

## Le rete mirabile de l'anguille : un modèle unique pour l'étude de la perméabilité capillaire

Le *rete mirabile* de la vessie natatoire de l'anguille est un organe microvasculaire d'un grand intérêt dans le domaine de la physiopathologie de la perméabilité capillaire. La présence de deux *retia* symétriques à la surface de la vessie présente l'avantage de pouvoir analyser simultanément les relations entre la structure, la biochimie et la fonction de l'endothélium capillaire, tant à l'état normal qu'après stimulation aiguë ou chronique par divers agents physiques et chimiques. La morphologie fine des capillaires, la composition de leurs membranes basales, leurs propriétés métaboliques et fonctionnelles sont comparables à celles que l'on a décrites chez le mammifère dans des capillaires de même type. Le *rete* du téléostéen représente ainsi un bon modèle de tissu microvasculaire.

Eugenio A. Rasio  
Moïse Bendayan  
Carl A. Goresky

### ADRESSES

Eugenio A. Rasio : *Professeur de nutrition*. Faculté de médecine, Université de Montréal. Unité métabolique, hôpital Notre-Dame, 1560, rue Sherbrooke-Est, Montréal, Québec, Canada, H2L 4M1. M. Bendayan : *Directeur du département d'anatomie*. Faculté de médecine, Université de Montréal, Case Postale 6128, Montréal, Québec, Canada, H3C 3J7. C. Goresky : *Professeur*. Faculté de médecine, McGill University, Chercheur de carrière du Conseil de recherches médicales du Canada, University Medical Clinic, Montreal General Hospital, 1650 Cedar Avenue, Montréal, Québec, Canada, H3G 1A4.

m/s n° 5 vol. 9, mai 93

L'étude des mécanismes qui régissent le transport transcapillaire dans les conditions physiologiques ou dans divers états de perméabilité altérée se heurte à d'importantes difficultés. En effet, *in vivo*, les capillaires sanguins se trouvant intimement mêlés aux tissus, il est problématique d'évaluer de manière indépendante leurs propriétés métaboliques et fonctionnelles. *In vitro*, en isolant le tissu capillaire ou en cultivant des cellules endothéliales microvasculaires, les résultats que l'on obtient sont très difficiles à interpréter. Malgré tout, l'on est ainsi passé d'un concept statique de la perméabilité capillaire — fondé sur l'idée que le passage s'effectue par diffusion à travers une membrane poreuse inerte [1] — à un concept complexe et dynamique où le transport transcapillaire est contrôlé par l'activité métabolique des cellules microvasculaires [2]. Cette pers-

pective revêt un intérêt pratique notable : il est possible d'agir sur la perméabilité en utilisant des agents métaboliques, soit pour l'augmenter et ouvrir à des médicaments l'accès à des tissus où la barrière capillaire est étanche, soit, le plus souvent, pour la réduire et contrecarrer ainsi la formation de transsudats et d'exsudats.

### Structure des capillaires

Le *rete* est nourri par une branche de l'artère mésentérique qui se ramifie dans un réseau de capillaires artériels rectilignes et sans anastomoses, chacun pouvant atteindre un centimètre de longueur. A la sortie du *rete*, ces capillaires se regroupent dans une artère de drainage qui se rend à la paroi de la vessie. Cette artère donne naissance à un deuxième réseau capillaire qui permet la diffusion de l'oxygène dans la vessie et le transport au

*rete* de l'acide lactique produit par l'épithélium vésical. La veine qui pénètre le *rete* se ramifie sous la forme d'un réseau de capillaires veineux où le sang circule en sens inverse de celui du réseau artériel qu'il côtoie. Une veine de drainage se jette ensuite dans la veine porte. Ainsi, au pôle céphalique du *rete* se trouvent une artère d'accès et une veine de sortie, au pôle caudal, une artère de sortie et une veine d'accès (figures 1 et 2). Le *rete* est donc un organe capillaire pur constitué de plusieurs centaines de milliers de vaisseaux capillaires artériels et veineux alternés (figures 3, 4 et 5) et où le flux sanguin s'écoule dans des directions opposées. L'échange par contre-courant qui se produit entre les capillaires empêche que la vessie natatoire ne perde une partie importante de son oxygène et permet à l'anguille d'adapter sa densité corporelle à la profondeur de l'eau. Chez d'autres espèces animales, les réseaux vasculaires situés à contre-courant, en emmagasinant la chaleur, permettent soit d'éviter le refroidissement, soit d'activer localement des processus métaboliques. C'est ainsi que les oiseaux de l'océan Arctique parviennent à garder les pattes dans l'eau froide sans mourir d'hypothermie, et que les requins peuvent effectuer des déplacements

très rapides en activant certaines de leurs masses musculaires où les oxydations cellulaires sont stimulées par la température [3, 4].

Lorsqu'on examine la morphologie fine des capillaires au microscope, on remarque que les capillaires artériels sont de type continu, tapissés de cellules endothéliales hautes, tandis que les capillaires veineux sont « fenêtrés » avec des cellules aplaties (figures 3, 4). Les cellules endothéliales adhèrent les unes aux autres par des jonctions de type serré (figure 6) qui scellent les lumières capillaires. Le système tubulo-vésiculaire est particulièrement développé dans les cellules endothéliales artérielles où il forme un réseau de canaux et de vésicules membranaires qui s'ouvrent sur la membrane luminale et abluminale (figures 6 et 7). Dans les capillaires veineux, les pores, nombreux, sont obstrués par un diaphragme bien défini (figure 6). Les capillaires artériels et veineux demeurent en contact étroit par l'intermédiaire de leur membranes basales respectives où logent des péricytes (figure 4). La morphologie des capillaires du *rete* est en tout point comparable à celle des capillaires de même type que l'on retrouve dans les tissus de mammifères en général, et dans l'espèce humaine en particulier.

## RÉFÉRENCES

1. Pappenheimer JRE, Renkin M, Borrero LM. Filtration, diffusion and molecular sieving through peripheral capillary membranes: a contribution to the pore theory of capillary permeability. *Am J Physiol*, 1951 ; 167 : 13-46.
2. Shepro D, D'Amore PA. Physiology and biochemistry of the vascular wall endothelium. In : Renkin EM, Michel CC, eds. *Handbook of Physiology, The Cardiovascular System, Microcirculation Part 1*. Baltimore : The Williams and Wilkins Company, 1984 ; 103-64.
3. Scholander PF. The wonderful net. *Scientific American* 1957 ; 196 : 96-107.
4. Carey FG. Fishes with warm bodies. *Scientific American* 1973 ; 228 : 36-44.
5. Rasio EA. Passage of glucose through the cell membrane of capillary endothelium. *Am J Physiol* 1975 ; 228 : 1103-7.
6. Rasio EA, Morrison AD. Glucose induced alterations of the metabolism of an isolated capillary preparation. *Diabetes* 1978 ; 27 : 108-13.
7. Bendayan M, Rasio EA. Hyperglycemia and microangiopathy in the eel. *Diabetes* 1981 ; 30 : 317-25.
8. Winegrad AL. Does a common mechanism induce the diverse complications of diabetes? *Diabetes* 1987 ; 36 : 396-6.
9. Steffes MW, Mauer SM. Toward a basic understanding of diabetic complications. *N Engl J Med* 1991 ; 325 : 883-4.
10. Greene DA, Lattimer SA, Sima AAF. Sorbitol, phosphoinositides, and sodium-potassium-ATPase in the pathogenesis of diabetic complications. *N Engl J Med* 1987 ; 316 : 599-606.

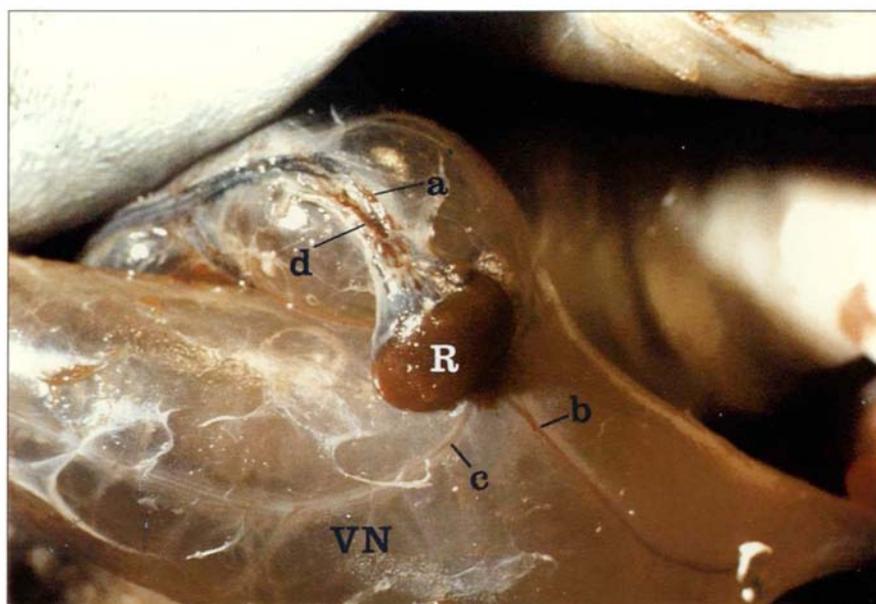


Figure 1. **Vue macroscopique d'un rete (R) avec ses connexions vasculaires à la surface de la vessie natatoire (VN).** a, artère afférente ; b, artère efférente ; c, veine afférente ; d, veine efférente.

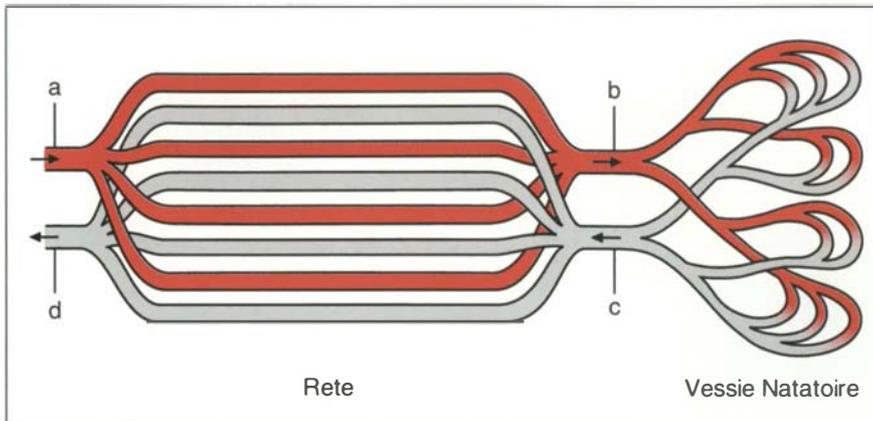


Figure 2. **Schéma de la vascularisation du rete.** a, artère afférente ; b, artère efférente ; c, veine afférente ; d, veine efférente. La perfusion à contre-courant se fait par les vaisseaux afférents.

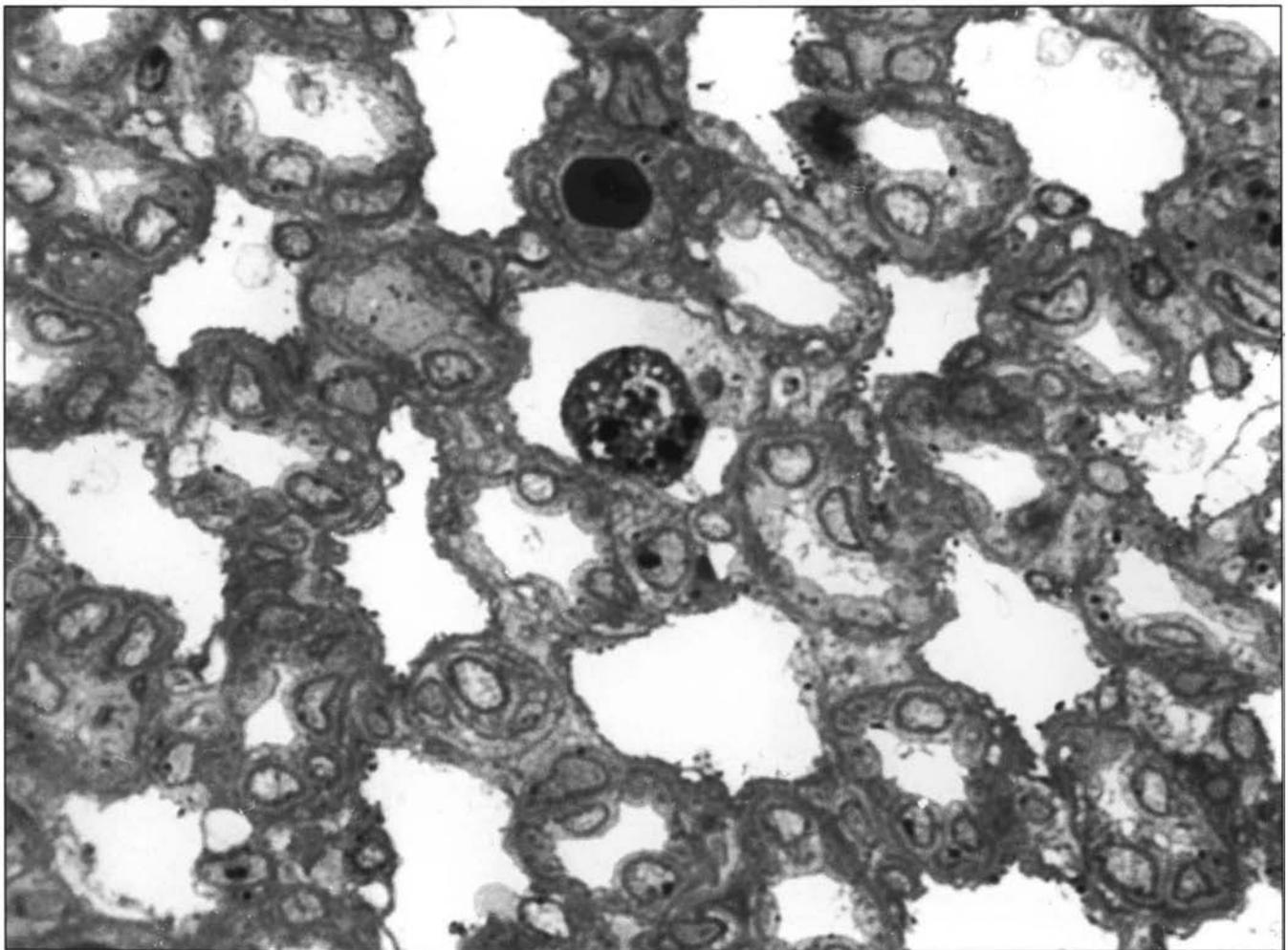


Figure 3. **Coupe transversale des capillaires sanguins du rete.** Vue en microscopie optique montrant la richesse en vaisseaux et leur contact étroit.  $\times 1\ 500$ .

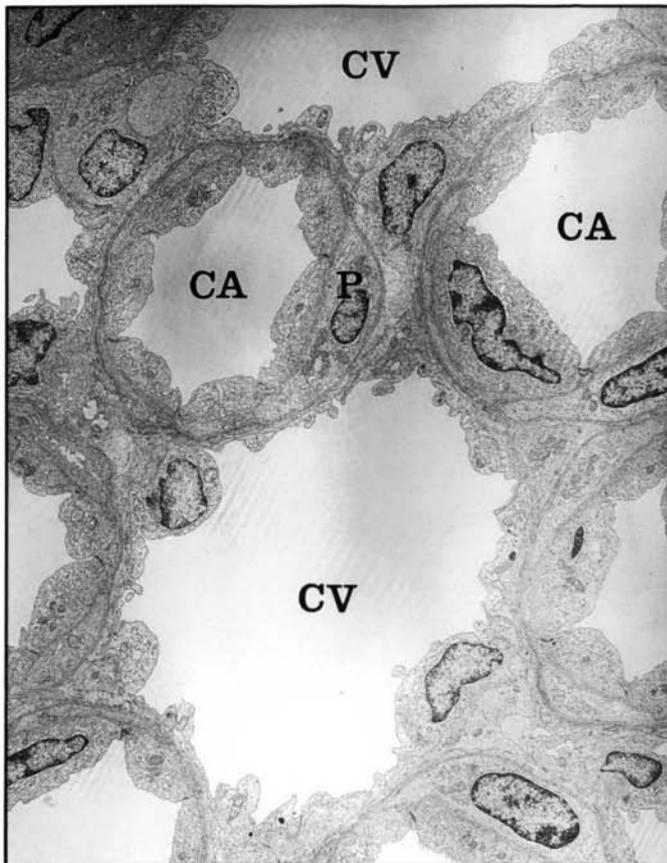


Figure 4. **Coupe transversale des capillaires sanguins du rete.** Vue en microscopie électronique par transmission. Les capillaires artériels (CA) alternent avec les capillaires veineux (CV) et leurs lumières ne sont séparées que par les cellules endothéliales de leurs parois respectives et, parfois, par des péricytes (P).  $\times 5\,000$ .

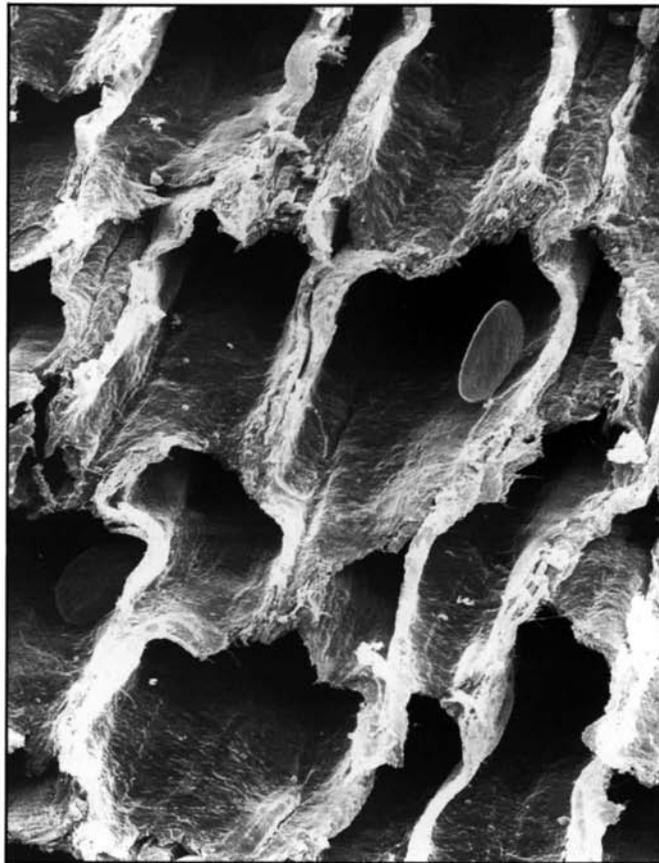


Figure 5. **Capillaires sanguins du rete vus en microscopie par balayage.** Les parois capillaires sont contiguës.  $\times 4\,000$ .

### Métabolisme des capillaires

Une fois séparés de leurs connexions vasculaires et nettoyés de leur contenu sanguin, les capillaires du *rete* peuvent être facilement isolés. On obtient ainsi une préparation pure de tissu microvasculaire, idéale pour des études biochimiques et métaboliques (figure 8). Lorsque les capillaires sont incubés *in vitro* dans des milieux nutritifs tamponnés, on observe que leur substrat énergétique préféré est le glucose : il est en grande partie converti en lactate pour dispenser environ deux tiers de l'énergie requise ; le reste du glucose est oxydé dans les mitochondries [5]. L'utilisation du glucose est directement proportionnelle à sa concentration dans le milieu ambiant et est indépendante de l'action de l'insuline. La voie du sorbitol [6] et la

glycosylation non enzymatique des membranes basales [7] dont la composition est qualitativement comparable à celle des capillaires de mammifères, sont particulièrement sensibles au taux de glucose extracellulaire. Dans le diabète, l'accumulation de sorbitol dans les cellules endothéliales [8] et la glycosylation de leurs membranes basales [9] pourraient altérer la perméabilité des cellules et expliquer la microangiopathie diabétique. A l'appui de cette théorie métabolique, on fait valoir les résultats de diverses études effectuées chez l'animal, et dans une moindre mesure chez l'homme, qui ont montré que l'administration d'agents inhibiteurs de l'aldose réductase [10, 11] ou de la glycosylation protéique [9] ont permis de prévenir, d'arrêter ou de retarder le développement de la microangiopathie.

### RÉFÉRENCES

11. Pedersen MM, Christiansen JS, Mogensen CE. Reduction of glomerular hyperfiltration in normoalbuminuric IDDM patients by 6 mo of aldose reductase inhibition. *Diabetes* 1991 ; 40 : 527-31.

12. Rasio EA, Bendayan M, Goresky CA. Diffusion permeability of an isolated *rete mirabile*. *Circ Res* 1977 ; 41 : 791-8.

## Perméabilité du rete

Grâce à son architecture remarquable, le *rete* peut être perfusé à contre-courant par l'intermédiaire des vaisseaux d'accès que l'on aura pris soin de cathétériser au préalable (figure 2). Le flux ainsi que la pression hydrostatique et osmotique du milieu de perfusion sont maintenus constants et identiques dans les deux sens. Si, par

l'entrée artérielle, on enrichit le milieu en traceurs, on peut, en analysant leur concentration aux sorties artérielle et veineuse à l'état d'équilibre, évaluer les échanges au travers des parois capillaires, de la lumière artérielle à la lumière veineuse [12]. Le système permet de mesurer le coefficient de perméabilité simultanément pour plusieurs substances (figure 9) sans avoir recours à des

approximations et à des conjectures, comme c'est le cas pour les expériences avec des perfusions d'organes. Avec le *rete*, nous avons constaté plusieurs faits d'intérêt physiologique. Ainsi, l'étroitesse des jonctions intercapillaires n'empêche pas la circulation relativement élevée des molécules de grande taille, comme l'albumine et les globulines ; les méthodes cytochimiques en microscopie électro-

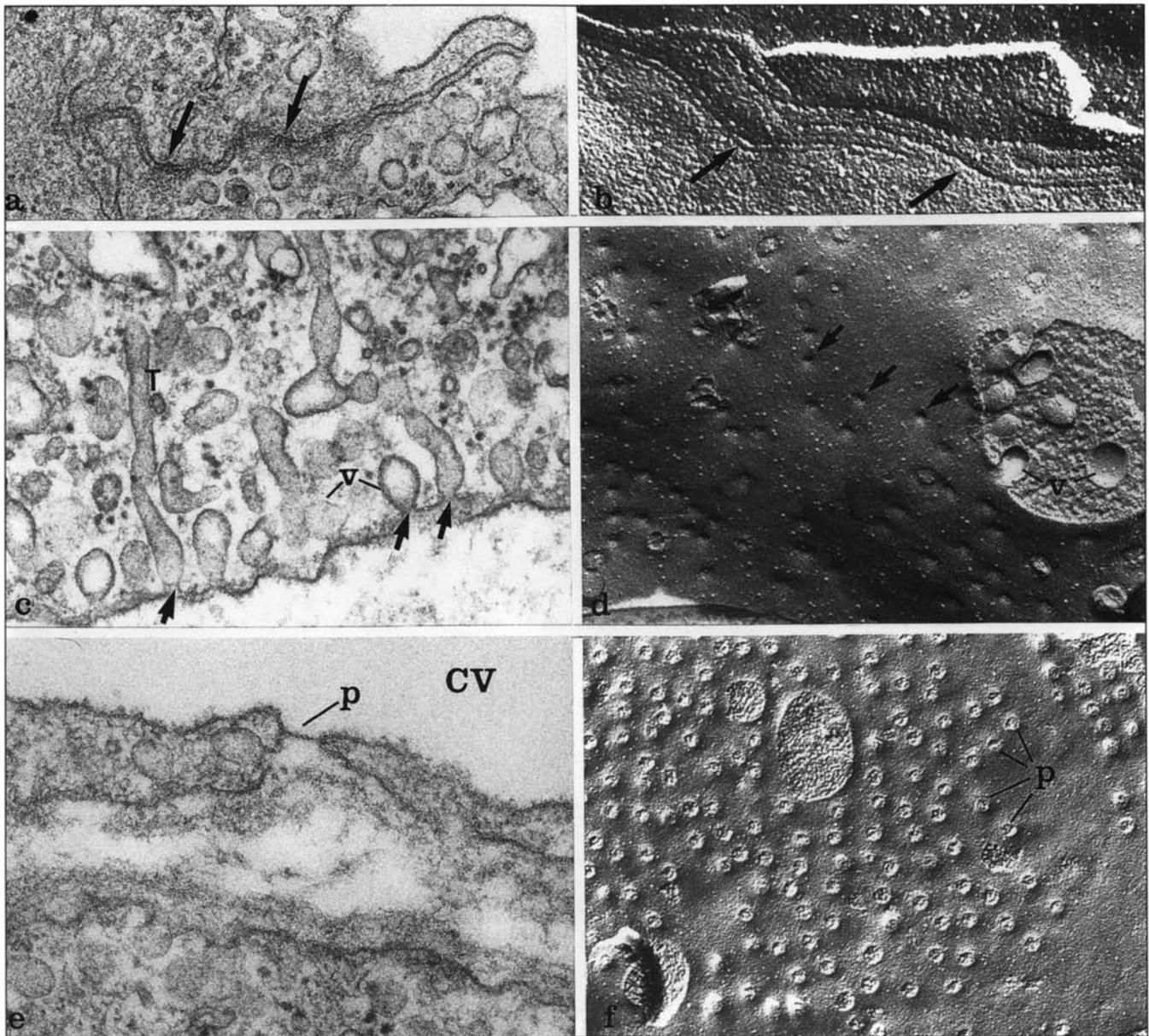


Figure 6. **Caractéristiques des capillaires du rete examinées en microscopie électronique par transmission (figures 6a, c et e) et sur réplique par cryodécapage (figures 6b, d et f).** Jonctions intercellulaires (figures 6a et b) montrant leur caractéristique serrée (flèches). Ouvertures (flèches) du système tubulo-vésiculaire (figures 6c et d). Pores (p) au niveau de l'endothélium veineux obstrué par un diaphragme (figures 6e et f). T, tubules ; v, vésicules ; CV, capillaire veineux. 6a  $\times$  30 000 ; 6c  $\times$  45 000 ; 6e  $\times$  55 000 ; 6b  $\times$  20 000 ; 6d  $\times$  10 000 ; 6f  $\times$  10 000.

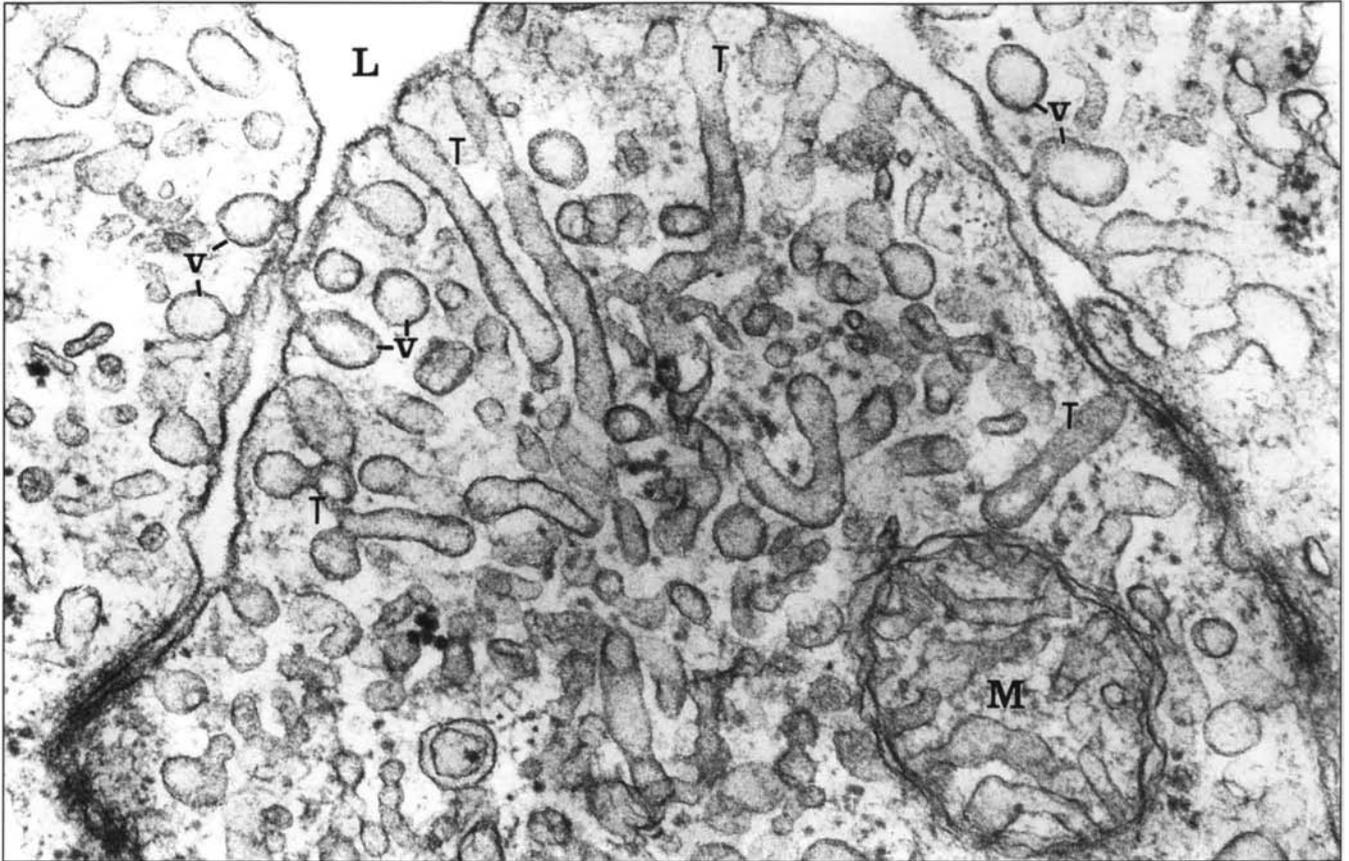


Figure 7. **Cellules endothéliales d'un capillaire artériel montrant le développement important du système tubulo-vésiculaire.** L, lumière capillaire ; T, tubules ; v, vésicules ; M, mitochondrie.  $\times 70\ 000$ .

## RÉFÉRENCES

13. Bendayan M. Use of the protein A-gold technique for the morphological study of vascular permeability. *J Histochem Cytochem* 1980 ; 28 : 1251-4.
14. Rasio EA, Goresky CA. Capillary limitation of oxygen distribution in the isolated *rete mirabile* of the eel (*Anguilla anguilla*). *Circ Res* 1979 ; 44 : 498-503.
15. Rasio EA, Goresky CA. Passage of ions and dextran molecules across the *rete mirabile* of the eel. *Circ Res* 1985 ; 56 : 74-83.



Figure 8. **Capillaires du rete isolés, nettoyés de leur contenu sanguin et prêts pour l'étude biochimique.**

nique à l'aide des sondes immunologiques à l'or colloïdal [13], nous ont permis de découvrir le trajet qu'empruntent les protéines sériques pour traverser les parois vasculaires. Les protéines en transfert se retrouvent dans les vésicules et les tubules membranaires des cellules endothéliales. Ces résultats indiquent que le passage s'effectue par un mécanisme transcellulaire, *via* le système tubulo-vésiculaire, plutôt qu'intercellulaire, par les jonctions (*figure 10*). Connaître les mécanismes de passage des protéines du sang vers le compartiment interstitiel est d'une grande importance ; en effet, ils contrôlent en partie l'homéostasie des compartiments hydriques.

D'autres substances pénètrent plus rapidement dans l'organisme parce qu'elles utilisent la surface endothéliale tout entière. Tel est le cas de l'eau et des substances dont le coefficient de répartition entre l'huile et l'eau est élevé. Cette propriété justement confère à l'oxygène sa très grande facilité de diffusion. Nous avons montré malgré tout que son transport est limité par la paroi capillaire [14]. En d'autres termes, lorsqu'on crée un gradient de pression partielle d'oxygène entre capillaires artériels et veineux du *rete*, le gradient s'amenuise considérablement mais ne s'annule pas. Ainsi, contrairement à ce que l'on présume habituellement, l'oxygène du sang n'a pas nécessairement un accès immédiat et total aux parenchymes tissulaires. Dans le cas de l'antipyrine, sa solubilité dans les lipides rend son passage transcapillaire beaucoup plus rapide que ne le laisserait prévoir sa taille moléculaire. Ce phénomène est bien connu en physiologie métabolique et en clinique : il explique, par exemple, la disparition rapide du compartiment vasculaire de substrats énergétiques ou de médicaments liposolubles.

Le passage transcapillaire de substances hydrosolubles inertes comme l'inuline, le sucrose, l'urée, est compatible avec les phénomènes de diffusion simple qui ont lieu à travers les jonctions intercellulaires (*figure 9*) [12]. Il en est de même pour les ions, encore que leur charge, négative ou positive, freine leur diffusion (*figure 9*). Tout se passe comme si les

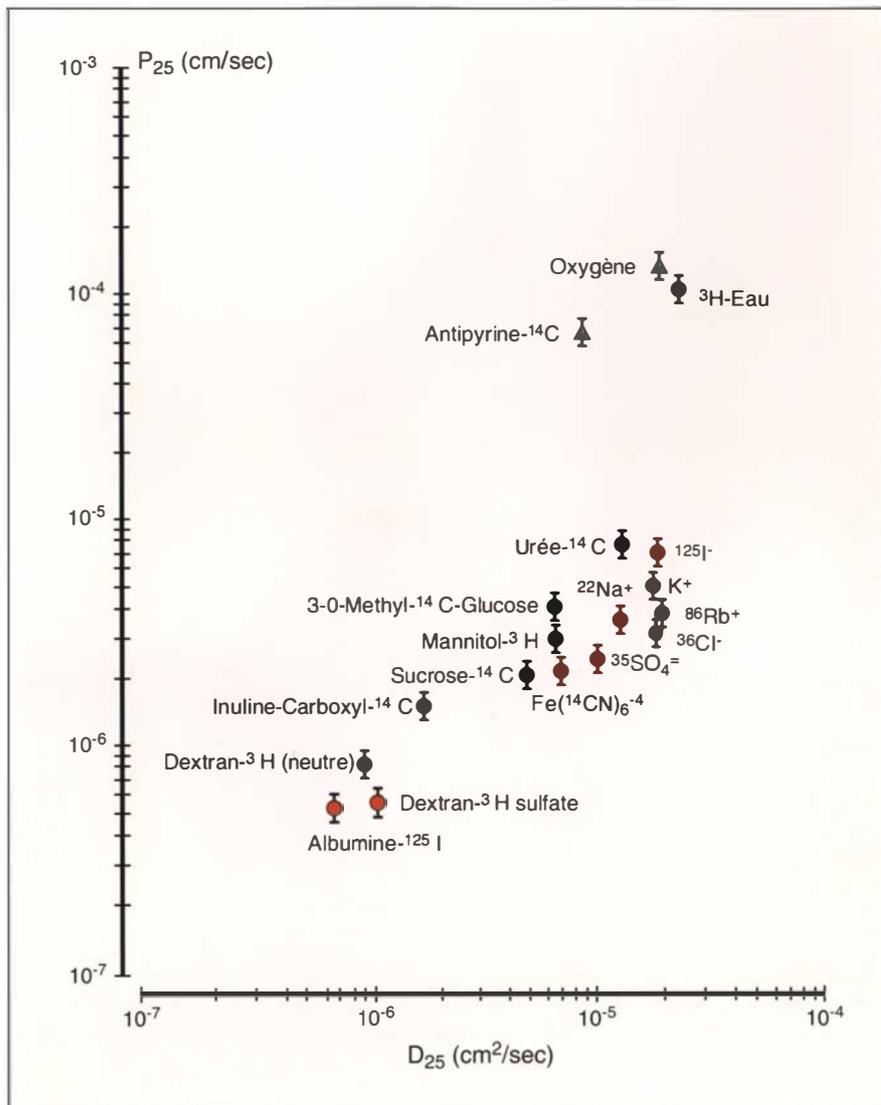


Figure 9. **Relation entre les coefficients de diffusion (D) et les coefficients de perméabilité (P) de diverses substances étudiées dans le rete isolé et perfusé à 25 °C.**

- molécules hydrosolubles sans charge électrique. A l'exception de l'eau, il existe une relation linéaire entre D et P, pour les substances dont le poids moléculaire est compris entre celui du dextran neutre et celui de l'urée.
- o substances hydrosolubles avec charges électriques. P est plus faible que pour les substances sans charge et avec une valeur de D comparable.
- $\Delta$  Substances liposolubles. P est plus élevé que ne laisse prévoir la relation entre D et P pour les substances hydrosolubles.

voies de passage pour les anions et pour les cations dans les capillaires du *rete* étaient formées d'une trame dotée de propriétés électrostatiques [15]. On sait que chez les mammifères, diverses barrières endothéliales microvasculaires, comme celle du glomérule rénal, de l'intestin, du poumon, sont chargées positivement

ou négativement et modifient le transport de substances elles-mêmes chargées. L'intérêt de cette observation revêt une valeur clinique importante : dans certaines néphropathies expérimentales et dans la néphropathie diabétique, on a établi un lien de cause à effet entre la perte de charges négatives du glomérule et sa per-

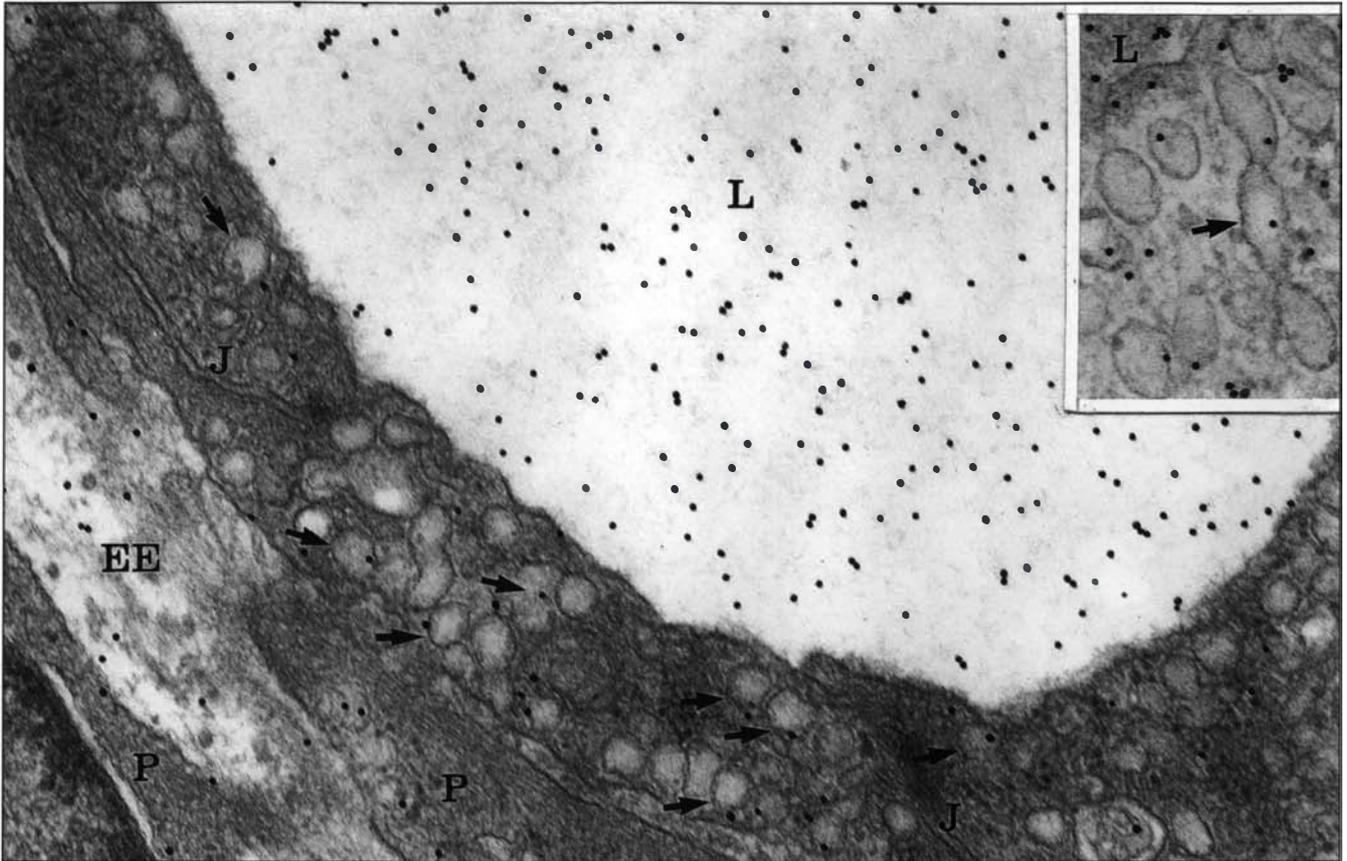


Figure 10. **Étude de la perméabilité à l'albumine.** Les capillaires ont été perfusés durant 30 min. avec une solution contenant 4 g/dl d'albumine bovine. Le tissu a été préparé pour la cytochimie en microscopie électronique. L'albumine bovine a été révélée sur coupes fines du tissu par l'emploi d'un anticorps anti-albumine et du complexe protéine A-or colloïdal. Les particules d'or indiquant les sites antigéniques de l'albumine se retrouvent au niveau de la lumière capillaire (L), dans les cellules endothéliales et dans l'espace extracellulaire (EE). Dans les cellules endothéliales, la majorité des particules d'or sont associées au système tubulo-vésiculaire (flèches). Par contre, les jonctions intercellulaires (J) sont dépourvues de marquage. P, pericytes.  $\times 50\ 000$ .

## RÉFÉRENCES

16. Shimomura H, Spiro RG. Studies on macromolecular components of human glomerular basement membrane and alterations in diabetes. *Diabetes* 1987 ; 36 : 374-81.
17. Rasio EA. The capillary barrier to circulating insulin. *Diabetes Care* 1982 ; 5 : 158-61.
18. Simionescu M, Simionescu N. Ultrastructure of the microvascular wall : functional correlations. In : Renkin EM, Michel CC, eds. *Handbook of Physiology, The Microvascular System, Microcirculation Part 1*. Baltimore : The Williams and Wilkins Company, 1984 ; 41-101.
19. Rasio EA, Bendayan M, Goresky CA. The effect of hyperosmolality on the permeability and structure of the capillaries of the isolated *rete mirabile* of the eel. *Circ Res* 1981 ; 49 : 661-76.

méabilité accrue à l'anion albumine qui se manifeste par la protéinurie [16].

En général, on peut dire que la double barrière du *rete* est serrée : à titre de comparaison, le coefficient de perméabilité à l'eau du *rete* est du même ordre de grandeur que celui de la barrière hémocéphalique chez l'homme. Des barrières capillaires relativement étanches imposent des gradients de concentration transcapillaire qui peuvent limiter l'accès aux tissus de diverses substances véhiculées par le sang. Par exemple, la concentration d'insuline qui baigne le liquide interstitiel du muscle et du tissu adipeux, ne représente qu'une fraction de celle du sang car l'endothélium continu des capillaires demeure relativement imperméable [17]. La situation est très diffé-

rente dans le foie où les sinusoides, percés d'orifices, créent un équilibre de concentrations immédiat entre le sang et les hépatocytes. Ainsi, autant à l'état de jeûne qu'après un repas, les organes insulino-sensibles sont exposés à des concentrations d'insuline dont le décours et l'ampleur diffèrent beaucoup. Il est impossible de reproduire cette hétérogénéité chez le sujet diabétique, pas plus par des injections sous-cutanées d'insuline que par une greffe conventionnelle du pancréas.

### Effets d'agents physico-chimiques sur la perméabilité

Selon leur taille, leur charge ou leur solubilité dans les lipides, les substances véhiculées dans le sang passent

dans les tissus interstitiels en traversant l'endothélium par des voies exclusives ou partagées. Les voies sont multiples : jonctions intercellulaires, système vésiculaire, cytoplasme, canaux membranaires transendothéliaux [18]. Dans nos expériences, nous nous sommes servis de divers agents physico-chimiques pour découvrir dans quelle mesure ils pouvaient modifier la perméabilité capillaire à l'égard de plusieurs substances de référence simultanément testées et pour déceler de la sorte des effets spécifiques ou généraux propres aux voies de passage transcapillaire (Tableau I). Ainsi, l'accroissement de l'osmolalité du milieu de perfusion a pour effet d'augmenter de deux à trois fois la perméabilité capillaire à l'égard de l'albumine, du sucrose et l'urée et de réduire simultanément d'un tiers la perméabilité à l'eau [19]. Il en résulte que la relation entre les coefficients de diffusion et les coefficients de perméabilité pour ces substances tend à devenir linéaire. Parallèlement, on observe une déshydratation des cellules endothéliales, une augmentation de la densité du système tubulo-vésiculaire intracytoplasmique, et de l'œdème interstitiel. Des lésions morphologiques et fonctionnelles de ce type ont été décrites dans d'autres systèmes capillaires étanches, comme ceux du cerveau. Dans la mesure où il serait possible de produire ces altérations de manière réversible, on pourrait tirer profit de l'hyperosmolalité pour donner accès au cerveau à des médicaments habituellement arrêtés par la barrière hémocéphalique.

Les variations de température révèlent aussi la diversité des ripostes des voies de transport transcapillaire du *rete* [20]. L'augmentation brusque de température rend le *rete* plus perméable au sucrose et au sodium de façon irréversible. Par contre, lorsque le changement s'opère par paliers, la perméabilité varie d'une façon plus discrète et réversible. La diminution de température réduit la perméabilité à l'eau et à l'antipyrine sans modifier la perméabilité au sucrose et au sodium. La perméabilité à l'albumine augmente quel que soit le sens de la variation brusque de température ; il est intéressant de constater que le refroidissement, tout en diminuant

théoriquement la diffusion passive, augmente, au contraire, la perméabilité à l'albumine. En général, les effets thermiques peuvent se produire sans altérations morphologiques concomitantes décelables. Ces observations prouvent l'hétérogénéité des voies de transport transcapillaire et de leur contrôle.

Lorsqu'on réduit le métabolisme énergétique du tissu capillaire, en utilisant l'hypoxie, divers poisons de la glycolyse et de l'oxydation mitochondriale ainsi qu'un milieu de perfusion sans glucose, il est possible de créer

les dommages provoqués par le phénomène de stase-reperfusion en utilisant chez l'homme et chez l'animal des substances qui contrecarrent la production de radicaux libres d'oxygène ou qui en neutralisent la présence [23]. Ces radicaux libres d'oxygène peroxydent les lipides membranaires et modifient vraisemblablement de manière défavorable l'équilibre entre les agents de protection et les agents d'altération de la barrière endothéliale. On pense que les premiers sont constitués par le système de l'AMP cyclique et les seconds par

| Tableau I                                                     |              |         |     |
|---------------------------------------------------------------|--------------|---------|-----|
| EFFETS D'AGENTS PHYSICO-CHIMIQUES SUR LA PERMÉABILITÉ DU RETE |              |         |     |
| Agent                                                         | Perméabilité |         |     |
|                                                               | Albumine     | Sucrose | Eau |
| Hyperosmolalité                                               | ↑            | ↑       | ↓   |
| Hyperthermie                                                  | ↑            | ↑       | ↑   |
| Hypothermie                                                   | ↑            | ↔       | ↓   |
| Hypoxie                                                       | ↑            | ↑       | ↔   |
| Hypoxie-reperfusion                                           | ↑            | ↑       | ↔   |
| Hypoxie-reperfusion + Phalloïdine                             | ↔            | ↔       | ↔   |
| Hyperglycémie chronique                                       | ↑            | ↑       | ↑   |

des lésions cellulaires dégénératives membranaires et mitochondriales et d'augmenter d'une manière non sélective la perméabilité de la barrière capillaire du *rete* [21]. La stase hypoxique, suivie de reperfusion avec une solution enrichie en oxygène et en glucose, amplifie progressivement le phénomène d'accroissement de perméabilité capillaire. On ignore encore la nature des modifications biochimiques et physiologiques entraînant des altérations de la perméabilité pendant le rétablissement de la circulation dans les zones ischémiques. Ce problème est important pour la compréhension et le traitement de maladies graves, comme l'infarctus du myocarde et l'embolie pulmonaire. La production de radicaux libres toxiques au cours de la réoxygénation du tissu pourrait être la cause des lésions capillaires observées au cours de la reperfusion d'organes préalablement ischémiques [22]. Effectivement, on a pu prévenir ou corriger avec succès

le système des phosphatidyl inositols membranaires et le système du calcium intracellulaire [24]. Les deuxièmes messagers interviennent dans les cellules endothéliales microvasculaires en général et dans les capillaires du *rete* en particulier. On peut ainsi, dans certaines conditions expérimentales, obtenir des effets de protection capillaire en augmentant la concentration d'AMP cyclique intraendothéliale. Récemment, des expériences effectuées sur des cellules endothéliales en culture, ont révélé que les filaments d'actine du cytosquelette pouvaient intervenir dans la régulation de la perméabilité capillaire en modifiant la forme et la contractilité des cellules endothéliales et des péricytes [25, 26]. Ainsi, avons-nous repris, en utilisant le *rete*, les expériences de stase ischémique suivie de reperfusion et avons-nous observé que la phalloïdine, un agent stabilisateur des filaments d'actine, réduisait de manière spectaculaire les lésions morphologi-

ques et fonctionnelles des capillaires [27]. En résumé, pour protéger l'intégrité fonctionnelle de la barrière capillaire, on peut intervenir des trois

manières suivantes : en réduisant la production et l'accumulation dans le milieu ambiant de substances toxiques, en stimulant la cascade de

## RÉFÉRENCES

20. Rasio EA, Bendayan M, Goresky CA. Effect of temperature change on the permeability of *cel rete capillaries*. *Circ Res* 1992 ; 70 : 272-84.
21. Rasio EA, Bendayan M, Goresky CA. Effect of reduced energy metabolism and reperfusion on the permeability and morphology of the capillaries of an isolated *rete mirabile*. *Circ Res* 1989 ; 64 : 243-254.
22. Slater TF. Free-radical mechanisms in tissue injury. *Biochem J* 1984 ; 222 : 1-15.
23. Suttrop N, Tæpfer W, Roka L. Antioxidant defense mechanisms of endothelial cells : glutathion redox cycle versus catalase. *Am J Physiol* 1986 ; 251 (Cell Physiol 20) : C671-C680.
24. Crone C. Modulation of solute permeability in microvascular endothelium. *Fed Proc* 1986 ; 45 : 77-83.
25. Shasby DM, Shasby SS, Sullivan JM, Peach MJ. Role of endothelial cell cytoskeleton in control of endothelial permeability. *Circ Res* 1982 ; 51 : 657-61.
26. Alexander JS, Hechtman HB, Shepro D. Phalloidin enhances endothelial barrier function and reduces inflammatory permeability *in vitro*. *Microvasc Res* 1988 ; 35 : 308-15.
27. Rasio EA, Bendayan M, Goresky CA, Alexander JS, Shepro D. Effect of phalloidin on structure and permeability of *rete capillaries* in the normal and hypoxic state. *Circ Res* 1989 ; 65 : 591-9.

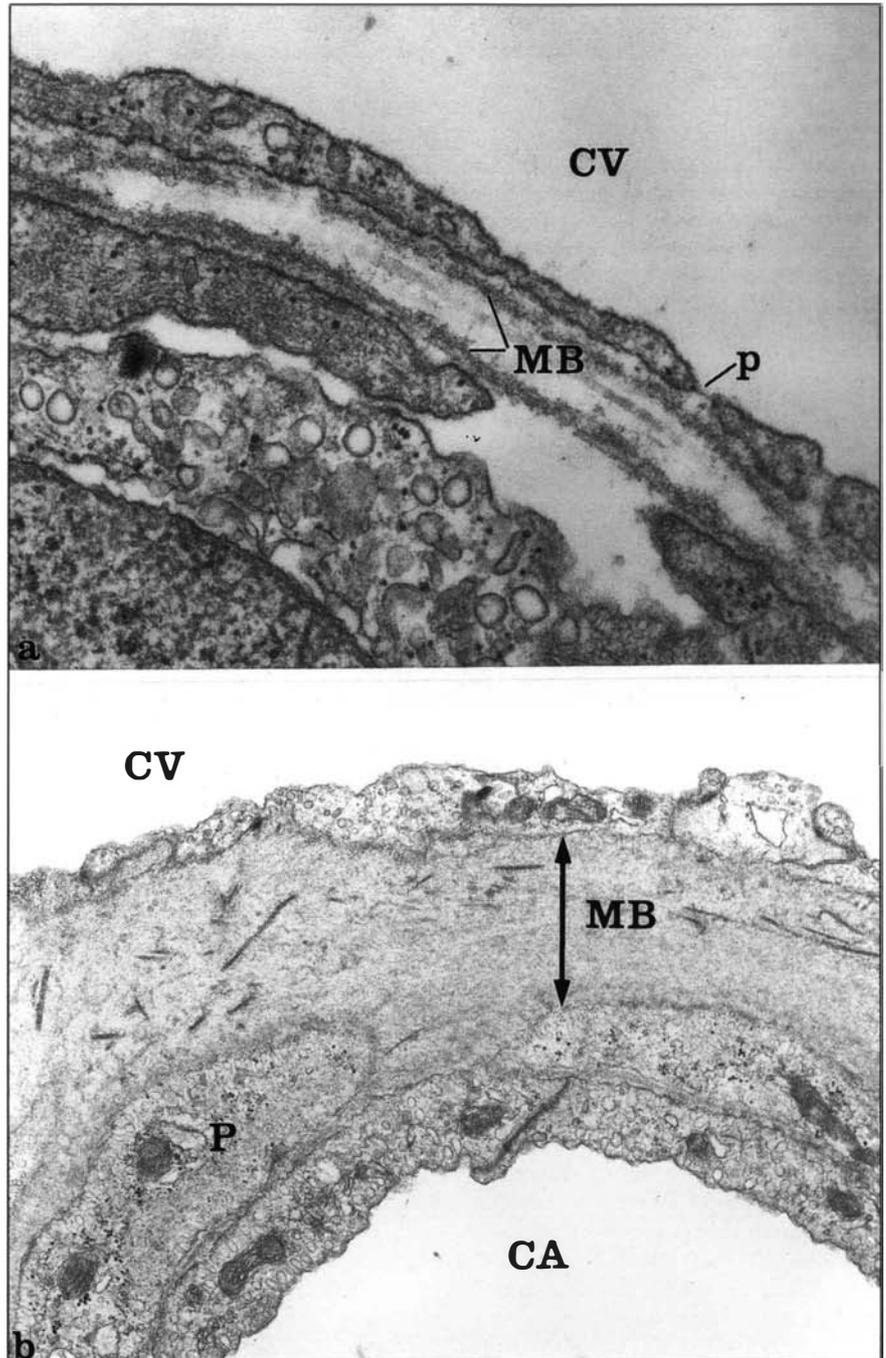


Figure 11. **Parois vasculaires de capillaires provenant d'une anguille normoglycémique (11a) et d'une anguille hyperglycémique (11b).** Chez l'anguille normoglycémique, les membranes basales (MB) apparaissent sous forme de deux couches minces composées de fibrilles collagéniques. Chez l'anguille hyperglycémique, les membranes basales (MB) s'épaississent, fusionnent et remplissent entièrement l'espace intercapillaire élargi. CA, capillaire artériel ; CV, capillaire veineux ; P, péricytes ; p, pore endothélial. 11a  $\times$  35 000 ; 11b  $\times$  10 000.

l'AMP cyclique et en freinant l'activation des dérivés du métabolisme des phosphosinositides membranaires, et enfin en prévenant des changements de structure dans le cytosquelette et les protéines d'adhérence des cellules endothéliales.

### **Microangiopathie de l'anguille hyperglycémique**

Le *rete* se prête autant à l'étude de l'action aiguë d'agents perturbateurs qu'à l'examen de leurs effets chroniques. Ainsi, nous a-t-il été possible d'explorer les effets de l'hyperglycémie chronique sur la structure et sur la perméabilité de l'endothélium microvasculaire [7]. Il nous a été relativement facile de réaliser cette opération ; en effet, l'adaptation de l'anguille d'eau douce à l'eau froide provoque chez cette espèce un syndrome métabolique caractérisé par une élévation des concentrations plasmatiques de glucose, d'acides aminés et d'acides gras libres et une diminution des taux d'insuline circulante. Lorsque l'anguille est maintenue dans des bassins où la température de l'eau est progressivement diminuée de 15-20 °C à 3-8 °C, sa glycémie s'élève : elle passe de 5 mM/l environ à l'état basal à des valeurs moyennes de l'ordre de 30 mM/l. L'hyperglycémie, stable dans chaque anguille, peut être maintenue aussi longtemps que l'on veut en prolongeant son exposition au froid pendant des périodes variables, pouvant s'étendre jusqu'à 12 mois. L'élévation de la glycémie constitue, avec la synthèse de peptides antigels, un mécanisme de défense contre la formation de cristaux de glace dans les tissus. Lorsqu'on augmente ensuite la température de l'eau de façon à revenir aux valeurs initiales de 15-20 °C, l'hyperglycémie s'estompe. L'adaptation au froid de l'anguille permet ainsi d'étudier les effets de l'hyperglycémie chronique sur les capillaires sanguins, sans qu'il soit nécessaire d'avoir recours à l'injection d'agents  $\beta$ -cytotoxiques ou à la pancréatectomie. De plus, en prélevant le *rete* à des temps variables de refroidissement ou de réchauffement de l'anguille, il est possible d'étudier l'apparition, la progression et la régression éventuelle

de lésions capillaires associées à l'hyperglycémie. Nous avons ainsi établi qu'après être demeurée cinq mois dans l'eau froide, l'anguille hyperglycémique présente un *rete* ayant des altérations de structure et de perméabilité comparables à celles observées et décrites au cours de la microangiopathie diabétique. Les membranes basales des capillaires artériels et veineux sont en moyenne trois fois plus épaisses que celles de capillaires du *rete* d'anguilles normoglycémiques (figure 11) ; leur composition est différente pour la plupart des acides aminés constitutifs. La perméabilité à l'albumine, à l'urée et à l'eau, est significativement plus élevée dans le *rete* d'anguilles hyperglycémiques que dans celui d'anguilles normoglycémiques. Il serait intéressant de reconnaître les manifestations précoces de la microangiopathie diabétique. Pour y parvenir, nous recherchons actuellement, en utilisant le modèle du *rete* de l'anguille hyperglycémique, si certaines voies de passage sont plus précocement atteintes que d'autres et dans quelle mesure des altérations spécifiques éventuelles peuvent être corrigées avec des agents thérapeutiques. En conclusion, il est possible, en passant par l'étude d'un réseau capillaire spécialisé des téléostéens, de tirer des informations utiles et d'accroître les connaissances sur la physiologie du tissu microvasculaire et sur la pathogénie de certaines affections cliniques ■

## **Summary**

### **The *rete mirabile* of the eel a unique model for the study of microvascular permeability**

The *rete mirabile* of the eel swim-bladder is a countercurrent perfused microvascular organ made of alternating arterial and venous capillaries which function as gas exchangers in order to maintain fish buoyancy.

The organ offers the unique opportunity to allow for the simultaneous study of its morphology, biochemistry and function and for the reliable measurements of capillary permeability to substances with a wide range of molecular weights. The ultrastructure of the capillaries is similar to that of mammalian capillaries. Large quantities of capillaries can be isolated and incubated *in vitro* : their energy metabolism is glucose dependent and insulin insensitive. The sorbital pathway and basal lamina non-enzymatic glycosylation are very responsive to the ambient glucose concentration. The permeability of the *rete* capillaries to tracers varying in size, charge, and lipid solubility reveals different paths of transport which can be independently influenced by physico-chemical agents, such as temperature, osmolality and hypoxia. Chronic hyperglycemia, induced in the eel by cold adaptation, results in a microangiopathy of the *rete* capillaries characterized by basal lamina thickening and increased permeability. The model could prove useful for the study of the mechanisms responsible for the progression and eventual regression of the diabetic microangiopathy.

## **TIRÉS A PART**

Eugenio A. Rasio.