Autrement dit l'aluminium semble avoir un effet direct sur l'évolution pondérale, en plus de celui sur la prise de nourriture. Toutefois, compte-tenu des écarts-types, les différences ne sont pas significatives ; il serait donc souhaitable de refaire une expérience avec un nombre beaucoup plus important d'animaux pour valider ce résultat.

2.2.2. Concentrations en Al du plasma et des homogénats hépatiques et cérébraux : résultats et commentaire

L'aluminium a été dosé à titre indicatif ; les valeurs, qui représentent des moyennes $\pm$ SD, figurent dans le tableau 60.

Tableau 60 : Concentrations en Al du plasma et des homogénats hépatiques et cérébraux.

	plasma (en $\mu\text{g/l}$)	homogénats de foie (en $\mu\text{g/g}$ de tissu frais)	homogénat cérébral(en $\mu\text{g/g}$ de tissu frais)
groupe 1 (n = 6)	32 ± 5	$3,01 \pm 0,82$	$3,40 \pm 0,44$
groupe 2 (n = 6)	26 ± 6	$3,22 \pm 0,92$	$3,25 \pm 0,25$
groupe 3 (n = 6)	30 ± 3	$2,98 \pm 0,45$	$3,10 \pm 0,31$
groupe 4 (n = 6)	29 ± 4	$3,12 \pm 0,37$	$3,32 \pm 0,36$

Comme on pouvait s'y attendre, il n'y a pas de différence significative entre les 4 groupes en ce qui concerne les taux d'Al plasmatiques, hépatiques et cérébraux.

2.2.3. Dosage de quelques variables plasmatiques : résultat et commentaire

Les résultats concernant le dosage des 4 variables plasmatiques : protéines totales, urée, acide urique et créatinine figurent dans le tableau 61 ; les valeurs représentent des moyennes $\pm$ SD.

Tableau 61 : Dosage de quelques variables plasmatiques

variable	groupe 1 (n = 6)	groupe 2 (n = 6)	groupe 3 (n = 6)	groupe 4 (n = 6)
protéines totales (g/l)	$65 \pm 2,2$	$65,5 \pm 2$	$67 \pm 1,5$	$65,4 \pm 2,5$
urée (mmoles/l)	$8,9 \pm 0,4$	$9,2 \pm 0,3$	$14,6 \pm 1,3$	$13,9 \pm 1,6$
acide urique ($\mu\text{moles/l}$)	220 ± 45	210 ± 18	227 ± 32	188 ± 25
créatinine ($\mu\text{moles/l}$)	57 ± 4	$56,5 \pm 4$	$105 \pm 5,4 *$	$101 \pm 3,2 *$

Différence significative par rapport au groupe 1 (test de Fisher) : * $p < 0,01$.

Aucune des 4 variables plasmatiques dosées n'est affectée par la restriction de nourriture, en particulier le taux de protéines totales reste constant.

Au bout de 14 jours, la restriction de nourriture n'entraîne pas de diminution du taux des protéines totales ; dans un premier temps l'animal restreint puise sur ses réserves et maigrit, comme le suggèrent Muller et coll. (1992) qui ont restreint en nourriture des rates femelles gestantes. Chez les rats intoxiqués, l'aluminium a donc un effet direct sur le taux de protéines plasmatiques en s'accumulant dans le foie, comme l'indiquent Berlyne et coll. (1972).

2.2.4. Activité de la CAT cérébrale : résultat et commentaire

Les résultats des mesures de l'activité de la CAT cérébrale figurent dans le tableau 62 ; les valeurs représentent des moyennes $\pm$ SD.

Tableau 62 : Activité de la CAT cérébrale (en nmoles/h/mg de protéines)

groupe 1 (n = 6)	groupe 2 (n = 6)	groupe 3 (n = 6)	groupe 4 (n = 6)
27,2 $\pm$ 0,68	27,5 $\pm$ 0,76	27,5 $\pm$ 1,57	27,9 $\pm$ 0,82

La restriction de nourriture n'entraîne pas de modification de l'activité de la CAT cérébrale. Chez les rats intoxiqués, la diminution de l'activité de la CAT cérébrale n'est pas liée à l'anorexie ni à l'amaigrissement ; l'effet de Al sur l'enzyme est donc direct.

CONCLUSION

L'effet d'une intoxication IP subaiguë avec AlCl_3 du rat adulte normal ou urémique se traduit par :

- une anorexie, accompagnée d'un amaigrissement important
- une forte augmentation de la concentration en Al dans le plasma, une accumulation très importante du métal dans le

foie mais relativement faible dans le cerveau ; l'accumulation de Al dans le foie entraîne une diminution du taux de protéines plasmatiques totales ; celle-ci n'est pas due à l'anorexie. L'augmentation de la concentration en Al dans le cerveau se traduit par une inhibition de l'activité de la CAT.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Les résultats de ce travail, envisagé sous l'angle du développement, peuvent être regroupés en deux points :

- les effets du l'aluminium sur l'activité spécifique de la cholineacétyltransférase cérébral, *in vitro* et *in vivo*.
- les conséquences des intoxications orales et intrapéritonéales sur la nutrition.

Effet de l'aluminium sur l'activité spécifique de la cholineacétyltransférase cérébrale au cours du développement.

In vitro :

- Chez le rat adulte, l'activité de la CAT est inhibée par le chlorure d'Al, à des doses comprises entre 10^{-3} à 10^{-2} M ; l'inhibition augmente avec la concentration ; à 10^{-2} M, elle est de 15 %
- Chez le jeune rat, l'activité de l'enzyme est tantôt inhibée, tantôt activée suivant la dose de l'aluminium. A la concentration en Al de 10^{-3} M, l'inhibition est de 13,6 % à l'âge de 15 jours. A ce même stade, l'enzyme est activée aux concentrations de $5 \cdot 10^{-3}$ et 10^{-2} M ; à 10^{-2} M, l'activation est de 22 %.

L'enzyme se présenterait sous deux ou trois formes différant par leurs points isoélectriques ou leurs sites catalytiques, et la modification de la proportion entre les différentes isoenzymes se produirait vers l'âge de 30 jours. L'une, prépondérante chez le jeune, serait activée par l'aluminium au delà d'une certaine dose alors que l'autre, prépondérante chez l'adulte, serait inhibée.

Compte-tenu des concentrations en Al utilisées, les variations de l'activité enzymatique apparaissent peu importantes ; la raison est qu'une partie du métal se fixe sur différents composés présents dans l'homogénat et n'atteint pas l'enzyme.

*In vivo :*1. Intoxications par voie orale :

- Les intoxications orales prénatales par l'intermédiaire de la mère n'ont aucun effet sur l'activité de la CAT chez le jeune.

- Les intoxications orales post-natales par intubation gastrique du jeune rat entraînent une inhibition de l'enzyme respectivement de 11 % au chlorure d'Al (dose : 100 mg Al/kg/j pendant 10 jours). De l'aluminium est absorbé et pénètre en partie dans le cerveau. Toutefois l'intoxication au lactate s'accompagne d'une sous-nutrition qui pourrait être elle-même à l'origine de l'inhibition de la CAT.

- Chez l'adulte des intoxications réalisées dans les mêmes conditions que chez les jeunes (intubation gastrique pendant 10 jours) n'entraînent pas de modification de l'activité de la CAT car très peu d'aluminium est absorbé. Toujours chez l'adulte, lorsque $AlCl_3$ est additionné à la nourriture à la dose de 300 mgAl/kg/j pendant 14 j, l'activité de la CAT ne varie pas car là-encore la quantité d'Al absorbé est très insuffisante pour que le métal puisse s'accumuler dans le plasma, et à plus forte raison dans le cerveau, même lorsque les animaux ont été rendus urémiques.

Chez le jeune, l'immaturité du tractus gastrointestinal et la barrière hémocéphalique font que l'aluminium parvient assez facilement au cerveau même lorsque les doses sont relativement faibles et qu'elles sont administrées pendant une période brève (10 jours).

Il est donc absolument indispensable de contrôler l'aluminémie des nourrissons et des enfants à qui l'on prescrit par voie orale des composés renfermant de l'aluminium et pour chaque sel, la dose maximale à administrer devrait être inférieure à celle de l'adulte.

2. Intoxications par voie intrapéritonéale.

Les intoxications aiguës par voie IP ont montré que :

- après 48 h une aluminémie élevée n'entraîne pas d'élévation du taux d'Al dans le cerveau chez le rat de 15 j et chez l'adulte, ni de modification de l'activité de la CAT cérébrale.

- après 14 j, chez l'adulte, lorsque l'aluminémie a été très importante, l'Al s'est fortement accumulé dans le foie et faiblement dans le cerveau. L'activité de la CAT cérébrale diminue de 10 à 15 % seulement ; la baisse est comparable à celle que l'on observe dans l'encéphalopathie des dialysés. Dans la maladie d'Alzheimer l'activité de l'enzyme peut diminuer jusqu'à 90 % alors que les taux d'Al décelés dans le cerveau sont beaucoup plus faibles que ceux des patients atteints d'encéphalopathie, mais il faut tenir compte de la dégénérescence cellulaire. L'aluminium pourrait être un des nombreux facteurs intervenant dans la genèse de cette maladie.

Conséquences des intoxications orales et intrapéritonéales sur la nutrition
--

Les intoxications à l'aluminium ont des conséquences nutritionnelles importantes.

La croissance est ralentie chez l'adulte et le jeune. Les adultes sont anorexiques ; chez les jeunes la consommation de nourriture n'est pas contrôlable mais on peut supposer qu'elle diminue aussi. Dans tous les cas il apparaît après séparation des protéines que le taux d'albumine diminue fortement alors que celui des α_1 globulines augmente. La diminution du taux d'albumine pourrait être due à l'accumulation de l'aluminium dans le foie qui ralentirait alors sa synthèse. Quant à l'élévation du taux des α_1 globulines, elle est le signe d'une inflammation.

Les expériences de restriction alimentaire pratiquées chez les adultes ont montré que la diminution de l'activité de la CAT constatée lors des intoxications IP est due à l'aluminium et non à la sous-alimentation.

Perspectives

En ce qui concerne la cholineacétyltransférase, il serait souhaitable de pratiquer des fractionnements subcellulaires afin d'isoler et localiser les isoenzymes éventuelles, et de rechercher l'impact de l'aluminium sur celles-ci, à partir de structures bien définies (cerveau basal, hippocampe...)

Les protéines plasmatiques chez le jeune et l'adulte devront être séparées à partir du serum et non du plasma afin de rechercher l'impact de l'aluminium sur le taux de fibrinogène ; les α_1 globulines devront également être séparées.

Les études de microanalyse aux rayons X et de microscopie électronique pratiquées sur la muqueuse duodénale des jeunes intoxiqués par voie orale ont montré qu'il se produit des modifications du diamètre des *microvilli*, et de la concentration de certains éléments. Il serait intéressant de savoir si il se produit également des modifications dans l'iléon, le jejunum et le colon, et de rechercher l'effet éventuel de l'aluminium sur les organites des entérocytes. Enfin les mêmes études devraient être menées chez des rats adultes.

BIBLIOGRAPHIE

- ACKRILL P, BARRON J., WHITEY S., HORN A.C. and RALSTON A.J. (1979). A new approach to the early detection of dialysis encephalopathy.
Proc. Eur. Dial. Transplant Assoc., 16, 659 - 660.
- ACKRILL P., DAY J.P., GARTANG F.M., HODGE K.C., METCALFE P.J., BENZO Z., HILL K., RALSTON A.J., BALL J. and DENTON J. (1982). Treatment of fracturing renal osteodystrophy by desferrioxamine.
Proc. Eur. Dial. Transplant. Assoc., 19, 203 - 207.
- ACKRILL P. and DAY. J.P.(1985). Desferrioxamine in the treatment of aluminum overload.
Clin. Nephrol., 24, 594 - 597.
- ACKRILL P., RALSTON A.J. and DAY J.P. (1986). Role of desferrioxamine in the treatment of dialysis encephalopathy.
Kidney Int., 29, 104 - 107.
- ADELMAN R.D. and HOLLIDAY M.A. (1977). Improved growth in growth retarded uremic rats with the use of calorie supplementation.
Clin. Nephrol., 8, 298 - 303.
- ADLER A.J. and BERLYNE G.M. (1985). Duodenal aluminum absorption in the rat : effect of vitamin D.
Gastrointest. Liver Physiol., 12, 209 - 213.
- ALFREY A.C., MISHEL J.M., BURKS J., CONTIGUGLIA S.R., RUDOLPH H., LEWIN E. and HOLMES J.H. (1972). Syndrome of dyspraxia and multifocal seizures associates with chronic hemodialysis.
Trans. Amer. Soc. Artif. Int. organs., 18, 257 - 261.
- ALFREY A.C., LE GENDRE G., KAEHNY M.S. and KAEHNY W.D. (1976). The dialysis encephalopathy syndrome : possible aluminum intoxication.
N. Engl. J. Med., 294, 184 - 188.
- ALFREY A.C., HEGG A. and CRASWELL P. (1980). Metabolism and toxicity of aluminum in renal failure ·
Am. J. Clin. Nutr., 33, 1509 - 1516.
- ALFREY A.C. (1983). Aluminum.
Adv. Clin. Chem., 23, 59 - 91.

- ALFREY A.C. (1984). Aluminum intoxication.
N. Engl. J. Med., 310, 1113 - 1115.
- ALFREY A.C., SEDMAN A. and CHAN Y.L. (1985). The compartmentalization and metabolism of aluminum in uremic rats.
J. Lab. Clin. Med., 105, 227 - 233.
- ALLAIN P., MAURAS Y., KRAKI N., COURNOT A. and LARCHEVEQUE J. (1990). Plasma and urine aluminum concentrations in healthy subjects after administration of sucralfate.
Br. J. Clin. Pharmacol., 29, 391 - 395.
- ALZHEIMER A. (1907). Ueber eine eigenartige Erkrankung der Hirnrinde.
Allgemeine Z. Psychiatr., 64, 146 - 148.
- ANDERSON K.K., PEREZ G.L., FISHER G.H. and MAN E.H. (1990). Effect of aluminum ingestion on aspartate racemization in the protein of rat brain.
Neurosci. Res. Commun., 6, 45 - 50
- ANDREOLI S.P., BERGSTEIN J.M. and SHERRARD D.J. (1984). Aluminum intoxication from aluminum-containing phosphate binders in children with azotemia not undergoing dialysis.
N. Engl. J. Med., 17, 1079 - 1084.
- ANDRESS D.L., MALONEY N.A., ENDRES D.B. and SHERRARD D.J. (1986). Aluminum-associated bone disease in chronic renal failure : high prevalence in a long terme dialysis population.
J. Bone Miner. Res., 1, 391 - 398.
- APPEL S.H., BOSTWICK J.R., CRAWFORD G. and McMANAMAN J.L. (1988). Cholinergic trophic factors in Alzheimer disease. Dans "Aging and the Brain", ed R.D. Terry. Raven Press, New York, pp 287 - 299.
- ARIEFF A.I., COOPER J.D., ARMSTRONG D. and LAZAROWITZ V.C. (1979). Dementia, renal failure and brain aluminum.
Ann. Int. Med., 90, 741 - 747.
- ARMSTRONG D.M., SAPER C.B., LEVEY A.I., WAINER B.H. and TERRY R.D. (1983). Distribution of cholinergic neurons in Rat brain : demonstrated by the immunocytochemical localization of choline acetyltransferase.
J. Comp. Neurol., 216, 53 - 68.
- ATTERWILL C.K. and PRINCE A.K. (1978). Multiple forms of choline acetyltransferase and the high affinity uptake of choline in brain of developing and adult Rats.
J. Neurochem., 31, 719 - 725.

- BADAMCHIAN M., MORROW Jr K.J. and CARROLL P.T. (1986). Immunological, isoelectric, hydrophobic and molecular weight differences between soluble and ionically membrane-bound fractions of choline o-acetyltransferase prepared from Mouse and Rat brain.
Neurochem. Int., 9, 409 - 421.
- BAKIR A.A., HRYHORCZUK D.O., BERMAN E. and DUNEA G. (1986). Acute fatal hyperaluminemic encephalopathy in undialysed and recently dialyzed uremic patients.
Trans. Am. Soc. Artif. Internal Organs, 32, 171 - 176.
- BALLANTI P., MOCETTI P., DELLA ROCCA C., BONUCCI E., COSTANTINI S., GIORDANO R., IOPPOLO A. and MANTOVANI A. (1989). Experimental aluminum intoxication and parathormone : effects on the mineralization process.
Miner. Electrolyte Metab., 15, 233 - 240.
- BANIN E. and MEIRI H. (1987). Toxic effects of alumino-silicates on nerve cells.
Neuroscience, 39, 171 - 178
- BANKS W.A. and KASTIN A.J. (1983). Aluminium increases permeability of the blood brain barrier to labelled DSIP and β endorphin : possible implications for senile and dialysis dementia.
Lancet, 26, 1227 - 1229.
- BANKS W.A., KASTIN A.J. and MICHALS E.A. (1987). Tyr-MIF-1 and methionine enkephalin share a saturable blood-brain barrier transport system.
Peptides, 8, 899 - 903.
- BANKS W.A. and KASTIN (1989). Aluminium-induced neurotoxicity : alterations in membrane function at the blood-brain barrier. Neurosci. Biobehav. Rev., 13, 47 - 53.
- BANNS H.E. (1976). A study of the molecular sizes and stability of choline acetyltransferase.
J. Neurochem., 26, 967 - 971
- BARTUS R.T., DEAN R.L., BEER B. and LIPPA A.S. (1982). The cholinergic hypothesis of geriatric memory dysfunction.
Science, 217, 408 - 417.
- BEHROUZ N., DEFOSSEZ A., DELACOURTE A. et MAZZUCA M. (1990).
Maladie d'Alzheimer : la beta protéine amyloïde A4 est aussi présente dans la substance blanche corticale.
C.R. Acad. Sci. Paris, 310, 539 - 544.

- BENETT NR.W., PERSAUD T.V.N. and MOORE K.L. (1975). Experimental studies on the effects of aluminum on pregnancy and fetal developpement. Anat. Anz., 138, 365 - 378.
- BENINGER R.J., WIRSCHING B.A., JHAMANDAS K. and BOEGMAN R.J. (1989). Animal studies of brain acetylcholine and memory. Arch. Gerontol. Geriatr., 1, 71 - 90
- BENOWITZ L.I., RODRIGUEZ W., PASKEVICH P., MUFSON E.J., SCHENK D. and NEVE R.L. (1989). The amyloid precursor protein is concentrated in neuronal lysosomes in normal and Alzheimer disease subjects. Exp. Neurol., 106, 237 - 250.
- BENTON J.S., BOWEN D.M., ALLEN S.J., HAAN E.A., DAVISON A.N., NEARY D., MURPHY R.P. and SNOWDEN J.S. (1982). Alzheimer's disease as a disorder of isodendritic core. Lancet, i, 456.
- BERGER B., TASSIN J.P., RANCUREL G. and BLANC G. (1980). Catecholaminergic innervation of the human cerebral cortex in presenile and senile dementia. Histochemical and biochemical studies . In Usdin E., Sourkes T.L. and Youdim M.B.H. (Eds). Enzymes and neurotransmitters in mental disease, pp 317 - 328. John Wiley & sons. Chischester.
- BERGER B. (1984). Anomalies des neurotransmetteurs dans la maladie d'Alzheimer. Rev. Neurol., 140, 539 - 552.
- BERLYNE G.M., BENARI J., LEST D., WEINBERGER J., STERN M., GILMORE G.R. and LEVINE R. (1970). Hyperaluminioemia from aluminium resins in renal failure. Lancet, 2, 494 - 496.
- BERLYNE G.M., BENARI J., KNOPF E., YAGIL R., WEIBERGER G. and DANOVTCH G.M. (1972). Aluminum toxicity in Rats. Lancet, 1, 564 - 567.
- BERNUZZI V., DESOR D. and LEHR P. (1986). Effects of prenatal aluminum exposure on neuromotor maturation in the Rat. Neurobehav. Toxicol. Teratol., 8, 115 - 119.
- BERNUZZI V., DESOR D. and LEHR P. (1989). Developmental alterations in offspring of female Rats orally intoxicated by aluminum chloride or lactate during gestation. Teratology, 40, 21 - 27.

- BERNUZZI V., DESOR D. and LEHR P.R. (1989). Effects of postnatal aluminum lactate exposure on neuromotor maturation in the Rat.
Bull. Environ. Contam. Toxicol., 42, 451 - 455.
- BERRY J.P., HENOC P. and GALLE P. (1978). Phagocytosis by cells of the pulmonary alveoli ; transformation of crystalline particles.
Am. J. Pathol., 93, 27 - 44
- BERTHOLF R.L., WILLS M.R. and SAVORY J. (1984). Quantitative study of aluminum binding to human serum albumin and transferrin by a chelex competitive binding assay.
Biochem. Biophys. Res. Commun., 125, 1020 - 1024.
- BIRCHALL J.D., CHAPPELL J.S. and F.R.S. (1987). The solution chemistry of aluminium and silicon and its biological significance.
To be published in : Proceedings of the second international symposium on geochemistry and health (Editor : I. Thornton) monograph series : geochemistry and health science reviews LTD, 40, the Fairways, Northwood, Middlesex, HA6 3DY, UK.
- BIRD T.D., STRANAHAN S., SUMI S.M. and RASKIND M. (1983). Alzheimer's disease : choline acetyltransferase activity in brain tissue from clinical and pathological subgroups.
Ann. Neurol., 14, 284 - 293.
- BISHOP N.J., ROBINSON M.J., LENDON M., HEWITT C.D. and O'HARA M. (1989). Increased concentration of aluminium in the brain of a parenterally fed preterm infant.
Arch. Dis. Child., 64, 1316 - 1317.
- BLUSZTAJN J.K. and WURTMAN R.J. (1983). Choline and cholinergic neurons.
Science, 221, 614 - 620
- BOCOCK M.A. and ZLOTKIN S.H. (1990). Hepatic sulfur amino acid metabolism in rats with chronic renal failure.
J. Nutr., 120, 691 - 699.
- BOMMER J., WALDHERR R., WIESER P.H. and RITZ E. (1983). Concomitant lysosomal storage of iron and aluminium dialysis patients.
Lancet, I, 1930
- BONDAREFF W., MOUNTJOY C.Q. and ROTH M. (1982). Loss of neurons of origin of the adrenergic projection to cerebral cortex (nucleus locus ceruleus) in senile dementia.
Neurology, 32, 164 - 168.

- BONHAUS W.D., McCORMACK M.K., MAYOR G.H., MATTSON J.C. and HOOK J.B. (1980). The effects of aluminum on microtubular integrity using *in vitro* and *in vivo* models.
Toxicol. Lett., 6, 141 - 147.
- BONHOMME L., LOMBARD M.N., HALPERN S. et FRAGU P. (1989).
Augmentation de la concentration d'aluminium nucléaire pendant la régénération hépatique : étude par microscopie ionique analytique.
C.R. Acad. Sci. Paris, 308, 293 - 297.
- BOUKARI M., ROTTEMBOURG J., JAUBON M.C., CLAVEL J.P., LEGRAIN M. et GALLI A. (1978). Influence de la prise prolongée de gels d'alumine sur les taux sériques d'aluminium chez les patients atteints d'insuffisance rénale chronique.
Nouv. Presse Med., 7, 85 - 88.
- BOWEN D.J., SPILLANE J.A., CURZON G., MEIR-ROSE W., WHITE P. and GOODHART M.J. (1979). Accelerated aging or selective neuronal loss as an important cause of dementia.
Lancet, i, 11 - 14.
- BRADY D.R., PHELPS P.E. and VAUGHN J.E. (1989). Neurogenesis of basal fore-brain cholinergic neurons in rat.
Develop. Brain Res., 47, 81 - 92.
- BRAHM M. (1986). Serum-aluminium in nondialyzed chronic uremic patients before and during treatment with aluminum-containing phosphate-binding gels.
Clin. Nephrol., 25, 231 - 235.
- BRÄUNLICH H., FLECK C., KERSTEN L., STEIN G., LASKE V., MÜLLER A., KEIL E. (1986). Renal effects of aluminum in uraemic Rats and in Rats with intact kidney function.
J. Appl. Toxicol., 6, 55 - 59.
- BREMMER I. (1981). The nature and function of metallothionein.
Dans "Trace element metabolism in Man and Animals."
Australian Academy of Science, Canberra.; p. 637.
- BROWN D.J.A. (1983). Effect of calcium and aluminum concentrations on the survival of brown trout (*Salmo trutta*) at low pH.
Bull. Environ. Contam. Toxicol., 30, 582 - 587.

- BRUCE G. and HERSH L.B. (1987). Studies on detergent released choline acetyltransferase from membrane fractions of Rat and Human brain. Neurochem. Res., 12, 1059 - 1066
- BUGE A., POISSON M., MASSON M.S., BLEIBEL J.M., LAFFORGUE B., RAYMOND P. et JAUDON M.C. (1978). Encéphalopathie prolongée et réversible chez un dialysé chronique. Responsabilité probable des sels d'aluminium. Nouv. Presse Med., 7, 2053 - 2059.
- BUGE A., POISSON M., MASSON S., BLEIBEL J.M., MASHALY R., JAUDON M.C., LAFFORGUE B., LEBKIRI B. et RAYMOND P. (1979). Encéphalopathie réversible des dialysés après arrêt de l'apport d'aluminium. Nouv. Presse Med., 8, 2729 - 2733.
- BUGIANI O. and GHETTI B. (1982). Progressing encephalo-myelopathy with muscular atrophy, induced by aluminum powder. Neurobiol. Aging, 3, 209 - 222.
- CAHN Y.L., ALFREY A.C., POSEN S., LISSNER D., HILLS E., DUNSTAN C.R. and EVANS R.A. (1983). Effect of aluminium on normal and uremic rats : tissue distribution, vitamin D metabolites and quantitative bone histology. Calcif. Tissue, 35, 344 - 351.
- CAMPBELL I.R., CASS J.S., CHOLAK J. and KEHOE R.A. (1957). Aluminium in the environment of man. A review of his hygienic status. Arch. Industr. Hlth., 15, 359 - 448.
- CAMPISTOL J.M., CASES A., BOTEY A. and REVERT A. (1989). Acute aluminum encephalopathy in an uremic patient. Nephron, 51, 103 - 106.
- CANDY J.M., PERRY R.H., PERRY E.K., IRVING D., BLESSED G., FAIRBAIRN A.F. and TOMLINSON B.E. (1983). Pathological changes in the nucleus of Meynert in Alzheimer's and Parkinson's diseases. J. Neurol. Sci., 54, 277 - 289.
- CANDY J.M., OAKLEY A.E., WATT F., GRIME G.W., KLINOWSKI J., PERRY R.H. and EDWARDSON J.A. (1986). A role for aluminum, silicon and iron in the genesis of senile plaques. Modern Trends in Aging Research, Colloque INSERM-EURAGE/ John Libbey Eurotext Ltd, 147, pp 443 - 450.
- CANNATA J.B., BRIGGS J.D., JUNOR B.J.R. and FELL G.S. (1983). Aluminium hydroxide intake : real risk of aluminium toxicity. Brit. Med. J., 286, 1937 - 1938.

- CANNATA J.B., GOMEZ ALONSO C., FERNANDEZ MENENDEZ M.J.,
FERNANDEZ MARTIN J.L., Mc GREGOR S.J., BROCK J.H. and HALL D.
(1991). Role of iron metabolism in absorption and cellular uptake of
aluminum.
Kidney Int., 39, 799 - 803.
- CARTIER F., ALLAIN P., GARY J., CATCHEL M., MENAULT F. and PECKER S.
(1978). Encéphalopathie myoclonique progressive des dialysés. Rôle de l'eau
utilisée pour l'hémodialyse.
Nouv. Presse Med., 7, 97 - 102.
- CHANUTIN A. and FERRIS E.B. (1932). Experimental renal insufficiency
produced by partial nephrectomy.
Arch. Int. Med., 49, 767 - 787.
- CHAN Y.L., ALFREY A.C., POSEN S., LISSNER D., HILLS E., DUNSTAN C.R. and
EVANS R.A. (1983). Effect of aluminium on normal and uremic rats : tissue
distribution, vitamin D metabolites and quantitative bone histology.
Calcif. Tissue, 35, 344 - 351.
- CHAO L.P. (1978). Choline acetyltransferase. The absence of multiple forms and
purification from Mouse brain.
Neurochem. Res., 3, 549 - 561.
- CHARHON S.A., CHAPUY M.C., TRAEGER J. and MEUNIER P.J. (1984).
Intoxication des dialysés rénaux par l'aluminium : aspects histologiques
osseux. Intérêt de la biopsie osseuse quantitative.
Presse Méd., 13, 1431 - 1434.
- CHARHON S.A., CHAVASSIEUX P., CHAPUY M.C., ACCOMINOTTI M.,
TRAEGER J. and MEUNIER P.J. (1986). Traitement par la desferrioxamine
de l'ostéomalacie par intoxication à l'aluminium.
Presse Méd., 15, 55 - 59.
- CHRISTON R., DAVE LOOSE D., MESLIN J.C., VIRET J. and LEGER C.L. (1989).
Modifications structurales et fonctionnelles de la bordure en brosse
entérocytaire en fonction de l'apport alimentaire d'acides gras polyinsaturés
essentiels.
Léger C.L., Béréziaat G. Eds. Biomenbranes and Nutrition. Colloque INSERM
195, 207 - 217.
- CHU S.W. and WALKER W.A. (1988). Development of the gastrointestinal mucosal
barrier : changes in phospholipid head groups and fatty acid composition of
intestinal microvillus membranes from newborn and adult rats.
Pediatr. Res., 23, 439 - 442.

- CLOS J., GHANDOUR S., EBERHART R., VINCENDON G. and GOMBOS G. (1989). The cholinergic system in developing cerebellum : comparative study of normal, hypothyroid and underfed rats.
Dev. Neurosci., 11, 188 - 204.
- COCHRAN M., COATES J. and NEOH S. (1984). The competitive equilibrium between aluminum and ferric ions for the binding sites of transferrin.
Febs Letters, 176, 129 - 132.
- COLLETI - PREVIERO M.A. and PREVIERO A. (1989). Alumina - phosphate complexes for immunobilization of biomolecules.
Analyt. Biochem., 180, 1 - 10.
- COLOSO R.M. and STIPANUK M.H. (1989). Metabolism of cystéine in rat enrerocytes.
J.Nutr., 119, 1914 - 1924.
- CONSTANTINIDIS J. (1978). Is Alzheimer's disease a major form of senile dementia ? Clinical, anatomical and genetic date. Dans "Aging and the Brain", ed R.D. Terry. Raven Press, New York.
- CONSTANTINIDIS J. (1984). Acetylcholine, glutamate, gaba and neuropeptides in senile dementia of Alzheimer type. Dans "Senile Dementia : Outlook for the future". Alan R. Liss Inc, New-York. pp 55 - 68
- CORNFORD E.M., BRAUN L.D. and OLDENDORF W.H. (1978). Carrier mediated blood-brain barrier transport of choline and certain choline analogs.
J. Neurochem., 30, 299 - 308
- CORWIN J., SERBY M. and ROTROSEN J. (1986). Olfactory deficits in AD : What we know about the nose.
Neurobiol. aging, 7, 580 - 582.
- COSTANTINI S., GIORDANO R., IOPPOLO A., MANTOVANI A., BALLANTI P., MOCETTI P. and BONUCCI E. (1989). Distribution of aluminium following intraperitoneal injection of aluminium lactate in the rat.
Pharmacol. and Toxicol., 64, 47 - 50.
- CRAPPER D.R., KRISHNAN S.S. and DALTON A.T. (1973). Brain Aluminum distribution in Alzheimer's disease and experimental neurofibrillary degeneration.
Science, 180, 511 - 513.

- CRAPPER D.R. and TOMKO G.J. (1975). Neuronal correlates of an encephalopathy associates with aluminum neurofibrillary degeneration.
Brain Res., 97, 253 - 264.
- CRAPPER D.R., KRISHNAN S.S. and QUITTKAT S. (1976). Aluminium, neurofibrillary degeneration and Alzheimer's disease.
Brain, 99, 67 - 80.
- CROSS A.J., CROW T.J., PERRY E.K., PERRY R.H, BLESSED G and TOMLINSON B.E. (1981). Reduced dopamine-beta hydroxylase activity in Alzheimer's disease.
Br. Med. J., 282, 93 - 94.
- CROSS A.J., CROW T.J., JOHNSON J.A., JOSEPH H.H., PERRY E.K., PERRY R.H., BLESSED G. and TOMLINSON D.E. (1983). Monoamine metabolism in senile dementia of Alzheimer's type.
J. Neurol. Sci., 60, 383 - 392.
- CUEZVA J.M., MORENO F.J., MEDINA J.M. and MAYOR F. (1980). Prematurity in the rat. I. Fuels and gluconeogenic enzymes.
Biol. Neonate, 37, 88 - 95.
- DALEBAR J.M., GOLDGABOR M., LAMOUR Y. *et al* (1987). Beta amyloid gene in Alzheimer's disease and karyotypically normal Down syndrome.
Science, 235, 1390 - 1392.
- DAVE G. (1985). The influence of pH on the toxicity of aluminum, cadmium and iron to eggs and larvae of the Zebrafish, *Brachydanio rerio*.
Ecotoxicol. Environ. Safety, 10, 253 - 267.
- DAVIES P. and MALONEY A.J.F. (1976). Selective loss of central cholinergic neurons in Alzheimer's disease.
Lancet, ii, 1403.
- DAVIES P. and TERRY R.D. (1981). Cortical somatostatin-like immunoreactivity in cases of Alzheimer's disease and senile dementia of the Alzheimer type.
Neurobiol. Aging, 2, 9 - 14.
- DE BONI U., SCOTT J.W. and CRAPPER D.R. (1974). Intracellular aluminum binding ; A, histochemical study.
Histochemistry, 40, 31 - 37.
- DE BONI U. and CRAPPER MC LACHLAN D.A. (1980). Senile dementia and Alzheimer 's disease : A current view.
Life Sci., 27, 1 - 14.

- DEFOSSEZ A., PERSUY P., TRAMU G. and DELACOURTE A. (1986). Etude immunohistochimique des lésions élémentaires de la maladie d'Alzheimer. L'Encéphale, 12, 161 - 168.
- DEIEN-PERON J., CARTIER F., GARY J., MENAULT F. et TOULOUSE P. (1978). L'électroencephalographie dans l'encéphalopathie progressive des dialysés. Rev. E.E.G. Neurophysiol., 8, 224 - 232.
- DELONCLE R., GUILLARD O., CLANET F., COURTOIS P. and PIRIOU A. (1990). Aluminum transfer as glutamate complex through blood-brain barrier. Possible implication in dialysis encephalopathy. Biol. Tr. Elem. Res., 25, 39 - 45.
- DEMONTIS R., LEFLON A., FOURNIER A., TAHIRI Y., HERVE M., MORINIERE P., ABDULL-MASSIH Z., ATIK H., BELBRIK S., RENAUD H. and PLAQUET R. (1986). 1α (OH) vitamin D₃ increases plasma aluminum in hemodialized patients taking Al (OH)₃. Clin. Nephrol., 26, 146 - 149.
- DERMOTT J.R., SMITH A.I., IQBAL K. and WISNIEWSKI H.M. (1977). Aluminium and Alzheimer's disease. Lancet, 11, 710.
- DEZA L. and EIDELBERG E. (1967). Development of cortical electrical activity in the rat. Exp. Neurol., 17, 425 - 438
- DE OLIVEIRA L.M. and ALMEIDA S.S. (1985). Effects of malnutrition and environment on acquisition and extinction of avoidance behavior in Rats. Physiol. Behav., 34, 141 - 145.
- DIAL E.J. and LICHTENBERGER L.M. (1989). Development of the gastric barrier to acid. Dans "Human Gastrointestinal Development" Ed. Lebenthal E. Raven Press, pp 353 - 363.
- DIAZ M., KLEINKNECHT C. and BROYER M. (1975). Growth in experimental renal failure : role of calorie and amino acid intake. Kidney Int., 8, 349 - 354.
- DION T.L., MARKELONIS G.J., OH T.H., BREGMAN B.S., PUGH M.A., HOBBS S.L. and KIM Y.C. (1988). Immunocytochemical localization of transferrin and mitochondrial malate deshydro-genase in the developong nervous system of the rat. Dev. Neurosci., 10, 152 - 164.

- DOBBING J. (1974). The later growth of the brain and its vulnerability.
Pediatrics, 53, 2 - 6.
- DOBBING J. and SMART J.L. (1974). Vulnerability of developing brain and behaviour.
Br. med. Bull., 30, 164 - 168.
- DRACHMAN D.A. (1977). Memory and cognitive function in man : Does the cholinergic system have a specific role ?
Neurology, 2, 783 - 790.
- DRISCOLL C.T.jr, BAKER J.P., BISOGNI J.J.jr and SCHOFIELD C.L. (1980). Effect of aluminum speciation on fish in dilute acidified waters.
Nature, 284, 161 - 164.
- DRÜEKE T., LACOUR B., TOUAM M., BASILE C. and BOURBON R. (1985). Oral aluminium administration to uremic, hyperparathyroid or vitamin D - supplemented rats.
Nephron, 39, 10 -17.
- DRÜEKE T., LACOUR B., TOUAM M., JUCQUEL J.P., PLACHOT J.J., COURNOT - WITMER G. and GALLE P. (1986). Effects of aluminium on hematopoiesis.
Kidney Int., 29, S45 - S48.
- DRÜEKE T. (1993). Adynamic bone disease, anaemia, resistance to EPO and iron-aluminium interaction.
Nephrol. Dial. Transplant. (sous presse).
- DUCKETT S. and GALLE P. (1976). Mise en évidence de l'aluminium dans les plaques séniles de la maladie d'Alzheimer : étude de la microsonde de casting.
C. R. Acad. Sci.Paris, 282, 393 - 395.
- DUNDEE J.W. and PANDITT S.K. (1972). Anterograde amnesic effects of pethidine, hyoscine and diazepam in adults.
Br. J. Pharmacol., 44, 140 - 144.
- ELBLE R., GIACOBINI E. and HIGGINS C. (1989). Choline levels are increased in cerebrospinal fluid of Alzheimer patients
Neurobiol. Aging, 10, 45 - 50.
- ELIAS A.N., VAZIRI N.D., PANDIAN M.R., IYER K. and ANSARI M.A. (1987). Gamma aminobutyric acid and dysregulation of TSH secretion in uremic male rats.
Nephron, 46, 301 - 304.

- ELLIS H.A., McCARTHY J.H. and HERRINGTON J. (1979). Bone aluminium in haemodialysed patients and rats injected with aluminium chloride : relationship to impaired bone mineralization.
J. Clin. Pathol., 32, 832 - 844.
- ETIENNE P., ROBITAILLE Y., WOOD P., GAUTHIER S., NAIR N.P.V. and QUIRION R. (1986). Nucleus basalis neuronal loss, neuritic plaques and choline acetyltransferase activity in advanced Alzheimer's disease.
Neuroscience, 19, 1279 - 1291.
- FARNELL B.J., CARPPER McLACHLAN D.R., BAIMBRIDGE K., DE BONI U., WONG L. and WOOD P.L. (1985). Calcium metabolism in aluminum encephalopathy.
Exp. Neurol., 88, 68 - 83.
- FEINROTH M., FEINROTH M.V. and BERLYNE G.M. (1982). Aluminum absorption in the rat everted gut sac.
Miner. Electrolyte Metab., 8, 29 - 35.
- FERM V.H. (1972). The teratogenic effects of metals on mammalian embryos.
Advances in teratology logas & Academic Press, New-York, 5, pp 51 - 75.
- FERNANDEZ MENENDEZ M.J., FELL G.S., BROCK J.H., CANNATA J.B. (1991). Aluminum uptake by intestinal cells : effect of iron status and precomplexation.
Nephrol.. Dial. Transplant., 6, 672 - 674.
- FIBIGER H.C. (1982). Organization and some projection of cholinergic neurons of the mammalian forebrain.
Brain Res. Rev., 4, 327 - 388.
- FIEDLER E.P., MARKS M.J. and COLLINS A.C. (1987). Postnatal developement of cholinergic enzymes and receptors in Mouse brain.
J. Neurochem., 49, 983 - 990.
- FISHMAN J.B., RUBIN J.B., HANDRAHAN J.V., CONNOR J.R. and FINE R.E. (1987). Receptor - mediated transcytosis of transferrin across the blood brain barrier.
J. Neurosci. Res., 18, 299 - 304.
- FLATEN T.P. and ØDEGÅRD M. (1988). Tea, aluminium and Alzheimer's disease.
Fol. Chem. Toxic., 26, 959 - 960.
- FLEMING J. and JOSHI J. (1991). Ferritin : the role of aluminum in ferritin function.
Neurobiol. Aging, 12, 413 - 418.

- FLENDRIG J.A., KRUIS H. and DAS H.A. (1976). Aluminum and dialysis dementia. Lancet, 1, 1235.
- FLEXNER L.B. (1955). Enzymatic and functional patterns of the developing mammalian brain. Dans "Biochemistry of the Developing Nervous System", Ed Waelsch H., Academic Press, New-York pp 281 - 295
- FOLEY C.M., POLINSKY M.S., GRUSKIN A.B., BALUARTE H.J. and GROVER W.D. (1981). Encephalopathy in infants and children with chronic renal disease. Arch. Neurol., 38, 656 - 658.
- FONNUM F. (1975). A rapid radiochemical method for the determination of choline acetyltransferase. J. Neurochem., 24, 407 - 409.
- FORNO L.S. (1978). The locus coeruleus in Alzheimer's disease. J. Neuropathol. Exp. Neurol., 37, 614.
- FRANCE R.L. and STOKES P.M. (1987). Influence of manganese, calcium, and aluminum on hydrogen ion toxicity to the amphipod *Hyaella azteca*. Can. J. Zool., 65, 3071 - 3078.
- FREUDLICH M., ABITBOL C., ZILLERUELO G. and STRAUSS J. (1985). Infant formula as a cause of aluminum toxicity in neonatal uræmia. Lancet, ii, 527 - 529.
- FRIEDLAND R.P., BUDINGER T.F., KOSS E. and OBER B.A. (1985). Alzheimer's disease : anterior-posterior and lateral hemispheric alterations in cortical glucose utilisation. Neurosci. Lett., 53, 235 - 240.
- FRIEDLAND R.P., JAGUST W.J., HUESMAN R.H., KOSS E., KNITTEL B., MATHIS C.A., OBER B.A., MAZOYER B.M. and BUDINGER T.F. (1989). Regional cerebral glucose transport and utilization in Alzheimer's disease. Neurology, 39, 1427 - 1434.
- FUKUYAMA H., KAMEYAMA M., HARADA K., NISHIZAWA S., SENDA M., MUKAI T., YONEKURA Y. and TORIZUKA K. (1989). Glucose metabolism and rate constants in Alzheimer's disease positron emission tomography scan. Acta Neurol. Scand., 80, 307 - 313.
- GAITONDE M.K. and RICHTER D. (1966). Changes with age in the utilization of glucose carbon in liver and brain. J. Neurochem., 13, 1309 - 1316.

- GALLE P., CHATEL M., BERRY J.P. et MENAULT F. (1979). Encéphalopathie myoclonique progressive des dialysés : présence d'aluminium en forte concentration dans les lysosomes des cellules cérébrales.
Nouv. Presse Med., 8, 4091 - 4094.
- GALLE P. (1981). Mécanismes d'élimination rénale de deux éléments du groupe III A de la classification périodique : l'aluminium et l'indium.
C.R. Acad. Sci. Paris, 292, 91 - 96.
- GALLE P. et GIUDICELLI C.P. (1982). Toxicité de l'aluminium pour l'hépatocyte. Localisation ultrastructurale et micro-analyse des dépôts.
Nouv. Presse Med., 11, 1123 - 1125
- GALLE P., CAMPAS H. et GIUDICELLI C. (1983). Localisation ultrastructurale de l'aluminium dans les cellules parathyroïdiennes de malades en dialyse chronique.
C.R. Acad. Sc. Paris, 296, 545 - 550.
- GALLE P., GIUDICELLI C.P., NEBOUT Th., BAGLIN A. and FRIES D. (1987). Ultrastructural localization of aluminum in hepatocytes of hemodialyzed patients.
Ann. Pathol., 7, 163 - 170
- GANROT P.O. (1986). Metabolism and possible health effects of aluminum.
Environ. Health Perspect., 65, 363 - 441.
- GARRUTO R.M., SHANKAR S.K., YANAGIHARA R., SALAZAR A.M., AMYX H.L. and GADJUSEK D.C. (1989). Low calcium, high aluminum diet induced motor neuron pathology in cynomolgus monkeys.
Acta Neuropathol., 78, 210 - 219.
- GARRUTO R.M., YANAGIHARA R. and GADJUSEK D.C. (1990). Models of environmentally induced neurological disease : epidemiology and etiology of amyotrophic lateral sclerosis and parkinsonism-dementia in the Western Pacific.
Environ. Geochem. Health, 12, 137 - 151
- GAWLIK D., BEHNE D., KRAFT D. and OFFERMANN G. (1987). Trace elements in renal insufficiency. The 5/6 nephrectomized rat as a model of the uraemic state. Dans "Trace Element Analytical chemistry in Medicine and Biology". Ed Brätter P. and Schramel P., Walter de Gruyter & Co, Berlin, vol 3, pp 637 - 648

- GEARY D.F., FENNELL R.S., ANDRIOLA M., GUDAT J. and RODGERS B.M. (1980). Encephalopathy in children with chronic renal failure. J. Pediatr., 96, 41 - 44.
- GILAD G.M. and KAPIN I.J. (1979). Neurochemical aspects of neuronal ontogenesis in the developing rat cerebellum : changes in neurotransmitter and polyamine synthesizing enzymes. J. Neurochem., 33, 1195 - 1204
- GILLI P., de BASTIANI P., FAGIOLI F., BUONCRITIANI U., CAROBI C., STABELLINI N., SQUERZANTI R., ROSANTI G. and FARINELLI A. (1980). Positive aluminium balance in patients on regular peritoneal treatment : an effect of low dialysate pH ? Proc. Eur. Dial. Transpl. Ass., 17, 219 - 225
- GIORDANO R., IOPPOLO A., CIARALLI L., RUBBIANI M., VERNILLO I. and COSTANTINI S. (1989). Aluminum removal after chronic intoxication in rats. Res. Commun. Chem. Pathol. Pharm., 63, 119 - 127.
- GLENNER G.G. and WONG C.W. (1984). Alzheimer's disease : initial report of the purification and characterization of a novel cerebrovascular amyloid protein. Biochem. Biophys. Res. Commun., 120, 885 - 890.
- GLOVER V.A.S. and POTTER L.T. (1971). Purification and properties of choline acetyltransferase from ox brain caudate nuclei. J. Neurochem., 18, 571 - 580
- GLOWINSKI J. and IVERSEN L.L. (1966). Regional studies of catecholamines in the Rat brain. I. Disposition of (^3H) norepinephrine, (^3H) dopamine and (^3H) dopa in various regions of the brain. J. Neurochem., 13, 655 - 669.
- GNAHN H., HEFTI F., HEUMANN R., SCHWAB M.E. and THOENEN H. (1983). NGF - mediated increase of choline acetyltransferase (ChAT) in the neonatal rat forebrain : evidence for a physiological role of NGF in the brain ? Develop. Brain Res., 9, 45 - 52.
- GÖB R., KÖLLNER U., KÖLLNER O. and KLINGBERG F. (1986). Postnatal development of open field behaviour of male and female rats. Biomed. Biochim. Acta, 45, 1301 - 1313
- GODBOLD D.L., FRITZ E. and HÜTTERMANN A. (1988). Aluminum toxicity and forest decline (root elongation / Ca uptake / X-ray microanalysis). Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 85, 3888 - 3892.

- GOMEZ M., DOMINGO J.L., LLOBET J.M. and CORBELLÀ J. (1990). The use of desferrioxamine and other chelating agents in the treatment of aluminium overload in rats. Dans "Metal Ions in Biology and Medicine". Eds Collery Ph., Poirier L.A., Monfait M., Etienne J.C.. John Libbey Eurotext, Paris. pp 348 - 350
- GOULD E., FARRIS T.W. and BUTCHER L.L. (1989). Basal forebrain neurons undergo somatal and dendritic remodeling during postnatal development : a single-section Golgi and choline acetyltransferase analysis.
Develop. Brain Res., 46, 297 - 302
- GRAVES A.B., WHITE E., KOEPESELL T.D., REIFLER B.V., VAN BELLE G., LARSON E.B. (1990). The association between aluminum-containing products and Alzheimer's disease.
J. Clin. Epidemiol., 43, 35 - 44.
- GREGGER J.L. and DONNAUBAUER S.E. (1986). Retention of aluminum in the tissue of Rats after the discontinuation of oral exposure to aluminum.
Fd. Chem. Toxic., 24, 1331 - 1334.
- GREIZERSTEIN H.B. and ABEL E.L. (1979). Electrolyte composition of fetuses, placentas, and maternal plasma during the last trimester of gestation in the rat.
Biol. Neonate, 36, 251 - 254.
- GRETZ N., MEISINGER E. and S-TRAUCH M. (1988) Partial nephrectomy and chronic renal failure : the "mature" rat model.
Contr. Nephrol., 60, 46 - 55.
- GRISWOLD W.R., REZNIK V., MENDOZA S.A., TRAUNER D. and ALFREY A.C. (1983). Accumulation of aluminum in a nondialysed uremic child receiving aluminum hydroxide.
Pediatrics, 71, 56 - 58.
- HAMMOND C. and TRITSCH D. (1990). Neurobiologie cellulaire.
Ed. Doin, pp 323 - 327.
- HARIK S.I. and Mc GUNIGAL T. Jr. (1984). The prospective influence of the locus ceruleus on the blood-brain barrier.
Ann. Neurol., 15, 568 - 574.
- HARRISSON W.H., CODD E. and GRAY R.M. (1972). Aluminium inhibition of hexokinase.
Lancet, 2, 277.
- HATCH T.F., LEBENTHAL E., BRANSKI D. and KRASNER J. (1979). The effect of early postnatal malnutrition on intestinal growth, dissacharidases and

enterokinase.

J. Nutr., 109, 1874 - 1879.

HATCH T.F., LEBENTHAL E., KRASNER J., BRANSKI D (1979). Effect of postnatal malnutrition on pancreatic zymogen enzymes in the rat.
Am. J. Clin. Nutr., 32, 1224 - 1230.

HAVA M. and HURWITZ A. (1973). The relaxing effect of aluminum and lanthanum on rat and human gastric smooth muscle in vitro.
Eur. J. Pharmacol., 22, 156 - 161.

HENRY D.A., GOODMAN W.G., NUDELMAN R.K., DIDOMENICO N.C., ALFREY A.C., SLATOPOLSKY E., STANLEY T.M., COBURN J.W. (1984). Parenteral aluminum administration in the dog. I. Plasma kinetics, tissue levels, calcium metabolism, and parathyroid hormone.
Kidney Int., 25, 362 - 369.

HERSH L.B., WAINER B.H. and ANDREWS L.P. (1984). Multiple isoelectric and molecular weight variants of choline acetyltransferase. Artifact or real ?
J. Biol. Chem., 259, 1253 - 1258.

HERTZ L. (1989). Is Alzheimer's disease an anterograde degeneration, originating in the brainstem, and disrupting metabolic and functional interactions between neurons and glial cells ?
Brain Res. Rev., 14, 335 - 353.

HETNARSKI B., WISNIEWSKI H.M., IQBAL K., DZIEDZIC J.D. and LAJTHA A. (1980). Central cholinergic activity in aluminum induced neurofibrillary degeneration.
Ann. Neurol., 7, 489 - 490.

HEWITT C.D., O'HARA M., DAY J.P. and BISHOP N. (1987). Exposure of infants to aluminium from milk formulae and intravenous fluids. Dans "Trace Element Analytical chemistry in Medicine and Biology". Ed Brätter P. and Schramel P., Walter de Gruyter & Co, Berlin, vol 4 pp 481 - 488

HIRSCHBERG R., VON HERRATH D., VOSS R., BOSSALER W., MAUELSHAGEN U., PAULS A. and SCHAFFER K. (1985). Organ distribution of aluminium in uremic rats : influence of parathyroid hormone and 1,25 - Dihydroxyvitamin D₃.
Miner. Electrolyte Metab., 11, 106 - 110.

HODSMAN A.B., ANDERSON C. and LEUNG F.Y. (1984). Accelerated accumulation of aluminum by osteoid matrix in vitamin D deficiency.
Miner. Electrolyte Metab., 10, 309 - 315.

- HOFSTETTER J.R., VINCENT I., BUGIANI O., GHETTI B. and RICHTER J.A. (1987). Aluminum induced decreases in choline acetyltransferase, tyrosine hydroxylase, and glutamate decarboxylase in selected regions of Rabbit brain. Neurochem. Pathol., 6, 177 - 193.
- HÖHR D., ABEL J. and WILHELM M. (1989). Renal clearance of aluminum : studies in the isolated perfused Rat kidney. Toxicol. Lett., 45, 165 - 174.
- HOYER S., OESTERREICH K. and WAGNER O. (1988). Glucose metabolism as the site of the primary abnormality in early-onset dementia of Alzheimer type. J. Neurol., 235, 143 - 148.
- HURWITZ A., ROBINSON R.G., VATS T.S., WHITTIER F.C. and HERIN W.F. (1976). Effects of antacids on gastric emptying. Gastroenterology, 71, 268 - 273.
- ICHIKAWA T. and HIRATA Y. (1986). Organization of choline acetyltransferase - containing structures in the forebrain of the rat. J. Neurosci., 6, 281 - 292.
- IRLE E. and MARKOWITSCH H.J. (1987). Basal forebrain-lesioned monkeys impaired in tasks of association and recognition memory. Ann. Neurol., 22, 735 - 743.
- ITTEL T.H., BUDDINGTON B., MILLER N.L. and ALFREY A.C. (1987). Enhanced gastrointestinal absorption of aluminum in uremic rats. Kidney Int., 32, 821 - 826.
- ITTEL T.H., GRUBER E., HEINRICHS A., HANDT S., HOFSTÄDTER F. and SIEBERTH H.G. (1992). Effect of fluoride on aluminum-induced bone disease in Rats with renal failure. Kidney Int., 41, 1340 - 1348.
- JEFFERIES W.A., BRANDON M.R., HUNT S.V., WILLIAMS A.F., GATTER K.C. and MASON D.Y. (1984). Transferrin receptor on endothelium of brain capillaries. Nature, 312, 162 - 163.
- JOHNSON G.V.W. and JOPE R.S. (1986). Aluminum increases cyclic AMP in rat cerebral cortex *in vivo*. Life Sci., 39, 1301 - 1305..

- JOHSON G.V.W. and JOPE R.S. (1987). Aluminum alters cyclic AMP and cyclic GMP levels but not presynaptic cholinergic markers in Rat brain in vivo. Brain Res., 403, 1 - 16.
- JOSHI J.G., FLEMING J. and ZIMMERMAN A. (1985). Ferritin and aluminium binding. J. Neurol. suppl., 232, 61.
- KAEHNY W.D., ALFREY A.C., HOLMAN A.F. and SHORR W.J. (1977a). Aluminum transfer during hemodialysis. Kidney Int., 12, 361 - 365.
- KAEHNY W.D., HEGG A.P. and ALFREY A.C. (1977b). Gastro intestinal absorption of aluminum from aluminum-containing antacids. N. Engl. J. Med., 296, 1389 - 1390.
- KATZ H.B. (1980). The influence of undernutrition on learning performance in rodents. Nut. Abs., 50, 765 - 784
- KATZMAN R. (1986). Alzheimer's disease; N. Engl. J. Med., 313, 964 - 973.
- KAWAKAMI H., DOSAKO S. and LONNERDAL B. (1990). Iron uptake from transferrin and lactoferrin by rat intestinal brush - border membrane vesicles. Am. J. Physiol., 258, 535 - 541.
- KELLER J.M. and DAUÇA M. (1988). Substitution of the intestinal epithelium during spontaneous amphibian metamorphosis. Scanning electron microscopy and X-ray microanalysis. Arch. Biol., 99, 67 - 81.
- KELLER J.M., COLIN S., PROBST W., DEMAI J.J. et DAUÇA M. (1990). Substitution de l'épithélium intestinal des amphibiens Anoures au cours de la métamorphose naturelle et induite. Analyse des transformations structurales, de la distribution et de la concentration des éléments chimiques. Bulletin des Académie et Société Lorraine des Sciences, 29, 4.
- KESNER R.P. (1988). Reevaluation of the contribution of the basal forebrain cholinergic system to memory. Neurobiol. Aging, 9, 609 - 616.
- KING S.W., WILLS M.R. and SAVORY J. (1979). Serum binding of aluminium. Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol., 26, 161 - 169

- KING R.G. (1984). Do raised brain aluminum levels in Alzheimer's dementia contribute to cholinergic neuronal deficit ?
Med. Hypotheses, 14, 301 - 306.
- KING G.A., DEBONI U. and CRAPPER D.R. (1975). Effect of aluminium upon conditioned avoidance response acquisition in the absence of neurofibrillary degeneration.
Pharm. Biochem. Behav., 3, 1003 - 1009.
- KLEIN A.M., BURNATOWSKA - HLEDIN M.A., KOVAN J. and MAYOR G.H. (1983). Reduced fecal aluminium excretion in rats following parathyroid hormone or bile duct ligation.
Kidney Int., 23, 215 - 221.
- KLEIN G.L., ALFREY A.C., MILLER N.L., SHERRARD D.J., HAZLET T.K., AMET M.E. and COBURN J.W. (1982). Aluminum loading during total parenteral nutrition.
Am. J. Clin. Nutr., 35, 1425 - 1429.
- KLEIN G.L., HEYMAN M.B., LEE T.C., MILLER N.L., MARATHE G., GOURLEY W.K. and ALFREY A.C. (1988). Aluminum associated hepatobiliary dysfunction in Rats : relationship to dosage and duration of exposure.
Pediatr. Res., 23, 275 - 278.
- KLEINKNECHT C., LAOURI D. and BURTIN M. (1988a). Uremic Rat model : experience with young Rats.
Contr. Nephrol., 60, 27 - 38.
- KLEINKNECHT C., LAOURI D. and HINGLIS N. (1988b). Protein intake and deterioration of renal function in Rats : experimental data and hypothetical mechanism.
Contr. Nephrol., 60, 135 - 151.
- KNOLL O., KELLINGHAUS H., BERTRAM H.P., ZUMKLEY H. and GRAEFE U. (1984). Gastrointestinal absorption of aluminum in chronic renal insufficiency.
Contr. Nephrol., 38, 24 - 31.
- KOJIMA T., KOBAYASHI T. and KOBAYASHI Y. (1985). Mechanism of intestinal adaptation in rats with acute renal failure.
Exp. Path., 28, 151 - 155.
- KOO W.W.K., KAPLAN L.A., BENDON R., SUCCOP P., TSANG R.C., HORN J. and STEICHEN J.J. (1986). Response to aluminum in parenteral nutrition during infancy.
J. Pediatr., 109, 877 - 883.

- KOSHIMURA K., KATO T., TOHYAMA I., NAKAMURA S. and KAMEYAMA M. (1986). Qualitative abnormalities of choline acetyltransferase in Alzheimer type dementia.
J. Neurol. Sci., 76, 143 - 150.
- KOSIK K.S., BRADLEY W.G., GOOD P.F., RASOOL C.G. and SELKOE D.J. (1983). Cholinergic function in lumbar aluminum myelopathy.
J. Neuropath. Exp. Neurol., 42, 365 - 375.
- KRISHNAN S.S., HARRISON J.E. and CRAPPER Mc LACHLAN D.R. (1987). Origin and resolution of the aluminum controversy concerning Alzheimer's neurofibrillary degeneration.
Biol. Trace Elem. Res., 13, 35 - 42.
- KRISHNAN S.S., McLACHLAN D.R., DALTON A.J., KRISHNAN B., FENTON S.S.A., HARRISON J.E. and KRUCK T. (1988). Aluminum toxicity in Humans. Dans "Essential and Toxic Trace Elements in Human Health and Disease". pp 645 - 659
- KUROSAWA M., SATO A. and SATO Y. (1989). Stimulation of nucleus basalis of Meynert increases acetylcholine release in the cerebral cortex in rats.
Neurosci. Lett., 98, 45 - 50
- LAI J.C.K., GUEST J.F., LEUNG T.K.C., LIM L. and DAVIDSON A.N. (1980). The effects of cadmium, manganese and aluminium on sodium-potassium-activated and magnesium-activated adenosine triphosphatase activity and choline uptake in Rat brain synaptosomes.
Biochem. Pharmacol., 29, 141 - 146.
- LAI J.C.K., LIM L. and DAVIDSON A.N. (1982). Effects of Cd^{2+} , Mn^{2+} and Al^{3+} on Rat brain synaptosomal uptake of noradrenaline and serotonin.
J. Inorg. Biochem., 17, 215 - 225.
- LAMOUR Y. and DAVOUS P. (1983). Démences de type Alzheimer : données récentes.
Presse Méd., 12, 1415 - 1420.
- LANGUI D., ANDERTON B.H., BRION J.P. and ULRICH J. (1988). Effects of aluminum chloride on cultured cells from rat brain hemispheres.
Brain Res., 438, 67 - 76.
- LAOUARI D., KLEINKNECHT C., COURNOT - WITMER G., HABIB R., MOUNIER F. and BROYER M. (1982). Beneficial effect of low phosphorus diet in uremic rats. A reappraisal.
Clin. Sci., 63, 253 - 268.

- LAUSSAC J.P. et LAURENT J.P. (1980). Etude par résonance magnétique nucléaire (^{31}P et ^{27}Al) des interactions entre le nitrate d'aluminium et le triphosphate d'adénosine.
C. R. Acad. Sc. Paris, 291, 157 - 159
- LA JEUNESSE D. and BRUNETTE M.G. (1988). Sodium gradient-dependent phosphate transport in placental brush border membrane vesicles.
Placenta, 2, 117 - 128.
- LEBENTHAL E. (1989). Concepts in gastrointestinal development. Dans "Human Gastrointestinal Development". Ed. Lebenthal E. Raven Press, pp 3 - 18.
- LEE P.N. (1989). Epidemiological research on Alzheimer's disease : past, present and future.
Environ. Technol. Lett., 10, 427 - 434.
- LEONARDI A.C., GANDOLFO C., CAPONETTO C., ARATA L. and VECCHIA R. (1985). The integrity of the blood-brain barrier in Alzheimer's type and multi-infarct dementia evaluated by the study of albumin and IgG in serum and cerebrospinal fluid.
J. Neurol. Sci., 67, 253 - 261.
- LEVEY A.I., WAINER B.H., MUFSON E.J. and MUSULAM M.. (1983). Co-localization of acetylcholinesterase and choline acetyltransferase in the rat cerebrum.
Neuroscience, 9, 9 - 22
- LIEBERHERR M., GROSSE B., COURNOT-WITMER G., THIL C.L. and BALSAN S. (1982). *In vitro* effects of aluminum on bone phosphatases : a possible interaction with bPTH and vitamin D3 metabolites.
Calcif. Tissue Int., 24, 280 - 284.
- LIPMAN J.J., COLOWICK S.P., LAWRENCE P.L. and ABUMRAD N.N. (1988). Aluminum induced encephalopathy in the Rat.
Life Sci., 42, 863 - 875.
- LLOBET J.M., DOMINGO J.L., GOMEZ M., TOMAS J.M. and CORBELLÀ J. (1989). Acute toxicity studies of aluminium compounds : antidotal efficacy of several chelating agents.
Pharmacol. and Toxicol., 60, 280 - 283.
- LOWRY O.H., ROSEBROUGH N.J., FARR A.L. and RANDALL R.J. (1951). Protein measurement with the folin phenol reagent.
J. Biol. Chem., 193, 265 - 275.

- MAHONEY C.A., SARNACKI P. and ARIEFF A.I. (1984). Uremic encephalopathy : role of brain energy metabolism.
Am. J. Physiol., 247, 527 - 532.
- MALLEY D.F., HUEBNER J.D. and DONKERSLOOT K. (1988). Effects on ionic composition of blood and tissues of *Anodonta grandis grandis* (Bivalvia) of an addition of aluminum and acid to a lake.
Arch. Environ. Contam. Toxicol., 17, 479 - 491.
- MALLUCHE H.H., SMITH A.J., ABREO K. and FAUGERE M.C. (1984). The use of deferrioxamine in the management of aluminum accumulation in bone in patients with renal failure.
N. Engl. J. Med., 311, 140 - 144
- MALLUCHE H.H., FAUGERE M.C., FRIEDLER R.M., MATTHEWS C. and FANTI P. (1987). Calcitriol, parathyroid hormone and accumulation of aluminum in bone in Dogs with renal failure.
J. Clin. Invest., 79, 754 - 761.
- MALTHE SØRENSEN D., FONNUM F. (1972). Multiple forms of acetyltransferase in several species demonstrated by isoelectric focusing.
Biochem. J., 127, 229 - 236.
- MALTHE SORENSEN D. (1976). Molecular properties of choline acetyltransferase from different species investigated by isoelectric focusing and ion exchange adsorption.
J. Neurochem., 26, 861 - 865
- MANN D.M.A. and YATES P.O. (1983). Possible role of neuromelanin in the pathogenesis of Parkinson's disease.
Mech. Aging. Dev., 21, 193 - 203.
- MARCUS D.L., DE LEON M.J., GOLDMAN J., LOGAN J., CHRISTMAN D.R., WOLF A.P., FOWLER J.S., HUNTER K., TSAI J., PEARSON J. and FREEDMAN M.L. (1989). Altered glucose metabolism in microvessels from patients with Alzheimer's disease.
Ann. Neurol., 26, 91 - 94.
- MARKESBERY W.R., EHMANN W.D., HOSSAIN T.I.M., ALAUDDIN M. and GOODIN D.T. (1981). Instrumental neutron activation analysis of brain Aluminium in Alzheimer disease and aging.
Ann. Neurol., 10, 511 - 516.
- MARKWELL M.A.K., HAAS S.M., BIEBER L.L. and TOLBERT N.E. (1978). A modification of the lowry procedure to simplify protein determination in

- membrane and lipoprotein samples.
Analyt. Biochem., 87, 206 - 210.
- MARQUIS J.K (1982). Aluminium neurotoxicity : an experimental perspective.
Bull. Environ. Contam. Toxicol., 29, 43 - 49.
- MARQUIS J.K. and LERRICK A.J. (1982). Noncompetitive inhibition by Aluminium, Scandium and Yttrium of acetylcholinesterase from *Electrophorus electricus*.
Biochem. Pharmacol., 31, 1437 - 1440.
- MARQUIS J.K. and BLACK E.E. (1984). Aluminum activation and inactivation of bovine caudate acetylcholinesterase.
Bull. Environ. Contam. Toxicol., 32, 704 - 710.
- MARTIN R.B. (1986). The chemistry of aluminum as related to biology and medicine.
Clin. Chem., 32, 1979 - 1806.
- MARTYN C.N. (1989). Geographical relation between Alzheimer's disease and aluminum in drinking water.
Lancet, i, 59 - 62.
- MASH D.C., PABLO J., FLYNN D.D., EFANGE S.M.S. and WEINER W. (1990). Characterization and distribution of transferrin receptors in the rat brain.
J. Neurochem., 55, 1972 - 1979.
- MAYO W. (1989). Etude comparative de deux types de lésion cholinergique chez le Rat.
Mémoire et vieillissement : Approche méthodologique. Collection de l'Institut de Recherches Internationales Sevrer - Doin, Paris, 97 - 104.
- MAYOR G.H., KEISER J.A., MAKDANI D., KU P.K. (1977). Aluminum absorption and distribution : effects of parathyroid hormone.
Science, 197, 1187 - 1189.
- McCORMACK K.M., OTTOSEN L.D., SANGER V.L., SPRAGUE S., MAYOR G.H. and HOOK J.B. (1979). Effect of prenatal administration of aluminum and parathyroid hormone on fetal development in the rat.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 161, 74 - 79.
- McDERMOTT J.R., SMITH A.L., IQBAL K. and WISNIEWSKI H.M. (1977) Aluminium and Alzheimer's disease.
Lancet, 11, 710.

- McDERMOTT J.R., SMITH A.L., WARD M.K., PARKINSON I.S. and KERR D.N.S. (1978). Brain-aluminium concentration in dialysis encephalopathy. Lancet, *i*, 901 - 904.
- MC GEER P.L. (1984). Aging, Alzheimer's disease, and the cholinergic system. Can. J. Physiol., Pharmacol., *62*, 741 - 754.
- Mc LAUGHLIN A.I.G., KAZANTZIS G., KING E., TEARE D., PORTER R.J. and OWEN R. (1962). Pulmonary fibrosis and encephalopathy associated with the inhalation of aluminum dust. Br. J. Ind. Med., *19*, 253 - 263.
- MEDINA J.M. (1985). The role of lactate as an energy substrate for the brain during the early neonatal period. Biol. Neonate, *48*, 237 - 244.
- MEIRAV O., SUTTON R.A.L., FINK D., MIDDLETON R., KLEIN J., WALKER V.R., HALABE A., VETTERLI D. and JOHNSON R.R. (1991). Accelerator mass spectrometry : application to study of aluminum kinetics in the rat. Am. J. Physiol., *260*, 466 - 469.
- MEISINGER E., GRETZ N., STRAUCH M. (1988). Influence of amino acid and keto acid supplements on hyperfiltration in uremic Rats. Contr. Nephrol., *60*, 152 - 158.
- MEREDITH P.A., MOORE M.R. and GOLDBERG A. (1977). Effect of aluminium, lead and zinc on γ -aminolaevulinic acid deshydratase. Enzyme, *22*, 22 - 27
- MICHALEK H., FORTUNA S. and PINTOR A. (1989). Age-related differences in brain choline acetyltransferase, cholinesterases and muscarinic receptor sites in two strains of rats. Neurobiol. Aging, *10*, 143 - 148
- MILLAND J.A., KING R.G. and ROGERS L.J. (1986). Changes in aggressive behaviour and forebrain choline acetyltransferase activity in the chick following aluminium chloride administration. Asia Pacific J. Pharmacol., *1*, 105 - 110.
- MILLER C.A. and LEVINE E.M. (1974). Effects of aluminum salts on cultured neuroblastoma cells. J. Neurochem., *22*, 751 - 758.
- MILLINER D.S., MALEKZADEH M., LIEBERMANN E. and COBURN J.W. (1987). Plasma aluminum levels in pediatric dialysis patients : comparison of

hemodialysis and continuous ambulatory peritoneal dialysis.
Mayo. Clin. Proc., 62, 269 - 274.

MILLINER D.S., SHINABERGER J.H., SHUMAN P. and COBURN J. (1985).

Inadvertent aluminum administration during plasma exchange due to aluminum contamination of albumin-replacement solutions.

N. Engl. J. Med., 312, 165 - 167

MIYAMOTO M., KATO J., NARUMI S. and NAGAOKA A. (1987). Characteristics of memory impairment following lesioning of the basal forebrain and medial septal nucleus in rats.

Brain Res., 419, 19 - 31.

MOBLEY W.C., RUTKOWSKI J.L., TENNEKON G.I. et al (1986). Choline acetyltransferase activity in striatum of neonatal rats increased by nerve growth factor.

Science, 229, 284 - 287.

MOHR E., BRUNO G., FOSTER N., GILLESPIE M., COX C., HARE T.A., TAMMINGA C., FEDIO P. and CHASE T.N. (1986). GABA-agonist therapy for Alzheimer's disease.

Clin. Neuropharmacol., 9, 257 - 263.

MOLITORIS B.A., FROMENT D.H., MACKENZIE T.A., HUFFER W.H. and ALFREY A.C. (1989). Citrate : a major factor in the toxicity of orally administered aluminum compounds.

Kidney Int., 36, 949 - 953

MORIMURA S., TAKAHASHI E. and MATSUMOTO H. (1978). Association of aluminum with nuclei and inhibition of cell division in onion (*Allium cepa*) roots.

Z. Pflanzenphysiol., 88, 395 - 401.

MORRISSEY J., ROTHSTEIN M., MAYOR G. and SLATOPOLSKY E. (1983). Suppression of parathyroid hormone secretion by aluminum.

Kidney Int., 23, 699 - 704

MUFSON E.J., BOTHWELL M. and KORDOWER J.H. (1989). Loss of nerve growth factor receptor-containing neurons in Alzheimer's disease : a quantitative analysis across subregions of the basal forebrain.

Exp. Neurol., 105, 221 - 232.

MULLER G., BERNUZZI V., DESOR D., HUTIN M.F., BURNEL D., LEHR P. (1990). Developmental alterations in offspring of female Rats orally intoxicated by aluminum lactate at different gestation periods.

Teratology, 42, 253 - 261.

- MULLER G., HUTIN M.F., BURNEL D. and LEHR P. (1992). Aluminum transfer through milk in female rats intoxicated by aluminum chloride.
Biol. Tr. Elem. Res., 34, 79 - 87.
- MUNRO H.N., PILISTINE S.J. and FANT M.E. (1983). The placenta nutrition.
Ann. Rev. Nutr., 3, 97 - 124.
- MUSSI I., CALZAFERRI G., BURATTI M. and ALESSIO L. (1984) Behavior of plasma aluminum levels in occupationally exposed subjects.
Int. Arch. Environ. Health, 54, 155 - 161
- NAGAI T., Mc GEER P.L., PENG J.H., Mc GEER E.G. and DOLMAN C.E. (1983). Choline acetyltransferase immunohistochemistry in brains of Alzheimer's disease patients and controls.
Neurosci. Lett., 36, 195 - 199.
- NATHAN E. and PEDERSEN S.E. (1980). Dialysis encephalopathy in a non dialysed uraemic boy treated with aluminum hydroxide orally.
Acta Pædiatr. Scand., 69, 793 - 796.
- NAYLOR G.J., SHEPERD B., TRELIVING L., MCCHARG A., SMITH A., WARD N. and HARPER M. (1990). Tissue aluminum concentration stability over time, relationship to age, and dietary intake.
Biol. Psychiatry, 27, 884 - 890.
- NEE L.E., ELDRIDGE R., SUNDERLAND T., THOMAS C.B., KATZ D., THOMSON K.E., WEINNGARTNER H., WEISS H., JULIAN C. and COHEN R. (1987). Dementia of the Alzheimer type : clinical and family studies of 22 twin pairs.
Neurology, 37, 359 - 363.
- NORDBERG A., LARSSON C., ADOLFSSON R., ALAFUZOFF I. and WINBLAD B. (1983). Muscarinic receptor compensation in Hippocampus of Alzheimer patients.
J. Neural. Transm., 56, 13 - 19.
- O'NEIL J.J. and SAKAMOTO T. (1970). Enzymatic fluorometric determination of acetylcholine in biological extracts.
J. Neurochem., 17, 1451 - 1460
- ONDREICKA R., GINTER E. and KORTUS J. (1966). Chronic toxicity of aluminum in Rats and Mice and its effects on phosphorus metabolism.
Br. J. Ind. Med., 23, 305 - 312.

- PARKINSON I.S., WARD M.K. and KERR D.N.S. (1981). Dialysis encephalopathy, bone disease and anemia : the aluminium intoxication syndrome during regular haemodialysis.
J. Clin. Pathol., 34, 1285 - 1294.
- PARTRIDGE N.A., REGNIER F.E., WHITE J.L. and HEM S.L. (1989). Influence of dietary constituents on intestinal absorption of aluminum.
Kidney Int., 35, 1413 - 1417.
- PARTRIDGE W.M., EISENBERG J. and YANG J. (1987). Human blood-brain barrier transferrin receptor.
Metabolism, 36, 892 - 895.
- PATEL A.J., DEL VECCHIO M. and ATKINSON D. J. (1978). Effect of undernutrition on the regional development of transmitter enzymes : glutamate decarboxylase and choline acetyltransferase.
Dev. Neurosci., 1, 41 - 53.
- PATEL A.J., HAYASHI M. and HUNT A. (1987). Selective persistent reduction in choline acetyltransferase activity in basal forebrain of the rat after thyroid deficiency during early life.
Brain Res., 422, 182 - 185.
- PATOCKA J. (1971). The influence of Al^{3+} on cholinesterase and acetylcholinesterase activity.
Acta. Biol. Med. Germ., 26, 845 - 846.
- PENZES L., NOBLE R.C. and REGIUS O. (1988/1989). Morphometric changes in the duodenal microvillous surface area of the non-pregnant, pregnant and lactating female rat.
Acta Morphol. Neer. Scand., 26, 9 - 17.
- PEPEU G., CASAMENTI F., PEDATA F., COSI C. and MARCONCINI PEPEU I. (1986). Are the neurochemical and behavioral changes induced by lesions of the nucleus basalis in the rat a model of Alzheimer's disease ?
Prog. Neuro. Psychopharmacol. Biol. Psychiat., 10, 541 - 551
- PERL D.P. and BRODY A.R. (1980). Alzheimer's disease : X-ray spectrometric evidence of aluminum accumulation in neurofibrillary tangle-bearing neurons.
Science, 208, 297 - 299.
- PERL D.P., GAJDUSEK D.C. and GARRUTO R.M. (1982). Intraneuronal aluminum accumulation in amyotrophic lateral sclerosis and parkinsonism dementia of Guam.
Science, 217, 1053 - 1054.

- PERL D.P. and PENDLEBURY W.W. (1986). Aluminum neurotoxicity. Potential role in the pathogenesis of neurofibrillary tangle formation.
Can. J. Neurol. Sci., 13, 441 - 445.
- PERRY E.K., GIBSON P.H., BLESSED G., PERRY E.K. and TOMLINSON B.E. (1977). Neurotransmitter enzyme abnormalities in senile dementia - choline acetyltransferase and glutamic acid decarboxylase activities in necropsy brain tissue.
J. Neurol. Sci., 34, 247 - 265.
- PERRY S.T., KULKARNI S.B., LEE K.L. and KENNEY F.T. (1982). Selective effect of the metallocarcinogen beryllium on hormonal regulation of gene expression in cultures cells.
Cancer Res., 42, 473 - 476.
- PERRY T.L., YONG V.W., KISH S.J., ITO M., FOULKS J.G., GODOLPHIN W.J. and SWEENEY V.P. (1985). Neurochemical abnormalities in brains of renal failure patients treated by repeated hemodialysis.
J. Neurochem., 45, 1043 - 1048.
- PERRY T.L., YONG V.W., GODOLPHIN W.J., SUTTER M., HANSEN S., KISH S.J., FOULKS J.G. and ITO M. (1987). Inability to produce a model of dialysis encephalopathy in the Rat by aluminum administration.
Neurochem. Res., 12, 369 - 375.
- PICCOLI A., ANDRIANI M., MATTIELLO G., NORDIO M., MODENA F. and DALLA ROSA C. (1989). Serum aluminum level in the veneto chronic haemodialysis population : cross-sectional study on 1,026 patients.
Nephron, 51, 482 - 490.
- PLACHOT J.J., COURNOT-WITMER G., HALPERN S., MENDES V., BOURDEAU A., FRITSCH J., BOURDON R., DRÜEKE T., GALLE P. and BALSAN S. (1984). Bone ultrastructure and X-ray microanalysis of aluminum-intoxicated hemodialysed patients.
Kidney Int., 25, 796 - 803.
- PLATTS H.M., GOODE G.C. and HISLOP J.S. (1977). Composition of the domestic water supply and the incidence of fractures and encephalopathy in patients on home dialysis.
Br.Med.J., 2, 657 - 660.
- POLINSKY M.S. and GRUSKIN A.B. (1984). Aluminum toxicity in children with chronic renal failure.
J. Pediatr., 105, 758 - 761.

- PROVAN S.D. and YOKEL R.A. (1988). Influence of calcium on aluminum accumulation by the rat jejunal slice.
Res Commun. Chem. Pathol. Pharm., 59, 79 - 92.
- PROVAN S.D. and YOKEL R.A. (1990) Reduced intestinal calcium dietary calcium intake, increased aluminum absorption, and tissue concentration in the Rat.
Biol. Tr. Elem. Res., 23, 119 - 132.
- RANALLI P. and BERGERON C. (1984). Amyloid angiopathy in Alzheimer's disease.
Ann. Neurol., 16, 119.
- RANDALL L.C., CARDON J.J., SPRAGUE S., KEISER J., MAYOR G.H. and RECH R.H. (1982). Behavioral changes in Rats after chronic aluminum and parathyroid hormone administration.
Neurobehav. Toxicol. and Teratol., 4, 403 - 410.
- RANDALL M.E. (1983). Aluminum toxicity in an infant not on dialysis.
Lancet, 1, 1327 - 1328.
- RECKER R.R., BLOTCKY A.J., LEFFLER J.A. and RACK E.P. (1977). Evidence for aluminum absorption from the gastrointestinal tract and bone deposition by aluminum carbonate ingestion with normal renal function.
J. Lab. Clin. Med., 90, 810 - 815.
- RINNE J.O., SÄKÖ E., PALJÄRVI L., MÖLSÄ P.K. and RINNE U.K. (1988). A comparison of brain choline acetyltransferase activity in Alzheimer's disease, multi-infarct dementia, and combined dementia.
J. Neurol. Transm., 73, 121 - 128.
- ROBERTS E. (1986). Alzheimer's disease may begin in the nose and may be caused by aluminosilicates.
Neurobiol. aging, 7, 561 - 567.
- ROSES A.D., PERICAK - VANCE M.A., HAYNES C.S., GASKELL L.H., YAMAOKA L.H., HUNG W.Y., CLARK C.M., ALBERTS M.J., LEE J.E., SIDDIQUET T. and HEYMAN A. (1988). Genetic linkage studies in Alzheimer's disease.
Neurology, 38, 173.
- ROSSI T.M., LEE P.C., YOUNG C.M., LERNER A. and LEBENTHAL E. (1986). Effect of nutritional rehabilitation on the development of intestinal brush border disaccharidases in postnatally malnourished weanling rats.
Pediat. Res., 20, 793 - 797.

- ROSSOR M.N., EMSON P.C., MOUNTJOY C.Q., ROTH M. and IVERSEN L.L.
(1980). Reduced amounts of immunoreactive somatostatin in the temporal cortex in senile dementia of Alzheimer type.
Neurosci. Lett., 20, 373 - 377.
- ROSSOR. M.N., GARRETT N.J., JOHNSON A.L., MOUNTJOY C.Q., ROTH M. and IVERSEN L.L. (1982). A post mortem study of the cholinergic and GABA systems in senile dementia.
Brain, 105, 313 - 330.
- ROZEMULLER J.M., EIKELENBOOM P., KAMPHORST W. and STAM F.C.
(1988). Lack of evidence for dysfunction of the blood-brain barrier in Alzheimer's disease : an immunohistochemical study.
Neurobiol. Aging, 9, 383 - 391.
- RUSOFF L.L. and GADDUM L.W. (1937) The trace element content of newborn rat (as determined spectrographically)
J. Nutr., 15, 169 - 176.
- RYAN R. and McCLURE W.O. (1980). Physical and kinetic properties of choline acetyltransferase from Rat and Bovine brain.
J. Neurochem., 34, 395 - 403.
- RYE D.B., WAINER B.H., MESULAM M.M., MUFSON E.J. and SAPER C.B. (1984). Cortical projection arising from the basal forebrain : a study of cholinergic and non - cholinergic components employing combined retrograde tracing and immunohistochemical localization of choline acetyl - transferase.
Neuroscience, 13, 627 - 643.
- SABOURAUD O., CHATEL M., MENAULT F., DIEN-PERON J., CARTIER F., GARRE M., GARY J. et PECKER S. (1978). L'encéphalopathie myoclonique progressive des dialysés (E.M.P.D.) . Etude clinique, électroencéphalographique et neuropathologique. Discussion pathogénique.
Rev. Neurol., 134, 575 - 602.
- SALUSKY I.B., COBURN J.W., PAUNIER L., SHERRARD D.J. and FINE R.N.
(1984). Role of aluminum hydroxide in raising serum aluminum levels in children undergoing continuous ambulatory peritoneal dialysis.
J. Pediatr., 105, 717 - 720.
- SALUSKY I.B., FOLEY J., NELSON P. and GOODMAN W.G. (1991). Aluminum accumulation during treatment with aluminum hydroxide and dialysis in children and young adults with chronic renal disease.
N. Engl. J. Med., 324, 527 - 531.

- SANTOS F., MASSIE M.D. and CHAN J.C.M. (1986). Risk factors in aluminum toxicity in children with chronic renal failure.
Nephron, 42, 189 - 195.
- SAVORY J. and WILLS M.R. (1984) Dialysis fluids as a source of aluminum accumulation.
Contr. Nephrol., 38, 12 - 23.
- SCHLAGETER N.L., CARSON R.E. and RAPOPORT S.I. (1987). Examination of blood-brain barrier permeability in dementia of the Alzheimer type with [^{68}Ga] EDTA and positron emission tomography.
J. Cereb. Blood Flow Metab., 7, 1 - 8.
- SCHMIDT R., BÖHM K., VATER W. and UNGER E. (1991). Aluminium induced osteomalacia and encephalopathy - an aberration of the tubulin assembly into microtubules (MTs) by Al^{3+} ?
Dans Progress in Histo and cytochemistry, vol 23. pp 425 - 431. W. Graumann, J. Drukker (Eds) - Fisher Verlag - Stuttgart - New-York.
- SEDMAN A.B., KLEIN G.L., MERRITT R.J., MILLER N.L., WEBER K.O., WILLIAM L.G., ANAND H., ALFREY A.C. (1985). Evidence of aluminum loading in infants receiving intravenous therapy.
N. Engl. J. Med., 312, 1337 - 1343.
- SELKOE D.J., BERMAN-POLISNY M., JOACHIM C.L. *et al* (1988). B amyloid precursor protein of Alzheimer disease occurs as 110 to 135 kilodaltons membrane-associated proteins in neural and non neural tissues.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 85, 7341 - 7347.
- SEMBA K. and FIBIGER H. (1988). Time of origin of cholinergic neurons in the Rat basal forebrain.
J. Comp. Neurol., 269, 87 - 95
- SHIRAZI-BEECHY S.P., GORVEL J.P. and BEECHY R.B. (1988). Phosphate transport in intestinal brush border membrane.
J. Bioenerg. Biomemb., 20, 273 - 288.
- SIDEMAN S. and MANOR D. (1982). The dialysis dementia syndrome and aluminum intoxication.
Nephron, 31, 1 - 10.
- SIEGEL N. and HAUG A. (1983). Aluminum interaction with calmodulin. Evidence for altered structure and function from optical and enzymatic studies.
Biochem. Biophys. Acta, 744, 36 - 45

- SILVERMAN J.M., MOHS R.C., BIERER L.M., KEEFE R.S.E. and DAVIS K.L. (1990). The genetics of Alzheimer's disease : a review of recent work. Rev. Biol. Res. Aging, 4, 123 - 137.
- SJÖGREN B., LUNDBERG I. and LIDUMS V. (1983). Aluminum in the blood and urine of industrially exposed workers. Br. J. Ind. Med., 40, 301 - 304.
- SJÖGREN B., ELINDER C.G., LIDUMS V. and CHANG G. (1988). Uptake and urinary excretion of aluminum among welders. Int. arch. Environ. Health, 60, 77 - 79.
- SKALSKY H.L. and CARCHMAN R.A. (1983). Aluminium homeostasis in Man. J. Am. Col. Toxicol., 2, 405 - 423
- SLANINA P., FALKEBORN Y., FRECH W., CEDERGREN A. (1984). Aluminum concentrations in the brain and bone of Rats fed citric acid, aluminum citrate or aluminum hydroxide. Fd. Chem. Toxic., 22, 391 - 397.
- SMITH D.B., JAMES A.L., BURKS J.S. and ALFREY A.C. (1980). Dialysis encephalopathy in peritoneal dialysis. J. Amer. Med. Ass., 244, 365 - 366.
- SOFRONIEV M.V., ECKENSTEIN F., THOENEN H. and CUELLO A.C. (1982). Topography of choline acetyltransferase containing neurons in the forebrain of the Rat. Neurosci. Lett., 33, 7 - 12.
- SPENCER H., KRAMER L., NORRIS C. and WIATROWSKI E. (1990). Effect of aluminum hydroxide on fluoride metabolism. Clin. Pharmacol. Ther., 28, 529 - 535.
- ST GEORGE - HYSLOP P.H., TANZI R.E., POLINSKI R.J., HAINES J.L., NEE L., WATKINS P.C., MYERS R.H., FELDMAN R.G., POLLEN D., DRACHMAN D., GROWDEN J., BRUNI A., FANCIN J.F., SAMON D., FROMMELT P., AMADUCCI L., SORBI S., PIACENTINI S., SEWART G.D., HOBBS W.J., CONNEALLY P.M. and GUSELLA J.F. (1987). The genetic defect causing familial Alzheimer's disease maps on chromosome 21. Science, 235, 885 - 890.
- STERN M., GELLERMANN B. and SCHALL I. (1990). Neonatal and adult patterns of lectin binding to rat small intestinal microvillus membranes. Biol. Neonate, 58, 112 - 119.

- STRONG M.J., V. WOLFF A., WAKAYAMA I. and GARRUTO R.M. (1991).
Aluminum - induced chronic myelopathy in rabbits.
Neurotoxicology, 12, 9 - 22.
- SUGAWARA C., SUGAWARA N., KIYOSAWA H. and MIYAKE H. (1988a).
Decrease of serum triglyceride in normal rats fed with 2000 ppm aluminum
diet for 67 days. 1. Feeding young rats sucrose, lactose, milk, casein or soy-
protein diets with addition of aluminum chloride.
Fundam. Appl. Toxicol., 10, 607 - 615.
- SUGAWARA C., SUGARAWA N., KIYOSAWA H. and MIYAKE H. (1988b).
Decrease of serum triglyceride in normal rat fed with 2000 ppm aluminum
diet for 67 days. II Feeding young and adult rats a sucrose diet with addition
of aluminum hydroxyde and aluminum potassium sulfate.
Fundam. Appl. Toxicol., 10, 616 - 623.
- SWEENEY V.P., PERRY T.L., PRICE J.D.E., REEVE C.E., GODOLPHIN W.J. and
KISH S.J. (1985). Brain γ - aminobutyric acid deficiency in dialysis
encephalopathy.
Neurology, 35, 180 - 184.
- SWENDSEID M.E., WANG M., VYHMEISTER I., CHAN W., SIASSI F., TAM C.F.
and KOPPLE J.D. (1975). Amino acid metabolism in the chronically uremic
rat.
Clin. Nephrol., 3, 240 - 246.
- SZCZKOCKI W. and CHMIELEWSKI J. (1978). Indices of the occupational
exposure to aluminium oxide dusts.
Bull. Inst. Marit. Trop. Med. Gdynia, 29, 37 - 42.
- SZUTOWICZ A., KABATA J. and BIELARCZYK H. (1982). The contribution of
citrate to the synthesis of acetyl units in synaptosomes of developing Rat
brain.
J. Neurochem., 38, 1196 - 1204
- TAGLIAVINI F. and PILLERI G. (1983). Basal nucleus of Meynert : a
neuropathological study in Alzheimer's disease, simple senile dementia,
Pick's disease and Huntington's chorea.
J. Neurol. Sci., 62, 243 - 260.
- TERRY R.D. (1982). Brain disease in aging, especially senile dementia. Dans "Aging
and the Brain" Ed. Terry R.D. Raven Press, New York, 18, pp 47 - 59.

- THURSTON H., GILMORE G.R. and SWALES J.D. (1972). Aluminium retention and toxicity in chronic renal failure.
Lancet, 2, 881 - 883.
- TIZIANELLO A., DEFERRARI G., GARIBOTTO G., ROBAUTO C., SAFFIOTI S., SALVIDIO G. and PAOLETTI E. (1987). Abnormal amino acid metabolism after amino acid ingestion in chronic renal failure.
Kidney Int., 22, 181 - 185.
- TRAPP C.A., MINER G.D., ZIMMERMAN R.L., MASTRI A.R. and HESTON L.L. (1978). Aluminum levels in brain in Alzheimer's disease.
Biol. Psychiat., 13, 709 - 718.
- TRAPP G.A. (1983). Plasma aluminium is bound to transferrin.
Life Sci., 33, 311 - 316.
- TRAPP G.A. (1986). Interactions of aluminum with cofactors, enzymes, and other proteins.
Kidney Int., 29, 12 - 16
- TRUCHET M. (1976). Mise en évidence par microsonde électronique et par microanalyse ionique, de localisations naturelles d'aluminium dans les noyaux de divers types cellulaires.
C. R. Acad. Sci.Paris, 282, 1785 - 1788.
- TSOU V.M., YOUNG R.M., HART M.H. and VANDERHOOF J.A.. (1991). Elevated plasma aluminum levels in normal infants receiving antacids containing aluminum.
Pediatrics, 87, 148 - 151.
- TZOURIO C., ALPEROVITCH A., MACCARIO J. and DARTIGUES J.F. (1991). Is dementia of the Alzheimer type a purely genetic illness ? A modelling approach.
Neuroepidemiology, 10, 288 - 296.
- ULRICH J. (1982). Senile plaques and neurofibrillary tangles of the Alzheimer type in nondemented individuals at presenile age.
Gerontology, 28, 86 -90.
- VAN DER VOET G.B, DE HAAS E.J.M., DE WOLFF F.A. (1985). Monitoring of aluminum in whole blood, plasma, serum, and water by a single procedure using flameless atomic absorption spectrophotometry.
J.Anal. Toxicol., 9, 97 - 100.

- VAN DER VOET G.B. and DE WOLFF F.A. (1986). Intestinal absorption of aluminium in Rats : effet of intraluminal pH and aluminum concentration. J. Appl. Toxicol., 6, 37 - 41.
- VAN DER VOET G.B. and DE WOLFF F.A. (1987) Intestinal absorption of aluminum in Rats : effect of Sodium. Arch. Toxicol. Suppl., 11, 231 - 235.
- VAN DER VOET G.B. et DE WOLFF F.A. (1987). The effect of di and trivalent iron on the intestinal absorption of aluminum in rats. Toxicol. Applied Pharmacol., 90, 190 - 197
- VERBUEKEN A.H., VAN DE VYVER F.L., NOUWEN E.J., VAN GRIEKEN R.E. and DEBROE M.E. (1988). Localization of aluminum in tissues. Contr. Nephrol., 64, 124 - 133.
- VINTERS H.V. and PARTRIDGE W.M. (1986). The blood-brain barrier in Alzheimer's disease. Can. J. Neurol. Sci., 13, 446 - 448.
- WAINER B.H. and RYE D.B. (1984). Retrograde horseradish peroxidase tracing combined with localization of choline acetyltransferase immunoreactivity. J. Histochem. Cytochem., 32, 439 - 443
- WALDHERR R. and GRETZ N. (1988). Natural course of the development of histological lesions after 5/6 nephrectomy. Contr. Nephrol., 60, 64 - 72.
- WALKER P.R., LEBLANC J. and SIKORSKA M. (1989). Effects of aluminum and other cations on the structure of brain and liver chromatin. Biochemistry, 28, 3911.
- WALLER S.B., BALL M.J., REYNOLDS M.A. and LONDON E.D. (1986). Muscarinic binding and choline acetyltransferase in postmortem brains of demented patients. Can. J. Neurol. Sci., 13, 528 - 532.
- WEBERG R. and BERSTAD A. (1986). Gastrointestinal absorption of aluminum from single doses of aluminum containing antacids in man. Eur. J. Clin. Invest., 16, 428 - 432.
- WEINBERGER G., YAGIL R., POPLIKER F. and BERLYNE G.M. (1972). Aluminum metabolism including renal handing in Man and animals. Dans "Uremia, an International Conference on Pathogenesis, Diagnosis and Therapy", pp 128 - 137

- WENK G.L. and STEMMER K.L. (1983). Suboptimal dietary zinc intake increases aluminum accumulation into the Rat brain.
Brain Res., 288, 393 - 395.
- WENK G., SWEENEY J., HUGHEY D., CARSON J. and OLTON D. (1986). Cholinergic function and memory : extensive inhibition of choline acetyltransferase fails to impair radial maze performance in rats.
Behav. Neural Biol., 25, 521 - 526
- WHITEHOUSE P.J., PRICE D.L., STRUBLE R.G., CLARK A.W., COYLE J.T. and DELONG M.R. (1982). Alzheimer's disease and senile dementia : loss of neurons in the basal forebrain.
Science, 215, 1237 - 1237.
- WILLIAMS L.R., VARON S., PETERSON G.M., WICTORIN K., FIRSHER W., BJORKLUND A. and GAGE F. (1986). Continuous infusion of nerve growth factor prevents basal forebrain neuronal death after fimbria fornix transection.
Proc. Natl. Acad. Sci., 83, 9231 - 9235.
- WILLS M.R. and SAVORY J. (1983). Aluminum poisoning : dialysis encephalopathy, osteomalacia and anæmia.
Lancet, 2, 29 - 34.
- WINER B.J. (1971). Statical principals. Dans "Experimental design", Mc Graw-Hill, Inc, New-York.
- WINNEY R.J., COWLE J.F., CUMMING A.D., SHORT A.I.K., SMITH G.D. and ROBSON J.S. (1984). Epidemiology of aluminum toxicity in a "low incidence" area.
Contr. Nephrol., 38, 47 - 58.
- WINNEY R.J., COWIE J.F. and ROBSON J.S. (1986). Role of plasma aluminum in the detection and prevention of aluminum toxicity.
Kidney Int. Suppl., 18, S91 - S95.
- WISNIEWSKI H.M. and KOZLOWSKI P.B. (1982). Evidence of blood-brain barrier changes in senile dementia of the Alzheimer type (SDAT).
Ann. New York Acad. Sci., 396, 119 - 129.
- WISNIEWSKI H.M., SHEK J.W., GRUCA S. and STURMAN J.A. (1982). Aluminum induced neurofibrillary changes in axons and dendrites.
Acta Neuropathol., 63, 190 - 197.
- YASE Y. (1980). The role of aluminum in CNS degeneration with interaction of calcium.
Neurotoxicology, 1, 101 - 109

- YATES C.M., SIMPSON J., RUSSAL D. and GORDON A. (1980). Cholinergic enzymes in neurofibrillary degeneration produced by aluminum. Brain Res., 197, 269 - 274.
- YATES C.M., SIMPSON J., GORDON A., MALONEY A.J.F., ALLISON Y., RITCHIE I.M. and URQUHART A. (1983). Catecholamines and cholinergic enzymes in pre-senile and senile Alzheimer type dementia and Down's syndrome. Brain Res., 280, 119 - 126.
- YATES C.M., SIMPSON J., GORDON A. and CHRISTIE J.E. (1989). Cholinergic enzymes in the spinal cord in Alzheimer type dementia. J. Neural. Transm., 1, 311 - 315.
- YOKEL R.A. (1985). Toxicity of gestational aluminum exposure to the maternal rabbit and offspring. Toxicol. Appl. Pharmacol., 79, 121 - 133.
- YOKEL R.A. and Mc NAMARA J.P. (1985). Aluminum bioavailability and disposition in adult and immature Rabbits. Toxicol. Appl. Pharmacol., 77, 344 - 352.
- YOKEL R.A., PROVAN S.D., MEYER J.J. and CAMPBELL S.R. (1988). Aluminum intoxication and the victim of Alzheimer's disease : similarities and differences. Neurotoxicology, 9, 429 - 442.
- YOKEL R.A. (1989) Aluminum produces age related behavioral toxicity in the Rabbit. Neurotoxicol. Teratol., 11, 237 - 242.
- YOKEL R.A. and McNAMARA P.J. (1989) Elevated Aluminum persists in serum and tissue of Rabbits after a six-hour infusion. Toxicol. Appl. Pharmacol., 99, 133 - 138.
- YOKEL R.A. and McNAMARA P.J. (1990). The influence of dietary calcium reduction on aluminum absorption and kinetics in the Rabbit. Biol. Tr. Elem. Res., 23, 109 - 117.
- YOKEL R.A., LIDUMS V., McNAMARA P.J. and UNGERSTED U. (1991). Aluminum distribution into brain and liver of rats and rabbits following intravenous aluminum lactate or citrate : a microdialysis study. Toxicol. Appl. Pharmacol., 107, 153 - 163.
- YOSHIDA S., YANO I., WAKAYAMA I., MITANI K. and YASE Y. (1990). Morphometric analysis of neurodegenerative changes induced by low

calcium-magnesium and excessive aluminum intake.

Biomed Res., 11, 11 - 18.

YOSHINO M., MURAKAMI K. and YAMADA Y. (1990). Reversal by polyamine of the aluminum-induced inhibition of hexokinase from human brain.

Biomed. Res., 11, 215 - 218.

YOUNG G.A. and PARSONS F.M. (1973). Impairment of phenylalanine hydroxylation in chronic renal insufficiency.

Clin. Sci. Mol. Med., 45, 89 - 97.