

ACIDOSES MÉTABOLIQUES EXPÉRIMENTALES CHEZ LA POULE PONDEUSE

I. — ACTION SUR L'ÉQUILIBRE ACIDO-BASIQUE DU SANG ET L'EXCRÉTION RÉNALE DES ÉLECTROLYTES

B. SAUVEUR

avec la collaboration technique de J. ROCARD

*Station de Recherches avicoles,
Centre national de Recherches zootechniques, 78 - Jouy-en-Josas
Institut national de la Recherche agronomique*

SOMMAIRE

Nous avons étudié chez 40 poules pondeuses de type *Leghorn* l'action de quatre sources alimentaires d'ions H^+ (NH_4Cl , $(NH_4)_2SO_4$, HCl et H_2SO_4) sur l'équilibre acido-basique du sang et la concentration en électrolytes du plasma et de l'urine. Les concentrations des sels et acides apportés ont été calculées de manière telle que la libération théorique d'ions H^+ dans l'organisme soit identique chez les 4 lots expérimentaux. Les mesures ont été effectuées après 4 semaines de distribution de ces régimes et correspondent donc à un état d'acidose chronique.

Il apparaît que le pH sanguin et la bicarbémie sont réduits de la même façon par NH_4Cl et HCl d'une part et par $(NH_4)_2SO_4$ et H_2SO_4 d'autre part. A l'opposé, ces paramètres sanguins chutent beaucoup plus nettement sous l'action d'ions chlorés qu'en présence de sulfates, ces derniers n'entraînant qu'une acidose légère.

Nous observons, chez les animaux soumis à une acidose hyperchlorémique, un accroissement de la chlorémie et de la chlorurie accompagné d'une diminution de la natrémie.

Les concentrations urinaires en sodium, potassium et phosphates des 4 lots expérimentaux sont d'autre part inférieures à celles du lot témoin. Il en est de même pour le pH urinaire qui est identique chez tous les animaux traités mais significativement inférieur à celui des témoins.

L'ensemble de ces résultats est discuté en fonction des études déjà effectuées chez les Mammifères sur les sources endogènes de protons et le rôle des anions dans l'élimination rénale des ions H^+ . Il en ressort que le rein est l'organe fondamental de lutte contre la production endogène d'ions H^+ et que le caractère plus ou moins réabsorbable des anions au niveau du tubule rénal conditionne finalement le degré d'acidémie observé.

INTRODUCTION

Au cours de la dernière décennie, plusieurs travaux ont montré que la physiologie de la formation de l'albumen de l'œuf est liée à l'équilibre acido-basique sanguin des Oiseaux. HALL et HELBACKA (1959), ainsi que HUNT et ATKEN (1962), ont démon-

tré en particulier que des acidoses métaboliques consécutives à l'ingestion de chlorure d'ammonium modifient la « qualité » de cet albumen sans que le mécanisme d'action ait été clairement mis en évidence.

Afin de préciser les rôles respectifs de l'ion NH_4^+ ingéré et de l'anion qui l'accompagne, nous avons entrepris une série d'expériences permettant la comparaison de diverses sources d'ions H^+ incorporées dans les régimes : NH_4Cl , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, HCl et H_2SO_4 . Dans un premier temps, nous nous sommes intéressés aux résultats relatifs à l'équilibre acido-basique des animaux ainsi qu'aux concentrations des principaux électrolytes dans le plasma et l'urine.

Cette première étude, bien que sommaire, était en effet indispensable pour comparer les variations constatées au niveau de l'œuf à celles du sang et de l'urine. Elle permettait également, par analogie avec les études déjà effectuées chez les Mammifères, de voir comment la poule réagit à des surcharges en ions H^+ d'origines diverses et en anions plus ou moins facilement réabsorbables par le tubule rénal.

L'action de traitements identiques sur la qualité et la teneur en électrolytes de l'albumen de l'œuf fait l'objet d'une autre publication (SAUVEUR, 1969).

MATÉRIEL, ET MÉTHODES

Les études portent sur un total de 40 poules *Leghorn* âgées de 29 semaines au début de l'expérience et placées en cages individuelles. Les caractéristiques d'ambiance des locaux d'élevage sont constantes durant toute l'expérience : température 20°C, hygrométrie 60-70 p. 100, lumière 15 h/jour.

Après 10 jours d'adaptation au régime de base dont la composition est donnée au tableau 1, les poules sont divisées en 5 lots de 8 animaux chacun qui reçoivent les régimes suivants :

1. régime de base	lot T
2. — + 3 p. 100 NH_4Cl	lot A
3. — + 3,7 p. 100 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	lot B
4. — + 4,7 l. HCl Cté/100 kg	lot C
5. — + 1,6 l. H_2SO_4 Cté/100 kg	lot D

TABLEAU I

Composition du Régime de base (en p. 100)

Avoine	7,43
Blé	12,5
Maïs	45
Son de blé	3
Tourteau de soja (extraction)	6
Tourteau de tournesol (extraction)	6
Farine de luzerne deshydratée	6
Farine de viande	4
Carbonate de Ca.....	8
Complément minéral et vitaminique.....	2,07

Les concentrations des sels et acides sont calculées de manière telle que la libération d'ions H^+ dans l'organisme — soit sous forme directe, soit à partir de l'ion NH_4^+ — soit identique dans les 4 lots expérimentaux. Les acides sont dilués avant d'être incorporés à la farine.

Ces aliments sont distribués *ad libitum* pendant 28 jours, période durant laquelle nous étudions

l'évolution des caractéristiques de l'œuf décrites par ailleurs. Après ces 4 semaines, nous effectuons les analyses du sang et de l'urine des sujets. Nous prélevons pour ceci 5 ml de sang à la veine alaire gauche de chaque animal au moyen de seringues héparinées, et en mesurons immédiatement le pH et la $p\text{CO}_2$ suivant la méthode déjà décrite par MONGIN et LACASSAGNE (1966). La concentration en ions HCO_3^- est calculée à partir de l'équation d'Hasselbach Henderson :

$$\text{pH} = \text{pK}' + \log \frac{[\text{HCO}^-]}{a \cdot p\text{CO}_2}$$

avec

a = constante de solubilité du CO_2 dans le plasma à $41^\circ\text{C} = 0,0282 \text{ mM/l/mmHg}$
 $\text{pK}' = 6,91$ d'après les résultats de HELBACKA *et al.* (1964).

Chaque prise de sang (une par animal) est faite dans l'heure suivant une oviposition, ce qui permet de ne pas tenir compte des variations d'équilibre acido-basique dues à la formation de l'œuf et mises en évidence par MONGIN et LACASSAGNE (1966).

Après centrifugation, une quantité aliquote de plasma est utilisée pour le dosage des chlorures à l'auto-analyseur Technicon suivant une méthode identique à celle décrite par DAVIES et TAYLOR (1966) (réactif sulfate d'ammonium ferrique/thiocyanate mercurique). Les échantillons de plasma restant sont minéralisés et utilisés pour la détermination des concentrations en ions Na^+ , K^+ et Ca^{++} au spectrophotomètre de flamme (GUEGUEN et ROMBAUTS, 1961). La phosphatémie totale est également mesurée à l'auto-analyseur Technicon à l'aide du vanado-molybdate d'ammonium.

Comme les prises de sang, les prélèvements d'urine sont effectués dans l'heure suivant la ponte, afin d'éliminer l'action de la formation de l'œuf sur l'excrétion urinaire des ions H^+ , démontrée par ANDERSON (1967). Les urines sont prélevées durant une heure environ, en introduisant une canule dans le cloaque suivant la méthode de BOKORI (1961). Cette méthode inhibe les phénomènes de réabsorption qui interviennent normalement dans le cloaque, et permet de collecter l'urine qui provient directement des uretères. Nous prenons d'ailleurs soin de vider le cloaque avant l'introduction de la canule, évacuation favorisée par injection locale préalable de xylocaïne.

Cette méthode de prélèvement entraînant parfois de mauvaises estimations du débit urinaire, nous sommes conduit à n'exprimer les excrétions d'électrolytes qu'en termes de concentration, sans oublier pour autant l'importance de la notion de débit. Ceci nous amène de plus à renoncer à l'utilisation de la méthode de BOKORI pour des études ultérieures.

Le pH urinaire est mesuré dès la fin du prélèvement ; l'urine est ensuite traitée à l'acide nitrique concentré pour dissoudre le précipité d'acide urique (CUYPERS, 1966) et les électrolytes dosés suivant les méthodes décrites plus haut.

RÉSULTATS

Les résultats rapportés sont les moyennes par traitement obtenues à partir d'une prise de sang et d'une collecte d'urine par animal.

Pour chaque élément mesuré, les moyennes des 5 lots sont comparées globalement au moyen d'un test de F et comparées ensuite 2 à 2 lorsque l'effet des traitements apparaît significatif.

1. *Sang*. Les résultats relatifs à l'équilibre acido-basique sanguin et à la teneur en électrolytes du plasma, sont reportés au tableau 2 ainsi que, partiellement, sur la figure 1.

La première constatation est que tous les lots, excepté le témoin, présentent une acidémie avec chute de la bicarbémie. L'ampleur du phénomène est cependant très différente suivant les traitements. C'est ainsi que l'apport d'ions H^+ sous forme de composé chloré (NH_4Cl ou HCl) abaisse le pH sanguin jusqu'à une valeur de 7,16 ou 7,18, alors qu'un apport quantitativement égal sous forme de sulfates ne fait chuter le pH que jusqu'à 7,29 ou 7,35. Si nous considérons les valeurs de bicarbémie, nous retrouvons des variations exactement parallèles : 12,7 et 13 méq/l dans les lots en

acidose hyperchlorémique contre 17,9 chez les deux lots recevant $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ou H_2SO_4 (lot témoin : 21,7 méq HCO_3^- /litre).

TABLEAU 2

Équilibre acido-basique du sang et composition électrolytique du plasma dans l'heure suivant la ponte d'un œuf (Moyennes par traitement)

	Témoin (T)	NH_4Cl (A)	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (B)	HCl (C)	H_2SO_4 (D)	F (test de comparaison globale des 5 lots)
Na^+ (méq/l)	135,0	130,0*	136,7	131,5	134,8	3,07*
K^+ (méq/l)	6,52	6,55	6,37	6,92	6,55	0,19
Ca^{++} (méq/l)	13,84	13,81	12,28	14,07	12,51	0,77
Cl^- (méq/l)	110,15	122,22**	113,02	123,20***	113,79	28,53***
P (mg/l)	304	237	207	173	235	2,28
pH.....	7,40	7,16***	7,29***	7,18***	7,35*	35,33***
pCO_2 (mm/Hg)	38,35	38,95	40,4	38,83	35,38	0,52
HCO_3^- (méq/l)	21,7	12,66***	17,95**	13,05***	17,88**	15,93***

Autres différences significatives

	A-B	C-D	B-D
Na^+ (méq/l..)	— 6,7*		
Cl^- (méq/l)	9,2***	9,4***	
pH	— 0,13***	— 0,17***	— 0,06**
HCO_3^- (méq/l)	— 5,29***	— 4,85***	

Moyennes différentes de celles du lot témoin { * niveau de probabilité $p < 0,05$
** niveau de probabilité $p < 0,01$
*** niveau de probabilité $p < 0,001$

Les valeurs des paramètres statistiques montrent l'existence de différences hautement significatives entre tous les lots expérimentaux et le lot témoin en ce qui concerne le pH et la bicarbémie. Il en est de même ($p < 0,0005$) entre les lots recevant des ions chlorures et ceux recevant des ions sulfates. Il n'apparaît en revanche aucune différence significative entre les lots recevant le même anion sous forme d'acide ou de sel d'ammonium.

D'autre part, nous ne constatons pas de variations importantes de pCO_2 entre les 5 lots, ce qui est plus surprenant comme nous le verrons dans la discussion.

Parmi les électrolytes du plasma, seuls le chlore et le sodium montrent des variations de grande amplitude. La chlorémie augmente ($p < 0,0005$) chez les lots A et C

(122,2 et 123,2 méq/l contre 110,1 pour le lot témoin) et, très légèrement, chez les lots B et D. Ces variations ont, selon les cas, des origines différentes qui seront discutées ultérieurement.

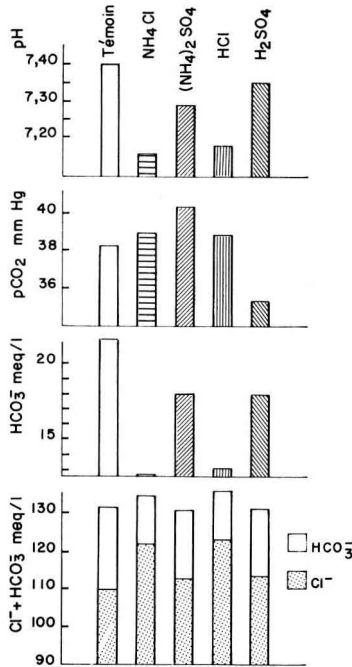


FIG. 1. — Équilibre acido-basique sanguin chez des poules en acidose métabolique chronique dans l'heure suivant le ponte d'un œuf

Si nous faisons la somme des concentrations en ions Cl^- et HCO_3^- (fig. 1), les valeurs obtenues pour les lots T, B et D sont identiques (131-132 méq/l). La somme de ces anions est légèrement supérieure (135-136 méq/l) chez les animaux recevant NH_4Cl ou HCl ; dans ces lots, la chute de bicarbémie a donc été légèrement inférieure à l'accroissement de chlorémie. Le coefficient de corrélation entre les concentrations en ions Cl^- et HCO_3^- du plasma reste cependant élevé : $r = -0,679$ (avec $F = 37,7$, $p < 0,0005$).

La natrémie chute chez les animaux dont l'acidose est la plus sévère (lots A et C). Cet abaissement est significatif ($p < 0,05$) pour le lot A, mais non pour le lot C.

Il semble également que la concentration en phosphore total du plasma (exprimée en mg/l) tende à baisser chez tous les lots traités. La grande dispersion des valeurs individuelles ne permet pas cependant de mettre en évidence des différences significatives entre lots.

Notons enfin que la kaliémie et la calcémie ne présentent aucune variation significative.

2. *Urine.* Les valeurs du pH, ainsi que les concentrations en électrolytes de l'urine figurent au tableau 3 (moyennes par traitement). Les nombres du tableau 4 représentent les rapports de concentration de l'urine et du plasma en ions Na^+ , K^+ et Cl^- . Rappelons que, compte tenu de la méthode de prélèvement utilisée, il ne nous est pas possible de donner de résultats exprimés en débit.

Si nous considérons les valeurs du pH urinaire, nous constatons qu'elles diminuent de façon hautement significative ($p < 0,0005$) chez les lots soumis à une surcharge d'ions H^+ . Remarquons toutefois que, contrairement à ce que nous avons

TABLEAU 3

Concentration des électrolytes dans l'urine après la ponte en mégil
(Moyennes par traitement)

	Témoïn (T)	NH ₄ Cl (A)	(NH ₄) ₂ SO ₄ (B)	HCl (C)	H ₂ SO ₄ (D)	F (test de comparaison globale des 5 lots)
Na ⁺	64,0	30,0*	30,10*	20,74*	25,93*	2,32*
K ⁺	73,5	20,8**	27,8**	26,4**	33,9**	4,20**
Ca ⁺⁺	97,17	50,02	58,07	114,16	117,35	2,23
Cl ⁻	62,97	141,85*	12,63	182,67***	53,46	10,23***
PO ₄ H ₂ ⁻ + PO ₄ H ⁻	32,88	10,00*	6,69*	2,93*	4,36*	3,06*
pH	7,37	5,29***	5,39***	5,35***	5,06***	86,58***

*, **, *** Voir tableau 2 (moyennes différentes de celle du lot témoin).

TABLEAU 4

Rapports Urine/Plasma
calculés d'après les moyennes par traitement des tableaux 2 et 3

	(T)	(A)	(B)	(C)	(D)
Na ⁺ (U/P)	0,474	0,231	0,220	0,158	0,192
K ⁺ (U/P)	11,27	3,17	4,36	3,81	5,17
Cl ⁻ (U/P)	0,57	1,16	0,11	1,48	0,47

observé au niveau sanguin, les 4 valeurs de pH de l'urine des lots traités sont identiques (statistiquement parlant) et par conséquent indépendantes de l'anion qui accompagne la source alimentaire de protons.

L'observation des résultats relatifs à la concentration des électrolytes dans l'urine permet de dégager les points suivants :

— La teneur en potassium de l'urine, comparée à celle du lot témoin, décroît chez tous les lots en acidose ($p < 0,01$) qui ne diffèrent pas entre eux. Du fait de la constance de la kaliémie, le rapport K^+ urine/ K^+ plasma est plus élevé chez les témoins (11,3) que chez les animaux traités (3,2 à 5,2).

— La concentration urinaire en chlorures est très élevée chez les poules recevant cet anion par voie alimentaire (lots A et C). Les rapports Cl^- urine/ Cl^- plasma supérieurs à 1 dans ces deux cas (tabl. 4) montrent en outre que ces animaux parviennent

à excréter une urine plus concentrée en chlore que le plasma. Il apparaît de plus que la surcharge en sulfates, et spécialement en $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, aboutit à une concentration de l'urine en chlore inférieure à celle du lot témoin. Nous pouvons enfin noter les différences (tabl. 3) :

$$(A) - (B) = (C) - (D) = 129,2 \text{ méq Cl}^-/\text{l d'urine } (p < 0,0005)$$

— L'élimination urinaire des phosphates est, en revanche, abaissée chez tous les lots traités ($p < 0,05$) et passe de 33 à des valeurs comprises entre 3 et 10 méq/l d'urine. Il semble en être de même dans le cas du sodium dont la concentration urinaire chute de 64 à une moyenne de 27 méq/l d'urine ; la valeur obtenue pour le test de F ne permet cependant pas de tirer de cette dernière observation des conclusions certaines.

— Compte tenu de la grande dispersion des valeurs obtenues, aucune variation significative de concentration de l'urine en calcium ne peut être démontrée.

DISCUSSION

1. Importance de l'anion incorporé au régime dans la réalisation de l'acidose

Nous avons comparé ici quatre sources alimentaires d'ions H^+ (NH_4Cl , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, HCl et H_2SO_4) afin de déterminer si l'ion NH_4^+ exerce chez les Oiseaux une action propre sur l'équilibre acido-basique (et diverses caractéristiques de l'albumen de l'œuf étudiées par ailleurs) ou s'il n'intervient que comme fournisseur de protons. De ce fait, nous avons pu également étudier l'action de l'anion accompagnant dans le régime la charge acide. Les résultats montrent que le pH sanguin et la bicarbémie sont affectés de façon identique par des surcharges en HCl et NH_4Cl d'une part et en H_2SO_4 et $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ d'autre part.

A l'opposé, il apparaît que le pH du sang et la bicarbémie chutent beaucoup plus nettement sous l'action d'ions Cl^- qu'en présence d'ions SO_4^{--} , alors que l'apport potentiel d'ions H^+ est identique dans tous les lots.

Ces différents résultats peuvent être interprétés de la manière suivante. Il est connu que tout corps composé d'un cation métabolisable et d'un anion non métabolisable est la source d'une production endogène d'ions H^+ (RICHEL, ARDAILLOU et AMIEL, 1966). Le chlorure d'ammonium répond à cette définition et entraîne donc, au même titre que HCl , l'apparition d'acidoses métaboliques.

Le problème est plus complexe en ce qui concerne le sulfate d'ammonium. L'ion SO_4^{--} peut en effet être considéré comme très partiellement métabolisable dans la mesure où l'administration de $^{35}\text{SO}_4^{--}$ à des poulets entraîne l'apparition de taurine marquée (MACHLIN et PEARSON, 1956). Bien que la voie métabolique utilisée soit certainement très complexe et encore mal connue (JACOBSEN et SMITH, 1958), ce phénomène ne doit pas être négligé. L'incorporation éventuelle du soufre inorganique dans les acides aminés soufrés est, par contre, sans influence sur le bilan des ions H^+ puisque, lors de leur dégradation, ces acides aminés sont eux-mêmes générateurs de protons.

Quoi qu'il en soit, seule une très faible partie de l'ion SO_4^{--} est ainsi utilisée et il faut chercher ailleurs l'explication totale des phénomènes observés.

BANK et SCHWARTZ (1960) ont bien mis en évidence l'effet propre des anions peu réabsorbables tels que le sulfate en démontrant chez le Chien qu'au niveau du tubule rénal, l'inégalité de réabsorption du sodium et de l'anion qui l'accompagne est le facteur critique d'excrétion d'acidité titrable. L'hypothèse proposée est que les anions qui pénètrent le plus facilement dans l'épithélium tubulaire suivent en grande quantité le sodium et abaissent ainsi le gradient électrique transmembranaire créé par le transport actif de ce cation alors que les anions difficilement réabsorbables contribueraient à accroître la d. d. p. Cette hypothèse a été vérifiée chez le Rat par CLAPP, RECTOR et SELDIN (1962) qui obtiennent après injection de sulfate de sodium une augmentation de 20 à 30 mV du potentiel transtubulaire distal.

Les changements d'acidité urinaire peuvent alors être expliqués par le passage plus ou moins important des ions H^+ qui se distribuent passivement dans le tubule en suivant le gradient électrique transmembranaire.

Même si l'on admet que ce processus passif n'est pas le seul à intervenir et qu'il existe un transfert actif des ions H^+ , les modifications du potentiel distal gardent toute leur importance (CLAPP *et al.*, déjà cités).

Cet effet des anions dans l'élimination des H^+ a également été démontré chez le Rat et chez l'Homme (LEGRAIN et GUY-GRAND, 1967). Les travaux de KOEFOED-JOHNSEN et USSING (1958) sur la peau de Grenouille conduisent en fait à penser qu'il s'agit d'une propriété générale des membranes capables de transporter activement le sodium. Nous pouvons donc supposer logiquement qu'un tel mécanisme intervient dans le tubule rénal des Oiseaux. WOLBACH (1955) a d'ailleurs montré que, mis à part l'excrétion particulière d'acide urique, la compensation rénale de l'acidose s'effectue chez le Poulet par excrétion accrue d'ammonium et d'acidité titrable, suivant les mêmes processus que chez le Chien ou l'Homme.

Il est par ailleurs important de remarquer que les chiens utilisés par BANK et SCHWARTZ (1960) n'étaient pas en acidose. SCHWARTZ *et al.* (1961) supposent cependant que l'action de l'ion Cl^- sur la bicarbémie à la suite d'acidoses respiratoires sévères pourrait également être expliquée par le rôle que jouent les anions dans l'excrétion rénale des ions hydrogènes. De plus les travaux de RECTOR et SELDIN (1962) montrent de façon certaine l'importance des anions dans la lutte contre l'acidose : c'est ainsi qu'une injection de Na_2SO_4 à des chiens placés en acidose ventilatoire, réduit la perte urinaire des bicarbonates, alors qu'une injection de NaCl s'avère inefficace ; le résultat est le même chez des animaux traités à l'acétazolamide, inhibiteur de l'anhydrase carbonique.

Nous sommes ainsi conduits à conserver l'hypothèse de BANK et SCHWARTZ pour expliquer le développement de l'acidose métabolique chez nos poules. Résumée en quelques mots, elle devient dans ce cas particulier la suivante : un excès d'ions SO_4^{--} dans le tubule rénal entraîne, du fait de leur faible réabsorption, un accroissement de la d. d. p. transmembranaire créé par le transport actif du sodium ; il s'ensuit une excrétion accrue d'ions hydrogènes et par conséquent une importante compensation rénale de l'acidose. A l'opposé, l'apport d'ions Cl^- ralentit ce processus et conduit donc à un état d'acidose beaucoup plus sévère.

Les différences de bicarbémie et de pH sanguin constatées entre les lots sup-

plémentés soit en chlorures, soit en sulfates, sont la conséquence immédiate de cette action rénale. Cette hypothèse rend compte également du fait que les pH urinaires des 4 lots expérimentaux sont tous inférieurs à ceux du lot témoin, mais non différents entre eux. On sait en effet que le pH ne reflète que les ions H^+ libres de l'urine et que cette forme d'excrétion est assez limitée. WOLBACH (1955) montre ainsi que chez le Poulet soumis à une surcharge acide, le pH urinaire reste compris entre 5,1 et 5,6, valeurs retrouvées dans la présente expérience.

C'est donc essentiellement l'excrétion d'acidité titrable (phosphates et acide urique pour les Oiseaux) et d'ammonium qui représente la lutte la plus efficace contre l'acidose. Bien que ces deux paramètres de l'urine n'aient pu être mesurés ici, nous sommes conduits à supposer que les lots recevant du sulfate d'ammonium ont excrété une acidité titrable voisine du maximum compatible avec le pH sanguin, excrétion qui n'a pu être réalisée chez les lots surchargés en chlorures. Nous nous proposons de vérifier prochainement cette hypothèse.

Avant d'en terminer avec les paramètres de l'équilibre acido-basique, rappelons que nous n'avons constaté aucune variation de pCO_2 plasmatique, ce qui peut paraître assez surprenant. Il est en effet classiquement admis qu'en cas d'acidose métabolique, la pCO_2 plasmatique diminue progressivement pour compenser l'abaissement du pH. Celui-ci étant très bas chez certains de nos animaux, les chémorécepteurs sensibles aux ions H^+ auraient dû maintenir une hyperventilation compensatrice (COMROE, 1965) dont l'absence doit par conséquent trouver, par ailleurs, son explication.

2. Modifications de l'équilibre électrolytique

Outre les variations de l'équilibre acido-basique, celles enregistrées dans les teneurs en électrolytes du plasma et de l'urine méritent quelques commentaires.

a) *Potassium.*

La neutralisation des ions H^+ par les liquides intracellulaires provoque vraisemblablement à partir de ces zones, un départ des ions K^+ qui se traduit, en acidose aiguë, par un accroissement de la kaliémie et de la kaliurie (SCHWARTZ, ORNING et PORTER, 1957). Ces auteurs supposent toutefois que la kaliémie doit se rapprocher de la normale en acidose chronique, ce que nous vérifions ici.

S'il ne nous est pas possible d'estimer le taux d'excrétion rénal du potassium, rappelons que le rapport (K^+) urine/ (K^+) plasma est abaissé chez les lots en acidose, comparés au témoin. Ce résultat est en accord avec l'hypothèse d'une compétition entre les ions H^+ et K^+ au niveau de l'échange avec le sodium dans le tubule distal (BERLINER, KENNEDY et ORLOFF, 1951). Notons de plus que l'adjonction au régime des ions SO_4^{--} entraîne un léger accroissement de la concentration de l'urine en K^+ par rapport à celles des lots surchargés en Cl^- . Ainsi, la nature de l'anion agirait non seulement sur l'excrétion des protons mais aussi sur celle du potassium, phénomène déjà signalé dans la revue bibliographique de GIEBISCH et WINDHAGER (1964).

b) *Sodium.*

Il est possible que la réduction de la concentration de l'urine en ions Na^+ chez les lots en acidose soit liée à une augmentation de la diurèse. SARTORIUS, ROEMMELT et PITTS (1949) montrent en effet que l'acidose métabolique s'accompagne chez

l'Homme d'une augmentation de la diurèse attribuée à une baisse d'activité neuro-hypophysaire. Rappelons qu'au niveau sanguin, nous n'avons constaté un abaissement de la natrémie que chez les lots en acidose hyperchlorémique : l'origine de cette différence doit être recherchée au niveau rénal puisque l'excrétion du sodium est liée à celle des ions Cl^- et H^+ (SARTORIUS *et al.* déjà cités).

c) *Calcium.*

MARTIN et JONES (1961) ainsi que CUISINIER-GLEIZES, MATHIEU et ROYER (1967) montrent que l'administration de NH_4Cl entraîne chez l'Homme et le Rat un accroissement de calciurie sans variation simultanée de la calcémie. Si les seules concentrations de Ca^{++} urinaire observées ici, ne nous permettent pas de conclure à l'existence d'une hypercalciurie, nous retrouvons en revanche que l'acidose métabolique est sans effet sur la calcémie de la Poule, résultat déjà signalé par HUNT et ATKEN (1962).

d) *Phosphore.*

Chez le Rat comme chez l'Homme et le Chien, l'hyperphosphaturie consécutive à une acidose métabolique contribue, pour une grande part, à l'élimination des ions H^+ sous forme de phosphates diacides (CUISINIER-GLEIZES et coll. déjà cités). Il ne semble pas qu'il en aille de même chez les Oiseaux puisque WOLBACH (1955), en l'absence de surcharge en phosphates, montre chez le Poulet qu'en cas d'agression acide, les phosphates ne représentent que moins d'un tiers de l'acidité titrable totale, le reste étant dû à un accroissement d'excrétion d'acide urique. Cette réaction particulière des Oiseaux à l'acidose justifierait partiellement la chute de concentration en phosphore de l'urine chez nos animaux soumis à une surcharge acide.

Dans la mesure où le phosphore plasmatique total peut traduire fidèlement les variations du Pinorganique, il semble, d'après nos résultats, qu'une hypophosphatémie accompagne la baisse de concentration en phosphates de l'urine. Ce résultat est d'ailleurs confirmé par des expériences plus récentes effectuées dans notre laboratoire (à paraître).

e) *Chlorures.*

Rappelons pour terminer, les accroissements caractéristiques de la chlorémie et de la chlorurie chez les animaux recevant soit NH_4Cl , soit HCl . Cette réponse logique est bien connue chez toutes les espèces. SARTORIUS *et al.* (déjà cités) expliquent l'apparition de la chlorurie par un « dépassement » de la capacité de réabsorption de cet anion par le tubule rénal. De notre côté, nous observons chez les lots A et C des rapports $(\text{Cl}^-)_u/(\text{Cl}^-)_p$ de 1,2 et 1,5, supérieurs même à ceux rapportés par SKADHAUGE et SCHMIDT-NIELSEN (1967) après injection à des poulets de 15 méq/kg de NaCl .

Au niveau sanguin, nous constatons des variations en sens opposé de la chlorémie et de la bicarbémie, phénomène maintes fois décrit, quel que soit le type d'acidose étudié. BOURDILLON (1937), étudiant l'action du chlorure d'ammonium chez l'Homme, pense qu'un ion HCO_3^- du plasma est décomposé par un H^+ provenant de la transformation de NH_4^+ en urée. Le même équilibre entre HCO_3^- et Cl^- est rapporté en cas d'acidose ventilatoire (POLAK *et al.*, 1961), et pendant la phase de récupération qui suit une exposition au CO_2 (SCHWARTZ *et al.* 1961).

Un dernier mécanisme favorisant partiellement la réabsorption des ions Cl^- peut être la présence d'un excès d'anions peu réabsorbables tels que les sulfates. RECTOR et CLAPP (1962) trouvent, chez les rats en diurèse au Na_2SO_4 , des concentrations en chlore très faibles dans le fluide tubulaire distal, justifiant même l'intervention d'une réabsorption active de l'ion Cl^- . Ceci expliquerait la légère augmentation de chlorémie chez nos oiseaux soumis à une surcharge en sulfates, ainsi que la faiblesse des rapports $(\text{Cl}^-)_u/(\text{Cl}^-)_p$ des deux mêmes lots.

CONCLUSION

Il ressort de nos résultats et de la discussion qui les suit que la réalisation d'acidoses métaboliques chez la Poule dépend essentiellement de l'anion inclus dans la source alimentaire d'ions H^+ . C'est ainsi que les paramètres de l'équilibre acido-basique sanguin sont relativement peu modifiés par l'adjonction au régime de sulfate d'ammonium ou d'acide sulfurique, alors que la même quantité d'ions hydrogènes apportée sous forme de chlorure d'ammonium ou d'acide chlorhydrique maintient l'animal dans un état d'acidose très profonde. Ce résultat est en accord avec ce que l'on sait du rôle joué par le pouvoir pénétrant des anions dans l'excrétion tubulaire rénale des ions H^+ chez les Mammifères. Il nous permet par ailleurs de mieux comprendre les variations enregistrées au niveau de l'équilibre électrolytique de l'œuf (SAUVEUR, 1969) et ouvre la porte à d'autres recherches dans le domaine peu connu des interactions entre équilibres acido-basique et hydro-minéral des Oiseaux.

Reçu pour publication en mars 1969.

REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier MM. LACASSAGNE et MONGIN qui ont bien voulu relire notre manuscrit ainsi que le Dr AMIEL dont les arguments sont venus appuyer notre discussion.

SUMMARY

EXPERIMENTAL METABOLIC ACIDOSIS IN LAYING HENS.

I. EFFECT ON ACID-BASE BALANCE IN BLOOD AND RENAL EXCRETION OF ELECTROLYTES

The effect of four sources of H^+ ion in the feed (NH_4Cl , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, HCl and H_2SO_4) on acid-base balance in blood and concentrations of electrolytes in plasma and urine were studied in 40 laying hens of the *Leghorn* type. The concentrations of salts and acids to be given were calculated in such a way that the theoretical liberation of H^+ ions in the body would be identical in the four experimental groups. Measurements were made after the diets had been given for 4 weeks and thus correspond to a state of chronic acidosis.

It appeared that blood pH and bicarbonate were reduced in the same way by NH_4Cl and HCl on the one hand and by $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ and H_2SO_4 on the other. In contrast, these measurements in blood fell much more under the influence of chloride ions than in the presence of sulphates, which produced only mild acidosis.

It was seen that in the birds in which acidosis was produced by excess chloride in blood there was an increase of chloride in blood and urine and a reduction of sodium in blood. Concentrations of sodium, potassium and phosphate in urine of the 4 experimental groups were lower than in controls. It was the same for pH of urine, which was the same in all the experimental hens and significantly less than in controls.

The combined results are discussed in relation to studies already made in mammals on endogenous sources of protons and the role of anions in the elimination of H^+ ions by the kidneys. It shows that the kidney is the fundamental organ in the struggle against the endogenous production of H^+ ions and the degree to which the anions can be reabsorbed in the kidney tubules finally governs the degree of acidity produced.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ANDERSON R. S., 1967. Acid-base changes in the excreta of the laying hen. *Vet. Rec.*, **80**, 314-315.
- BANK N., SCHWARTZ W. B., 1966. The influence of anion penetrating ability on urinary acidification and the excretion of titratable acid. *J. Clin. Invest.*, **39**, 1516-1525.
- BERLINER R. W., KENNEDY T. J., ORLOFF J., 1951. Relationship between acidification of the urine and potassium metabolism. *Am. J. Med.*, **11**, 274-282.
- BOKORI J., 1961. *Magyar Allatosvosok haptia*, **16**, 257.
- BOURDILLON J., 1937. Distribution in body fluids and excretion of ingested ammonium chloride, potassium chloride and sodium chloride. *Am. J. Physiol.*, **20**, 411-419.
- CLAPP J. R., RECTOR F. C., SELDIN D. W., 1962. Effect of unabsorbed anions on proximal and distal transtubular potentials in rats. *Am. J. Physiol.*, **202**, 781-786.
- COMROE J. H., 1965. *Physiology of Respiration*. Year Book Medical-Publishers Inc. Chicago, Ill. USA.
- CUISINIER-GLEIZES P., MATHIEU H., ROYER P., 1967. Effet d'une surcharge acide sur l'équilibre phosphocalcique du rat parathyroïdectomisé et du rat normal. *Rev. franç. Études clin. biol.*, **12**, 566-573.
- CUYPERS Y., 1966. *Recherches sur les fonctions et propriétés respectives des glomérules et des tubes rénaux chez le Coq*. Thèse Faculté de Médecine. Liège.
- DAVIES A. W., TAYLOR K., 1966. Application of the AutoAnalyser in a River Authority Laboratory in *Technicon Symposia 1965. Automation in analytical chemistry*. Mediand Incorporated. New York, p. 298.
- GIEBISCH G. G., WINDHAGER E. E., 1964. Renal tubular transfert of sodium, chloride and potassium. *Am. J. Med.*, **36**, 643-669.
- GUEGUEN L., ROMBAUTS, P., 1961. Dosage de Na-, K-, Ca et Mg par spectrophotométrie de flamme dans les aliments, le lait et les excreta. *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.*, **1**, 80-97.
- HALL K. N., HELBACKA N. V., 1959. Improving albumen quality. *Poultry Sci.*, **38**, 111-114.
- HELBACKA N. V., CASTERLINE J. L., SMITH C. J., SHAFFNER C. S., 1964. Investigation of plasma carbonic Acid pK' of the Chicken. *Poultry Sci.*, **43**, 138-144.
- HUNT J. R., AITKEN J. R., 1962. The effect of ammonium and chloride ions in the diet of hens on egg shell quality. *Poultry Sci.*, **41**, 434-438.
- JACOBSEN J. G., SMITH L. H. Jr., 1968. Biochemistry and physiology of taurine and taurine derivatives. *Physiol. Rev.*, **48**, 424-511.
- KOEFOD-JOHNSEN V., USSING H. H., 1958. The nature of the frog skin potential. *Acta physiol. scand.*, **42**, 298.
- LEGRAIN M., GUY-GRAND B., 1967. Étude des effets d'une perfusion de sulfate de sodium sur le pH urinaire à la phase de reprise de la diurèse des néphropathies tubulo-interstitielles aiguës. *Rev. franç. Études clin. biol.*, **12**, 588-593.
- MACHLIN L. J., PEARSON P. B., 1956. Studies on utilization of sulfate sulfur for growth of the Chicken. *Proc. Soc.*, **93**, 204-206.
- MARTIN H. E., JONES R., 1961. The effect of ammonium chloride and sodium bicarbonate on the urinary excretion of magnesium, calcium and phosphate. *Am. Heart J.*, **62**, 206-210.
- MONGIN P., LACASSAGNE L., 1966. Équilibre acido-basique du sang et formation de la coquille de l'œuf. *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.*, **6**, 93-100.
- POLAK A., HAYNIE G. D., HAYS R. M., SCHWARTZ W. B., 1961. Effects of chronic hypercapnia on electrolyte and acid base equilibrium. I. Adaptation. *J. Clin. Invest.*, **40**, 1223-1237.
- RICHEL G., ARDAILLOU R., AMIEL C., 1966. Les sources alimentaires d'ion H^+ . Bases physiologiques d'une diététique de l'acidose rénale. In *Actualités néphrol. Hôp. Necker*. Paris, Éd. Med. Flammarion, 207-221.
- RECTOR F. C., CLAPP J. R., 1962. Evidence for active chloride reabsorption in the distal renal tubule of the rat. *J. Clin. Invest.*, **41**, 101-107.
- RECTOR F. C., SELDIN D. W., 1962. Influence of unabsorbed anions on renal threshold and T_m for bicarbonate. *Am. J. Physiol.*, **202**, 313-318.

- SARTORIUS O. W., ROEMMELT J. C., PITTS R. F., 1949. The renal regulation of acid-base balance in man. IV. The nature of the renal compensation in ammonium chloride acidosis. *J. Clin. Invest.*, **28**, 423-439.
- SAUVEUR B., 1969. Acidoses métaboliques expérimentales chez la poule pondeuse. 2. Action sur la composition minérale de l'albumen de l'œuf. *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.* (sous presse).
- SCHWARTZ W. B., ORNING K. J., PORTER R., 1957. The internal distribution of hydrogen ions with varying degrees of metabolic acidosis. *J. Clin. Invest.*, **36**, 373-382.
- SCHWARTZ W. B., HAYS R. M., POLAK A., HAYNIE G. D., 1961. Effects of chronic hypercapnia on electrolyte and acid-base equilibrium. II. Recovery, with special reference to the influence of chloride intake. *J. Clin. Invest.*, **40**, 1238-1249.
- SKADHAUGE E., SCHMIDT-NIELSEN B., 1967. Renal function in the domestic fowl. *Am. J. Physiol.*, **212**, 793-798.
- WOLBACH R. A., 1955. Renal regulation of acid-base balance on the Chicken. *Am. J. Physiol.*, **181**, 149-156.
-