

### III. L'activité antilithiasique

#### III.1. Généralités sur la lithiase urinaire

La lithiase urinaire est une pathologie fréquente affectant entre 4 et 18% de la population mondiale [1].

C'est une maladie qui touche les pays développés ainsi que ceux en voie de développement tel la Turquie, l'Inde et le Vietnam. Elle consiste en la présence d'un ou de plusieurs calculs dans les voies excrétrices urinaires (les cavités rénales, les uretères, vessie et l'urètre) et dont le rein gauche est plus souvent concerné que celui du côté droit [2].

#### III.2. Définition de la lithiase urinaire

Le terme lithiase urinaire désigne la maladie caractérisée par la formation d'un calcul dans les reins ou dans les voies urinaires [3].

- ✓ Lithiase :vient du grec lithos → pierre.
- ✓ Calcul :vient du latin calculus → cailloux.

#### III.3. Type des lithiases urinaires

##### III.3.1. Les lithiases minérales

- ✓ La lithiase oxalo calcique est devenue la forme la plus fréquente de lithiase urinaire. Présent dans plus de 80% des calculs sous forme mono-(whewellite) et/ou dihydratée (weddellite), l'oxalate de calcium est le constituant majoritaire d'environ 50% des calculs chez la femme et de 75% chez l'homme [4].
- ✓ Les phosphates de calcium ont une couleur jaune ou brune, elles sont généralement dures de taille variable, peuvent être coralliformes. Elles sont visibles à la radiographie où elles se disposent en couches concentriques lamellaires[5].
- ✓ Les lithiases composées de phosphate ammoniaco magnésien (struvite) et de carbapatite, appelés calculs « triple phosphates », sont les lithiases d'infection les plus fréquentes [3].

### III.3.2. Les lithiases organiques

- ✓ La lithiase urique ne représente que 10% des calculs urinaires dans les pays industrialisés. Elle peut favoriser la survenue d'une lithiase calcique [6].
- ✓ Les Lithiases cystiniques sont rares, presque toujours pures, elles sont lisses ; jaune claire d'apparence cireuse, elles sont multiples ou coralliformes bilatérales et faiblement d'aspect homogène[5].

On résume les types et les causes des **lithiases urinaires** dans le tableau suivant [3].

**Tableau III.1** : les types et les causes des lithiases urinaires[3].

Type de calculs	Les causes
Whewellite, Weddellite	Hyperoxalurie, Hypercalciurie
Acide urique	Hyperuricurie + acide urine
Urate d'ammonium	Hyperuricurie + alcaline urine (diarrhée, germe uréasique, etc.)
Carbapatite	Infection à germe non uréasique, Hypercalciurie, hyperparathyroïdie, Acidose tubulaire.
Carbapatite ± Struvite	Infection à germe uréasique
Struvite	Hypercalciurie, hyperparathyroïdie,
Brushite	diabète phosphaté.
Cystine	Cystinurie

### III.4. La cristallisation oxalo-calcique

La formation d'une lithiase est possible lorsque la concentration des sels lithogènes dépasse leurs solubilités, ce qui entraînera la formation de cristaux. Si ces cristaux demeurent suffisamment petits, ils seront excrétés de façon normale et n'auront pas de conséquence clinique. Dans le cas contraire, la croissance et l'agrégation des cristaux entraîneront la formation des lithiases [2].

### **III.5. Les étapes de la formation des calculs**

La formation des calculs comporte 4 étapes [7].

- ✓ La sursaturation en une ou plusieurs substances cristallines.
- ✓ Le passage de l'état soluble à l'état solide ou germination cristalline.
- ✓ La croissance de cristaux formés.
- ✓ Leur agrégation, qui engendre des particules supérieures à 100 microns

#### **III.5.1. La sursaturation urinaire**

La sursaturation se définit comme étant la concentration maximale d'un ou de plusieurs solutés au-delà de laquelle toute nouvelle fraction de la substance ajoutée reste insoluble.

Dans des conditions physicochimiques définies (température, pression, pH, ...), une substance peut être dissoute dans un solvant, jusqu'à une certaine concentration qui représente le produit de solubilité ( $k_{ps}$ ) de cette substance dans le solvant ; Lorsque la concentration de la substance égale son produit de solubilité, on dit que la solution est saturée vis-à-vis de cette substance ; Lorsque la concentration de la substance excède son produit de solubilité, la solution est sursaturée vis-à-vis de cette substance et des cristaux de celle-ci peuvent en principe se former [8].

#### **III.5.2. La germination ou la nucléation cristalline**

Lorsque le niveau de sursaturation est suffisant, les molécules dissoutes se rassemblent pour constituer des germes cristallins, premier stade des particules solides conduisant à la formation de calculs [7].

#### **III.5.3. La croissance cristalline**

Cette étape assure la transformation des germes cristallins initiaux engendrés par une sursaturation élevée des urines, mesurant quelques centaines d'angströms en cristaux de plusieurs microns ou dizaines de microns [9].

### III.5.4.L'agrégation cristalline

L'agrégation cristalline, contrairement à la croissance, est un processus rapide mettant en jeu des phénomènes d'attraction électrostatique en fonction de la charge superficielle des cristaux, de ce fait, des particules volumineuses sont engendrées dans un délai très court [8]

## III.6 Les inhibiteurs

Les inhibiteurs sont définis comme des molécules qui diminuant le taux de la nucléation, de la croissance de cristaux et de l'agrégation [10].

Il y a un équilibre entre promoteurs et inhibiteurs de cristallisation. Les ions, participant à la formation des espèces insolubles, sont appelés promoteurs de cristallisation : l'oxalate, calcium, phosphate, ammonium, urate, sodium, cystine, dihydroxy-2-8 adénine et xanthine. On peut les classer en deux groupes selon leur poids moléculaire (micro et macromoléculaire) et en quatre groupes suivant leur effet sur la cristallisation. Certains produits peuvent exercer simultanément plusieurs actions à des degrés divers [2].

## III.7. Types des inhibiteurs

### III.7.1. Les inhibiteurs de germination cristalline

- ✓ Le magnésium par compétition avec le calcium, il forme avec l'oxalate des complexes solubles. Il en résulte une diminution de la sursaturation urinaire en oxalate de calcium. Le magnésium réduit le nombre de cristaux oxalo-calcique à raison de 50% dans une solution sursaturée (de concentration  $2 \text{ mmol. L}^{-1}$ ) d'oxalate de calcium [10].
- ✓ Le citrate est l'un des principaux inhibiteurs de la cristallisation de l'oxalate et/ou phosphate de calcium. Il forme un complexe avec les ions de calcium, et capable de former avec les ions de phosphate un ion complexe phosphocitrate qui possède une activité inhibitrice vis-à-vis des cristaux de phosphate de calcium [11].
- ✓ Les sulfates sont décrits comme ayant un effet préventif contre la cristallisation. Le tableau 08 résume les inhibiteurs de la germination cristalline.

**Tableau III.2** : les inhibiteurs de la germination cristalline [2].

Inhibiteurs	Effet sur la formation des cristaux	
	Phosphate de calcium	Oxalate de calcium
<b>Zinc</b>	+	+
<b>Magnésium</b>	+	+
<b>Aluminium</b>	+ + +	+
<b>Citrate</b>	+ +	+ + +
<b>Isocitrate</b>	+ +	+
<b>Fluorure</b>	+	ND
<b>Pyrophosphate</b>	+ + +	+
<b>Macromolécule</b>		+ +

**Note** :+ :inhibition modérée,++ :inhibition marquée,+++ :forte inhibition

### III.7.2. Les inhibiteurs de croissance cristalline

- ✓ Le citrate et pyrophosphates qui sont de bons exemples d'inhibition de la croissance cristalline [2].
- ✓ Les inhibiteurs macromoléculaires tels les glycos aminoglycanes, muco protéines et muco polysaccharides qui interviennent directement au niveau des sites de croissances cristallines, selon un mécanisme d'absorption réversible et sont susceptibles d'interférer ainsi avec le processus lithogène[2,7].
- ✓ Les oligo-éléments qui se comportent surtout comme des inhibiteurs de croissance vis-à-vis des cristaux phosphocalciques tels le zinc (puissant inhibiteur), le fer, le plomb, le manganèse, le cadmium, le cobalt et le chrome ou encore le béryllium qui sont efficaces à de très faibles concentrations. Le tableau 09 résume les inhibiteurs de la croissance cristalline[2].

**Tableau III.3** : les inhibiteurs de croissance cristalline [2].

Inhibiteurs	Effet sur la formation des cristaux	
	Phosphate de calcium	Oxalate de calcium
Magnésium	+	+
Citrate	+	±
Citrate-Al (III)	+++	-
Citrate-Fe (III)	++	+
Citrate-Cr (III)	+	-
Citrate	++	ND
Phosphocitrate	+++	++
Fluorure	+	ND
Pyrophosphate	++	±
glycosaminoglycans	++	++

Note :+ :inhibition modérée,++ :inhibition marquée,+++ :forte inhibition

### III.7.3. Les inhibiteurs d'agrégation cristalline

Parmi les inhibiteurs d'agrégation cristalline, on distingue les citrates, les pyrophosphates qui perturbent les phénomènes d'attraction électrique entre les ions en bloquant les sites de croissance [15] ; Le tableauIII.4 : résume les inhibiteurs d'agrégation cristalline.

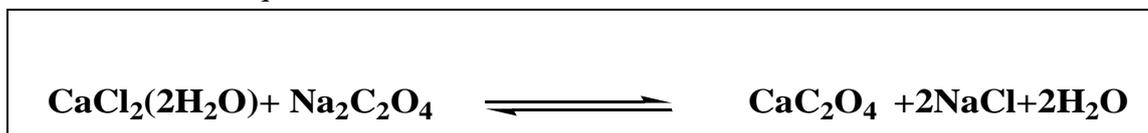
**Tableau III.4** : les inhibiteurs d'agrégation cristalline[2].

Inhibiteurs	Effet sur la formation des cristaux	
	Phosphate de calcium	Oxalate de calcium
Magnésium	+	+++
Pyrophosphate	+	++
glycosaminoglycans	+	ND

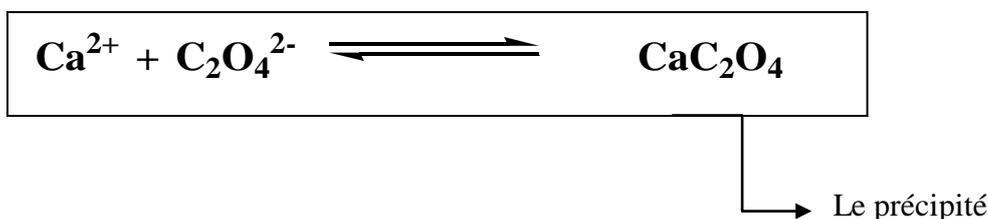
### III.8. Rappels sur l'oxalate de calcium

Pour l'oxalate de calcium  $\text{CaC}_2\text{O}_4$  la saturation  $S$  est donnée par le rapport entre le produit des activités et le produit de solubilité. Pour l'obtention d'un composé: l'oxalate de calcium on mélange  $V_1 \text{ cm}^3$  d'une solution de chlorure de calcium à la concentration  $C_1$  avec  $V_2 \text{ cm}^3$  d'une solution d'oxalate de sodium à la concentration  $C_2$  [12].

Suivant la réaction qui suit:



Un composé  $\text{CaC}_2\text{O}_4$  peu soluble



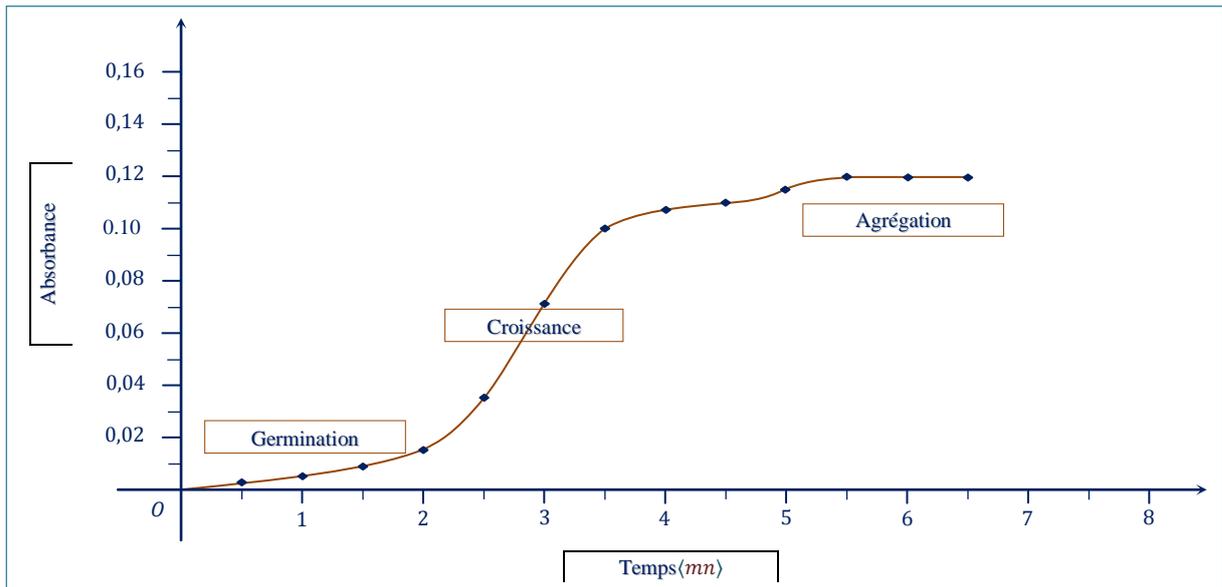
### III.9. Etude de la cristallisation avec et sans inhibiteurs

Il existe plusieurs méthodes pour étudier la cristallisation in vitro tels que : la méthode turbidimétrique[9].

Cette méthode, basée sur l'analyse cinétique, utilise la densité optique transmise d'une suspension dont on veut connaître la variation de l'absorbance en fonction de temps [13].

### III.10. L'allure générale des courbes turbidimétriques

L'allure générale des courbes obtenues par la turbidimétrie est représentée dans la **fig.III.1**



**FigIII.1 : L'allure générale des courbes turbidimétriques.**

La courbe peut être divisée en trois parties :

- ✓ 1<sup>ère</sup> partie : correspond à l'étape de germination.
- ✓ 2<sup>ème</sup> partie : correspond à l'étape de croissance cristalline, caractérisée par la pente turbidimétrique.
- ✓ 3<sup>ème</sup> partie : correspond à l'étape d'agrégation cristalline.

### III.10.1. Les facteurs pris en considération dans ce modèle

Les facteurs les plus considérés dans ce modèle sont [1].

- ✓ La concentration des substances à étudier.
- ✓ La vitesse avec laquelle on ajoute le réactif.
- ✓ L'agitation.
- ✓ La température.
- ✓ La présence de substances étrangères.

Et pour mieux suivre l'évolution de la cristallisation oxalo-calcique, nous avons été amenés à déterminer les paramètres suivants [14].

- ✓ La différence de l'absorbance : elle correspond à l'intervalle de temps compris entre ( $t = 0$ ), où la solution  $\langle \text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4 \rangle$  de est ajoutée à la solution  $\langle \text{CaCl}_2 \rangle$ , et ( $t$ ) relatif à la fin de la croissance et le début de l'agrégation.
- ✓ La pente turbidimétrique : c'est le plus important paramètre, qui reflète la phase de croissance cristalline, et qui varie avec la concentration des solutions.
- ✓ Le coefficient de variation  $\langle CV \rangle$  : qui présente une grande importance, puisqu'il estime la reproductibilité des expériences. Tous les  $\langle CV \rangle$  doivent être inférieurs à 10%.
- ✓ Le temps d'induction  $\langle Ti \rangle$  : c'est le temps écoulé entre l'addition de la solution d'oxalate et le début de la croissance (début de la pente). Le temps d'induction est nul pour la cristallisation sans inhibiteur et il est maximum à la plus forte concentration en inhibiteur.
- ✓ Le coefficient de régression  $\langle R^2 \rangle$  : c'est un coefficient de corrélation de la plage linéaire de courbe, et qui doit être supérieur ou égal à 0,96.

### III.11. Le pourcentage d'inhibition $\langle I \% \rangle$

Le pourcentage d'inhibition  $\langle I \% \rangle$  est calculé par la formule suivante [2,15].

$$I \% = \left( 1 - \frac{P_{AI}}{P_{SI}} \right) \times 100$$

Avec :

$I \%$  : pourcentage d'inhibition.

$P_{AI}$  : pente turbidimétrique avec inhibiteur.

$P_{SI}$  : pente turbidimétrique sans inhibiteur.