

Effet de quelques anesthésiques sur le flux sanguin de la muqueuse gastrique, chez le Rat

Les recherches effectuées sur la sécrétion gastrique du Rat sont réalisées très souvent chez des animaux anesthésiés et il est probable que ce traitement indispensable à l'expérimentation perturbe les résultats; un certain nombre d'auteurs ont d'ailleurs étudié l'influence des anesthésiques sur les fonctions gastriques et c'est ainsi qu'il est admis que l'éther, anesthésique le plus largement utilisé lors de la préparation des estomacs de SHAY¹ ne modifierait que très peu la sécrétion². Par ailleurs, le pentobarbital sodique ou nembutal est également très employé dans les études sécrétoires; il semble ne pas altérer la sécrétion acide³ mais il augmente la concentration de pepsine dans le suc sans modifier la teneur en pepsinogène de la muqueuse⁴. En ce qui concerne le carbamate d'éthyle ou uréthane BENNET et HOGGIN⁵ ont montré que cet agent anesthésique n'altère pas l'effet de la gastrine dans les perfusions gastriques⁶ mais KOMAROV et BRALOW⁷ d'une part, BORELLA et HEER⁸ d'autre part ont indiqué qu'il peut réduire la sécrétion basale du rat porteur de fistules chroniques; cependant BARRETT et al.⁹ ont observé en perfusant l'estomac de rat que l'uréthane est un des anesthésiques qui déprime le moins la sécrétion gastrique.

L'étude des effets des anesthésiques sur le flux sanguin de la muqueuse gastrique (FSMG) n'a été, quant à elle, que peu abordée; chez le Chien MEREDITH et KHAN¹⁰ ont montré qu'il n'y a aucune différence d'irrigation sanguine de l'estomac entre des animaux non anesthésiés et ceux anesthésiés au nembutal; par contre, chez le Rat, WILKEN et al.¹¹ ont noté que le nembutal diminue le flux sanguin de la muqueuse antrale.

A la suite de ces travaux, nous avons donc pensé qu'il serait intéressant de mesurer le FSMG chez le rat anesthésié de différentes façons; dans ce but, nous avons choisi 3 anesthésiques généraux parmi ceux couramment utilisés dans les études de physiologie ou de pharmacologie digestive, à savoir l'éther, le nembutal et l'uréthane; en outre, corrélativement à ces mesures, nous avons jugé utile d'estimer les différents paramètres de la sécrétion gastrique.

Techniques. 19 rats mâles Wistar, d'un poids moyen de 225 g ont été utilisés et mis au jeûne 19 h avant l'expérimentation. 7 animaux ont été anesthésiés à l'éther, 6 ont reçu par voie i.p. le nembutal en solution à 6%, à la dose de 0,1 ml de cette solution, par 100 g de poids corporel; l'uréthane a été administré chez 6 animaux, également par voie i.p., en solution à 25% à la dose de 0,70 ml de cette solution par 100 g de poids corporel; ces quantités de nembutal et d'uréthane assurent une bonne anesthésie pendant les 2 h que dure l'expérience; quant aux animaux anesthésiés à l'éther, on les laisse se réveiller entre chaque

manipulation (pose des canules artério-veineuses, ligature pylorique, recueil du suc gastrique).

Le FSMG a été estimé dans les conditions décrites précédemment¹² par la mesure de la clearance de l'aminopyrine¹³ sur des estomacs préparés selon la méthode de SHAY et al.¹. Nous avons en outre examiné le volume de la sécrétion, l'acidité libre, l'acidité totale du suc et nous avons dosé l'activité protéolytique selon la méthode de WEST et al.¹⁴ adapté à nos conditions expérimentales^{15, 16}. Les résultats ont été comparés par la méthode de l'analyse de variance¹⁷.

Résultats. Nous avons observé (Tableau I) que le volume et l'acidité totale du suc gastrique ne sont pas statistiquement modifiés selon l'anesthésique utilisé; en effet le volume du suc varie de $0,42 \pm 0,03$ ml à $0,49 \pm 0,05$ ml ($F = 0,35$) et l'acidité totale de $71,05 \pm 6,06$ mEq/l à $87,11 \pm 10,85$ mEq/l ($F = 0,90$). Par contre, l'analyse de variance en ce qui concerne les résultats de l'acidité libre, de l'activité protéolytique et du FSMG indiquent des différences significatives ($F > 3,55$) qui nous ont amenés à établir les comparaisons intergroupes (Tableau II). C'est ainsi que l'on peut considérer que l'acidité libre est diminuée lors de l'anesthésie à l'uréthane où l'on trouve $24,81 \pm 3,19$ mEq/l alors qu'après l'anesthésie à l'éther par exemple, on note $35,49 \pm 2,12$ mEq/l ($F = 10,56$;

¹ H. SHAY, S. A. KOMAROV, S. FELS, D. MERANZE, M. GRÜNSTEIN et H. SIPLET, *Gastroenterology* 5, 43 (1945).

² Y. H. LEE et J. M. THOMPSON, *Am. J. Physiol.* 213, 1331 (1967).

³ M. H. F. FRIEDMAN, *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 54, 42 (1943).

⁴ R. G. ITURRIZO, B. MARIN et J. TAMARIT, *An. Inst. Farmac. esp.* 17-18, 413 (1970).

⁵ A. BENNETT et B. M. HOGGIN, *J. Physiol., Lond.* 198, 91 P (1968).

⁶ K. S. LAI, *Gut* 5, 327 (1964).

⁷ S. A. KOMAROV et S. P. BRALOW, *Physiologist* 3, 96 (1960).

⁸ L. E. BORELLA et F. HEER, *Gastroenterology* 67, 345 (1971).

⁹ A. M. BARRETT, J. RAVENTOS et R. A. SIDALL, *Br. J. Pharmac. Chemother.* 28, 51 (1966).

¹⁰ J. H. MEREDITH et J. KHAN, *Am. Surg.* 33, 969 (1967).

¹¹ B. J. WILKEN, M. D. TURNER, D. G. HUNT et J. D. HARDY, *Surg. Forum* 19, 284 (1968).

¹² O. ÖZTÜRKCAN, G. DE SAINT BLANQUAT et R. DERACHE, *J. Physiol., Paris* 64, 355 (1972).

¹³ E. D. JACOBSON, R. H. LINFORD et M. I. GROSSMAN, *J. clin. Invest.* 45, 1 (1966).

¹⁴ P. M. WEST, F. W. ELLIS et B. L. SCOTT, *J. Lab. clin. Med.* 39, 159 (1952).

¹⁵ P. R. BATESON, *J. Pharm. Pharmac.* 10, 123 (1958).

¹⁶ G. DE SAINT BLANQUAT, Thèse de Sciences, Toulouse (1971), p. 249.

¹⁷ D. SCHWARTZ, *Méthodes statistiques à l'usage des médecins et des biologistes* (Editions médicales Flammarion, Paris 1963), p. 296.

Tableau I. Effet de 3 anesthésiques généraux (éther, nembutal, uréthane) sur le flux sanguin de la muqueuse gastrique (FSMG) chez le Rat (moyennes et erreurs moyennes)

| No. de rats | Anesthésiques éther 7 | nembutal 6 | uréthane 6 | F | P |
|---|-----------------------------|-------------------|-------------------|-------|--------|
| Suc gastrique | | | | | |
| volume (ml) | $0,42 \pm 0,03$ | $0,49 \pm 0,05$ | $0,46 \pm 0,10$ | 0,36 | N.S. |
| acidité libre (mEq/l) | $35,49 \pm 2,12$ | $29,23 \pm 1,45$ | $24,81 \pm 3,19$ | 5,38 | < 0,05 |
| acidité totale (mEq/l) | $87,11 \pm 10,85$ | $74,26 \pm 6,76$ | $71,05 \pm 6,06$ | 0,90 | N.S. |
| Activité protéolytique (mg pepsine t. 200/ml) | $10,51 \pm 0,33$ | $7,83 \pm 0,58$ | $9,82 \pm 0,88$ | 5,12 | < 0,05 |
| FSMG (ml/min) | $0,114 \pm 0$ | $0,185 \pm 0$ | $0,132 \pm 0$ | 28,33 | < 0,01 |
| FSMG (ml/mn/g tissu sec) | $0,498 \pm 0,033$ | $0,748 \pm 0,053$ | $0,529 \pm 0,040$ | 10,54 | < 0,01 |

$P < 0,01$). L'activité protéolytique, quant à elle, est plus forte lorsque l'éther est utilisé et elle est la plus faible après une anesthésie au nembutal où l'on ne trouve que $7,83 \pm 0,58$ mg de pepsine (titre 200, Codex) par ml de suc ($P < 0,05$).

En ce qui concerne le FSMG, on obtient des résultats comparatifs analogues selon que l'on rapporte les valeurs du flux seulement au temps, ou au temps et au poids sec de l'organe; il apparaît de toute façon des différences significatives ($P < 0,01$) entre l'anesthésie au nembutal d'une part et celle à l'éther ou à l'uréthane d'autre part; plus précisément le FSMG est statistiquement le plus élevé au cours de l'anesthésie au nembutal, où il atteint $0,185$ ml/min et $0,748 \pm 0,053$ ml/min/g de tissu sec, alors que les valeurs obtenues avec l'éther et l'uréthane sont plus faibles et respectivement de $0,114$ et $0,132$ ml/mn.

Discussion. Les résultats permettent donc de comparer l'effet de l'éther, du nembutal et de l'uréthane sur quelques paramètres de la fonction gastrique. L'éther qui d'après LEE et THOMPSON² ne perturbe pas la sécrétion gastrique, ne semble pas augmenter le FSMG dans nos conditions, bien que chez l'Homme il augmente la circulation sanguine cutanée¹⁸ et accroît le rythme et le débit cardiaque¹⁹. Par contre, l'uréthane dont l'action sur les sécrétions biliaires et pancréatiques a été étudiée²⁰ altère de manière significative l'évacuation gastrique²¹ mais les effets sur la sécrétion et le FSMG dans nos conditions se rapprochent de ceux obtenus au cours d'une anesthésie à l'éther.

Tableau II. Comparaison inter-groupes (valeur du F) des effets des 3 anesthésiques généraux (éther, nembutal, uréthane) sur le flux sanguin de la muqueuse gastrique (FSMG) chez le Rat

| Anesthésiques comparés | Ether et nembutal | Ether et uréthane | Nembutal et uréthane |
|------------------------------|---------------------|---------------------|----------------------|
| Acidité libre | 3,62 N.S. | 10,56 $P < 0,01$ | 1,68 N.S. |
| Activité protéolytique | 9,73 $P < 0,01$ | 0,66 N.S. | 4,96 $P < 0,05$ |
| FSMG (ml/mn) | 54,67 $P < 0,01$ | 3,67 N.S. | 28,67 $P < 0,01$ |
| FSMG (ml/min/g de tissu sec) | 18,45 $P < 0,01$ | 0,28 N.S. | 13,09 $P < 0,01$ |

Les valeurs numériques représentent la valeur du F calculée selon la méthode de SCHWARTZ¹⁷; les différences sont considérées significatives pour $P < 0,05$; le terme N.S. signifie $P > 0,05$ (non significatif).

Le nembutal augmente le FSMG, tout au moins par rapport aux deux autres anesthésiques utilisés; cependant il faut souligner le fait que nos conditions expérimentales ne permettent pas de préciser si le nembutal exalte effectivement le FSMG ou si au contraire l'éther et l'uréthane le diminuent, le nembutal ne modifiant alors pas les valeurs que l'on trouverait chez le Rat non anesthésié; l'une de ces deux éventualités ne peut pas être a priori écartée bien qu'ERICSSON²² ait montré chez le Chien que le nembutal diminue légèrement le débit cardiaque sans modifier le débit sanguin artériel hépatique.

Cependant, compte tenu des résultats obtenus avec l'éther et l'uréthane, il nous semble que le nembutal soit un anesthésique de choix pour l'étude des fonctions gastriques en rapport avec la circulation chez le Rat.

Enfin, il est intéressant de constater qu'au cours de cette expérimentation, nous n'observons pas de corrélations entre le FSMG et l'un des paramètres de la sécrétion gastrique, mais ces corrélations, si elles sont fréquentes²³, ne sont malgré tout pas générales²⁴.

Summary. Effects of ether, nembutal or urethane anaesthesia on gastric secretion and mucosal blood flow (MBF) are studied in the Rat; these 3 anaesthetics alter neither volume nor total acidity of juice, but free acidity and proteolytic activity are more importance after ether anaesthesia; MBF is highest in nembutal anaesthetized rats; therefore nembutal is the best anaesthetic for studies of digestive physiology or pharmacology.

O. ÖZTÜRKCAN, G. DE SAINT BLANQUAT et R. DERACHE

Groupe de recherches sur la Toxicologie des Aliments et des Boissons INSERM (U 87), Institut de Physiologie, 84, Grande Rue St-Michel F-31 Toulouse (France), 15 Janvier 1973.

¹⁸ E. I. EGER, N. T. SMITH, D. J. CULLEN, B. F. CULLEN et G. A. GREGORY, *Anesthesiology* 34, 25 (1971).

¹⁹ G. A. GREGORY, E. I. EGER, N. T. SMITH, B. F. CULLEN et D. J. CULLEN, *Anesthesiology* 34, 19 (1971).

²⁰ C. DEBRAY, J. DE LATOUR, C. VAILLE, C. ROZE et M. SOUCHARD, *J. Physiol.*, Paris 54, 459 (1962).

²¹ C. ROZE, J. CHARIOT et C. DEBRAY, *Compt. r. Soc. Biol.* 164, 1955 (1970).

²² B. F. ERICSSON, *Acta chim. scand.* 137, 613 (1971).

²³ E. D. JACOBSSON, *Proc. Soc. Biol. Med.* 133, 516 (1970).

²⁴ J. CHACIN-MELEAN et J. COLINA-CHOURIO, *Acta cient venez.* 22, 88 (1971).

Formation of 4-Ketocyclophosphamide by the Oxidation of Cyclophosphamide with KMnO_4

Investigations into the metabolism of cyclophosphamide (I) have included attempts to mimic the metabolic processes by purely chemical means^{1,2}. In one such study, NORPOTH et al.³ reported on the production, in the presence of acidic KMnO_4 , of one of the known in vivo metabolites of cyclophosphamide, namely 2-carboxyethyl N,N-bis(2-chloroethyl)phosphorodiamidate (II). The KMnO_4 -mediated formation, from cyclophosphamide, of two additional in vivo metabolites, 2-[bis(2-chloroethyl)amino]tetrahydro-2H-1,3,2-oxazaphosphorin-4-one-2-oxide (4-ketocyclophosphamide, III) and 2-[(2-chloroethyl)amino]tetrahydro-2H-1,3,2-oxazaphosphorine 2-oxide (the N-monodechloroethylated analogue, IV) is now reported.

Methods. Radioactively-labelled [^{32}P]cyclophosphamide, of initial specific activity 2.3 mCi/mmol (Radiochemical Centre, Amersham) was appropriately diluted, before use, with non-labelled cyclophosphamide.

For the oxidation reactions, a solution of [^{32}P] cyclophosphamide (5 mg) and KMnO_4 (10 mg) in the appro-

¹ R. A. ALARCON and J. MEIENHOFER, *Nature New Biol.* 223, 250 (1971).

² C. BENCKHUIJSEN, J. VAN DER STEEN and G. VESTRA, Report VII, Int. Chemother. Congr. Praha, August 1971.

³ K. NORPOTH, J. KNIPPSCHILD, U. WITTING and H. M. RAUEN, *Experientia* 28, 536 (1972).