



**HAL**  
open science

# Apport de l'angioscopie conjonctivale quantitative dans l'évaluation de la microangiopathie diabétique

Pierre-Yves Benhamou

► **To cite this version:**

Pierre-Yves Benhamou. Apport de l'angioscopie conjonctivale quantitative dans l'évaluation de la microangiopathie diabétique. Médecine humaine et pathologie. 1988. dumas-01396144

**HAL Id: dumas-01396144**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01396144>**

Submitted on 14 Nov 2016

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



## AVERTISSEMENT

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

Il n'a pas été réévalué depuis la date de soutenance.

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

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

Contact au SID de Grenoble :  
[bump-theses@univ-grenoble-alpes.fr](mailto:bump-theses@univ-grenoble-alpes.fr)

## LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4  
Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

<http://www.cfcopies.com/juridique/droit-auteur>

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

2<sup>e</sup> exemplaire

UNIVERSITE SCIENTIFIQUE ET MEDICALE  
DE GRENOBLE  
MEDECINE & PHARMACIE

DOMAINE DE LA MERCI  
LA TRONCHE

ANNEE 1988

N° D' ORDRE :

5061

**APPORT DE L' ANGIOSCOPIE CONJONCTIVALE  
QUANTITATIVE  
DANS L' EVALUATION DE LA  
MICROANGIOPATHIE DIABETIQUE**

THESE

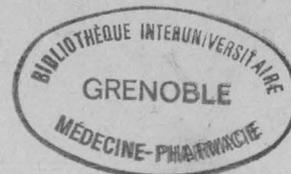
présentée à  
L' UNIVERSITE SCIENTIFIQUE ET MEDICALE DE GRENOBLE  
pour obtenir le grade de  
DOCTEUR EN MEDECINE  
DIPLOME D' ETAT

par

Monsieur Pierre-Yves BENHAMOU  
*[Données à caractère personnel]*

soutenue publiquement le 27 avril 1988  
devant

M. le Professeur	P. AMBLARD	Président du jury
MM. les Professeurs	I. BACHELOT	
	A. FRANCO	
	S. HALIMI	
M. le Docteur	P. CARPENTIER	



UNIVERSITE JOSEPH FOURIER  
**FACULTE DE MEDECINE DE GRENOBLE**  
 Domaine de la Merci 38700 LA TRONCHE

Doyen de la Faculté  
 Assesseurs du Doyen

M. le Professeur C. VROUSOS  
 M. le Professeur R. LATREILLE  
 M. le Professeur A. FRANCO  
 M. le Professeur M. COMET

**PROFESSEURS DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS**

**PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE ET 1ÈRE CLASSE**

MM. AMBLARD	Pierre	<i>Dermatologie</i>	MM. BOLLA	Michel	<i>Radiothérapie</i>
AMBROISE-THOMAS	Pierre	<i>Parasitologie</i>	BOST	Michel	<i>Pédiatrie</i>
BEAUDOING	André	<i>Fétiatrie</i>	BOUCHARLAT	Jacques	<i>Psychiatrie Adultes</i>
BEZES	Henri	<i>Chirurgie Orthopédique &amp; traumatologique</i>	BRAMBILLA	Christian	<i>Pneumologie</i>
BONNET	Jean-Louis	<i>Ophthalmologie</i>	CHIROSEL	Jean-Paul	<i>Anatomie</i>
BOUCHET	Yves	<i>Anatomie</i>	COMET	Michel	<i>Biophysique</i>
BUIEL	Jean	<i>Chirurgie Orthopédique &amp; traumatologique</i>	CONTAMIN	Charles	<i>Chirurgie Thoracique et cardiovasculaire</i>
CHAMBAZ	Edmond	<i>Biochimie</i>	CORDONNIER	Daniel	<i>Néphrologie</i>
CHAMPETIER	Jean	<i>Anatomie</i>	CROUZET	Guy	<i>Radiologie</i>
CHARACHON	Robert	<i>O.R.L.</i>	DEBRU	Jean-Luc	<i>Médecine Interne</i>
COLOMB	Maurice	<i>Immunologie</i>	DEMONGEOT	Jacques	<i>Biostatistiques &amp; Informatique Médicale</i>
COUDERC	Pierre	<i>Anatomie Pathologique</i>	DUPRE	Alain	<i>Chirurgie Générale</i>
COULOMB	Max	<i>Radiologie</i>	DYON	J. François	<i>Chirurgie Infantile</i>
DELORMAS	Pierre	<i>Pneumologie</i>	MHE ETERRADOSSI	Jacqueline	<i>Physiologie</i>
DENIS	Bernard	<i>Cardiologie et Maladies Vasculaires</i>	MM. FAURE	Claude	<i>Anatomie</i>
GAVEND	Michel	<i>Pharmacologie Fondamentale</i>	FAURE	Gilbert	<i>Urologie</i>
HOLLARD	Daniel	<i>Hématologie</i>	FOURNET	Jacques	<i>Hépatologie-Gastro-Entérologie</i>
LATREILLE	René	<i>Chirurgie thoracique et cardiovasculaire</i>	FRANCO	Alain	<i>Médecine Interne</i>
LE ROC	Pierre	<i>Bactériologie - Virologie</i>	GIRARDET	Pierre	<i>Anesthésiologie &amp; réanimation chirurgicale</i>
MALINAS	Yves	<i>Gynécologie et Obstétrique</i>	GUIDICELLI	Henri	<i>Chirurgie Vasculaire</i>
MALLION	Jean-Michel	<i>Médecine du Travail</i>	GUIGNIER	Michel	<i>Réanimation Médicale</i>
MICOU	Max	<i>Maladies Infectieuses</i>	HADJIAN	Arthur	<i>Biochimie</i>
MOURIQUAND	Claude	<i>Histologie-Embryologie-Cytogénétique</i>	NALINI	Serge	<i>Endocrinologie et maladies métaboliques</i>
PARAMELLE	Bernard	<i>Pneumologie</i>	HOSTEIN	Jean	<i>Hépatologie-Gastro-Entérologie</i>
PERRET	Jean	<i>Neurologie</i>	HUGONOT	Robert	<i>Médecine interne</i>
RACHAIL	Michel	<i>Hépatologie-Gastro-Entérologie</i>	JALBERT	Pierre	<i>Génétique</i>
DE ROUGEMONT	Jacques	<i>Neurochirurgie</i>	JUNIEN-LAVILLAURUY	Claude	<i>O.R.L.</i>
SARRAZIN	Roger	<i>Chirurgie Générale</i>	KOLODIE	Lucien	<i>Hématologie</i>
STIEGLITZ	Paul	<i>Anesthésiologie &amp; réanimation chirurgicale</i>	LETOUBLON	Christian	<i>Chirurgie Générale</i>
TANCHE	Maurice	<i>Physiologie</i>	MACHECOURT	Jacques	<i>Cardiologie et maladies Vasculaires</i>
VIGNAIS	Pierre	<i>Biochimie</i>	MAGNIN	Robert	<i>Epidémiologie, Economie de la santé &amp; Prévention</i>
VROUSOS	Constantin	<i>Radiothérapie</i>	MASSOT	Christian	<i>Médecine interne</i>
<b>PROFESSEURS 2ÈME CLASSE</b>			MOUILLOM	Michel	<i>Ophthalmologie</i>
MM. BACHELOT	Yvan	<i>Endocrinologie &amp; Maladies métaboliques</i>	PELLAT	Jacques	<i>Neurologie</i>
BARGE	Michel	<i>Neurochirurgie</i>	PHILIP	Xavier	<i>Rhumatologie</i>
BENABID	Alim, Louis	<i>Biophysique</i>	RACINET	Claude	<i>Gynécologie et Obstétrique</i>
BENSA	Jean-Claude	<i>Immunologie</i>	RANBAUD	Pierre	<i>Pédiatrie</i>
BERNARD	Pierre	<i>Gynécologie et Obstétrique</i>	RAPHAEL	Bernard	<i>Stomatologie et Chirurgie Maxillo-Faciale</i>
BESSARD	Germain	<i>Pharmacologie Fondamentale</i>	SCHAERER	René	<i>Cancérologie</i>
			SEIGNEURIN	Jean-Marie	<i>Bactériologie - Virologie</i>
			SELE	Bernard	<i>Biologie du Développement &amp; de la Reproduction</i>
			SOTTO	J. Jacques	<i>Hématologie</i>
			STOEBNER	Pierre	<i>Anatomie Pathologique</i>

*A notre Président de Thèse,*

Monsieur le Professeur P. AMBLARD,

Nous gardons un excellent souvenir des quelques mois passés dans votre service, où vous nous avez enseigné l'esprit d'une belle discipline.

Votre présence à la présidence de ce jury est pour nous un honneur.

*A nos Juges,*

Monsieur le Professeur I. BACHELOT,

Dès nos premières années hospitalières, vous nous avez transmis votre souci de rigueur, de méthode et de réflexion, votre sens du mot juste, bases essentielles dans l'exercice de la médecine qui nous ont guidé au long de nos années d'Internat.

Que ce travail soit l'occasion d'exprimer notre respect et notre profonde gratitude.

Monsieur le Professeur A. FRANCO,

Nous vous sommes profondément reconnaissant de la confiance que vous nous avez toujours portée dès le début de notre Internat et des nombreuses possibilités que vous nous avez offertes d'approfondir nos connaissances médicales.

Soyez assuré de notre sincère dévouement.

Monsieur le Professeur S. HALIMI,

Votre dynamisme, votre ouverture d'esprit et l'étendue de vos connaissances nous ont séduit. L'intérêt que vous avez manifesté pour le thème de ce travail illustre votre volonté quotidienne d'améliorer les soins portés aux diabétiques.

Qu'il me soit permis de vous remercier de votre soutien et de vos encouragements.

Monsieur le Docteur P. CARPENTIER,

Vous avez su nous communiquer votre enthousiasme dans l'étude de la microcirculation. Disponibilité, dévouement chaleureux et surtout compétence vous caractérisent.

Nous vous sommes reconnaissant de vos nombreux conseils et de votre participation active dans l'élaboration de ce travail.

Veillez trouver ici l'expression de notre gratitude et de notre amitié.

**A Monsieur le Professeur M. MOUILLON,**

**Nous le remercions de l'intérêt qu'il a porté à ce travail et d'avoir contribué à sa réalisation.**

**A Monsieur le Professeur D. CORDONNIER,**

**On connaît son enthousiasme pour l'étude de la microangiopathie diabétique. Nous tenons à l'associer à ce travail et à le remercier de la confiance qu'il nous témoigne.**

**A Madame le Docteur E. DECHELETTE,**

**Elle a chaleureusement guidé avec dynamisme et compétence nos premiers mois d'Internat. Nous lui exprimons ici nos sentiments reconnaissants.**

**A mon père,**

**A ma mère,**

**avec mon affection et ma gratitude.**

**A mon frère Eric,**

**A la mémoire de mamie et de ma grand-mère maternelle.**

A ma femme Corinne,

merci de ne pas avoir jeté l'ordinateur,

à ton tour maintenant!

tendrement.

A mes filles Yael et Anne, mon harmonieux *chidren's corner*,

*" avec les tendres excuses d'un père pour ce qui va suivre" avait dit celui-ci*

... et pour tout ce temps qui le précède et que j'ai pris sur vous

ce *doctor gradus* est bien trop ennuyeux.

**A mes beaux-parents, Marc et Esther,**

**pour leurs encouragements constants.**

**A Dany, Florent et Laura,**

**deux vous étiez quand ce travail a commencé**

**le voici terminé et trois vous revenez**

**quelle délivrance d'écrire enfin ces vers !**

**mais j'ajoute aussitôt : à quand le petit frère ?**

**A Jean et Hervé, ma jeunesse, et à leur fidélité**

**A ma famille**

**A ma belle-famille**

**A mes amis**

**A la mémoire de M.le Docteur Henri Krivine**

**A tous ceux qui m'ont aidé dans la réalisation de ce travail,**

**Christophe Bertrand,**

**Brigitte Delcroix,**

**Jacqueline Gauch,**

**Philippe Pallud,**

**Jérôme Peronnet,**

**et le personnel des services d'Endocrinologie, Ophtalmologie, Dermatologie et du Pavillon**

**Dominique Villars.**

**Je dédie ce travail à tous les patients qui ont bien voulu s'y prêter.**

**Ma seule récompense serait qu'il ne reste pas lettre morte pour eux.**

# SOMMAIRE

<b>INTRODUCTION.....</b>	<b>page</b>	<b>1</b>
<b>1ère PARTIE : PHYSIOPATHOLOGIE DE LA MICROANGIOPATHIE DIABETIQUE.....</b>		<b>2</b>
<b>I. HISTORIQUE.....</b>		<b>2</b>
<b>II. ASPECTS ANATOMOPATHOLOGIQUES.....</b>		<b>2</b>
<b>III. PHYSIOPATHOLOGIE.....</b>		<b>3</b>
<b>AVANT PROPOS.....</b>		<b>3</b>
<b>A. Les anomalies de la fonction microcirculatoire.....</b>		<b>4</b>
1. Augmentation des débits sanguins capillaires.....		4
2. Augmentation de la perméabilité capillaire.....		4
3. Les troubles de l'autorégulation du flux capillaire.....		8
4. En résumé.....		9
5. Remarques.....		10
<b>B. Les conséquences tissulaires des anomalies fonctionnelles de la microcirculation.....</b>		<b>10</b>
<b>C. Les anomalies élémentaires.....</b>		<b>12</b>
1. Les troubles de la membrane basale et du tissu conjonctif.....		12
2. Les troubles des fonctions cellulaires.....		12
3. Les troubles du métabolisme cellulaire.....		13
4. Les troubles hormonaux.....		15
5. Les troubles de l'hémostase.....		17
6. Les troubles du transport de l'oxygène.....		19
7. Les troubles hémorhéologiques.....		21
<b>IV. CONCLUSION.....</b>		<b>32</b>
<b>2ème PARTIE : ANGIOSCOPIE CONJONCTIVALE ET DIABETE.....</b>		<b>33</b>
<b>I. PRESENTATION GENERALE DE L'ANGIOSCOPIE CONJONCTIVALE.....</b>		<b>33</b>
A. Historique.....		33
B. Anatomie de la conjonctive bulbaire.....		33
C. Technique d'examen.....		34
D. Signification de l'examen.....		34
<b>II. SEMIOLOGIE CONJONCTIVALE AU COURS DU DIABETE.....</b>		<b>35</b>
A. Description des anomalies élémentaires.....		35
B. Facteurs de variation de l'angioscopie conjonctivale.....		38
C. Synthèse.....		41
D. Sémiologie conjonctivale au cours de l'HTA.....		41
<b>III. CORRELATIONS ENTRE MICROANGIOPATHIES CONJONCTIVALE,RETINIENNE ET RENALE.....</b>		<b>42</b>
A. Etudes comparatives.....		42
B. Sensibilité et spécificité de l'angioscopie conjonctivale.....		43
<b>IV. INTERET DE L'EVALUATION DE L'AGREGATION ERYTHROCYTAIRE IN VIVO.....</b>		<b>45</b>
A. Agrégation érythrocytaire in vivo et microangiopathie diabétique.....		45
B. Agrégation érythrocytaire in vivo et pathologie générale.....		47
<b>V. QUANTIFICATION DE L'ANGIOSCOPIE CONJONCTIVALE.....</b>		<b>48</b>
A. Quantification sous forme de score.....		48
B. Quantification morphométrique.....		49
1. La méthode morphométrique.....		49
2. Applications.....		50
3. Informatisation des mesures morphométriques.....		53
C. Autres perspectives.....		54

ILLUSTRATIONS.....	56
3ème PARTIE : PROTOCOLE ET RESULTATS.....	58
I. OBJECTIFS.....	58
II. MALADES ET METHODES.....	58
III. RESULTATS.....	64
IV. DISCUSSION.....	76
CONCLUSIONS.....	82
BIBLIOGRAPHIE.....	83
ANNEXES.....	94

## ABREVIATIONS

Alb : albuminémie

DID : diabète insulino-dépendant

Fg : fibrinogénémie

Hb : hémoglobinémie

HTA : hypertension artérielle

IFE : indice de filtration érythrocytaire

La,Lv,Lc,Ltot : densités vasculaires artériolaire,veinulaire,capillaire,totale,déterminées par morphométrie conjonctivale

MAD : microangiopathie diabétique

RBCA : agrégation érythrocytaire in vivo ("red blood cell aggregation")

TADN : tension artérielle diastolique nocturne

VS : vitesse de sédimentation

# INTRODUCTION

## INTRODUCTION

La microangiopathie diabétique représente en 1988 un problème de santé crucial pour ses conséquences fonctionnelles et vitales. L'augmentation régulière du nombre de diabétiques pris en hémodialyse en est l'illustration la plus dramatique. La prévention de cette affection est un objectif prioritaire de la diabétologie.

Les efforts constants des fundamentalistes, des biologistes et des cliniciens ont amené la mise au point d'un certain nombre de techniques d'investigation de la microcirculation, dans ses versants hémodynamiques, fonctionnels, morphologiques ou rhéologiques. Certaines sont d'utilisation d'ores et déjà routinière et ont rendu de grands services aux patients, d'autres s'imposent peu à peu ou sont en voie de standardisation.

L'angioscopie conjonctivale étant un outil d'exploration microcirculatoire couramment utilisé à Grenoble, il nous a paru naturel de chercher à l'évaluer dans l'étude de la microangiopathie diabétique, en particulier des modifications du contenant (altérations de la géométrie du réseau circulatoire) et du contenu (influence des troubles hémorhéologiques dans le développement de la microangiopathie). Tel est l'objectif de l'étude que nous rapportons ici.

Auparavant nous avons tenu à fixer les grandes lignes de la physiopathologie de la microangiopathie diabétique à travers une revue de la littérature qui peut paraître un objectif ambitieux pour qui connaît l'abondance des écrits dans ce domaine, et qui ne prétend aucunement être complète, l'accent étant mis sur les perturbations rhéologiques.

Nous avons de même insisté sur la présentation de l'angioscopie conjonctivale en raison du caractère encore confidentiel de cette méthode pourtant simple, prolongement de l'oeil du clinicien et source d'utiles informations.

PREMIERE PARTIE : PHYSIOPATHOLOGIE DE LA  
MICROANGIOPATHIE DIABETIQUE

## HISTORIQUE

Les complications rétinienne, rénale et neurologiques du diabète ont été décrites depuis le milieu du siècle dernier. La découverte de l'insuline en 1922, en permettant de prolonger la vie des jeunes diabétiques, a également augmenté l'incidence de ces complications. C'est en 1936 que Kimmelstiel et Wilson décrivent la glomérulosclérose nodulaire diabétique. Il faut attendre les années 1950 pour que le concept d'une angiopathie spécifique au diabète soit proposé par Lundbaek, ses trois constituants majeurs (rétinopathie, néphropathie, neuropathie) étant regroupés sous l'appellation de "triopathie". Le terme de microangiopathie diabétique est utilisé pour la première fois par Ditzel en 1955 pour désigner ces complications du diabète liées à l'atteinte des artérioles, capillaires et veinules. On peut remarquer que ce terme suggère une atteinte primitive de la paroi vasculaire, du contenant, dans la genèse des troubles, le rôle pathogène des désordres rhéologiques du sang, du contenu, étant une notion plus actuelle.

L'hémorhéologie, qui étudie le comportement du sang sous l'influence des contraintes appliquées et son écoulement au niveau de la macro- et surtout de la microcirculation, est en effet une discipline relativement nouvelle qui, mis à part les travaux de Fahraeus (1929) et ceux de Knisely (1947), se développe surtout depuis les années 1960. Les désordres rhéologiques sont particulièrement remarquables au cours du diabète et font l'objet de multiples travaux depuis une vingtaine d'années.

## ASPECTS ANATOMOPATHOLOGIQUES

La microangiopathie diabétique touche les petits vaisseaux (artérioles, capillaires, veinules) d'un calibre inférieur à 30 microns. Le fait caractéristique est l'épaississement des membranes basales, représenté en microscopie optique par des dépôts PAS positifs (constitués donc de mucopolysaccharides); cet épaississement en ultrastructure apparaît lamellaire, feuilleté, par accumulation de ce matériel sur le versant externe de la basale; l'épaisseur est doublée voire triplée ( $0.5$  à  $1.5 \mu$  contre  $1000$  à  $5000 \text{ \AA}$ ). Il existe entre ces dépôts des fragments de péricytes en voie de dégénérescence. Les cellules endothéliales sont turgescentes, leur cytoplasme est riche en vésicules de pinocytose et en mitochondries, témoignant d'une hyperactivité métabolique et de transport. Au niveau artériolaire, il existe des dépôts hyalins sous-endothéliaux (15, 127).

Les aspects anatomiques propres au rein et à la rétine sont schématiquement les suivants:

- *au niveau rénal*, si les lésions élémentaires ne sont pas spécifiques en soi, leur combinaison est très évocatrice de l'origine diabétique; on note:

- un épaississement des membranes basales glomérulaires, tubulaires et mésangiales constituant la glomérulosclérose capillaire, l'accumulation nodulaire de ce matériel dans le mésangium donnant le nodule de Kimmelstiel-Wilson;
- une hyalinose des artérioles afférentes et efférentes;
- des dépôts extracellulaires linéaires d'albumine et d'IgG en immunofluorescence (102).

Ces constatations sont confirmées par les études quantitatives morphométriques menées par Osterby montrant que les faits remarquables après plus de 5 ans de diabète sont :

- l'épaississement des membranes basales (épaisseur doublée par rapport aux témoins);
- l'augmentation considérable du volume du mésangium (60% du volume total contre 30%);
- l'absence de différence de sévérité entre les zones corticales profondes et superficielles, contrastant avec les conditions hémodynamiques différentes régnant dans ces deux groupes de néphrons (118).

- *au niveau rétinien*, les études faites par digestion à la trypsine ont révélé:

- initialement une prolifération endothéliale sur le versant veinulaire; un oedème endothélial sur le versant artériolaire; une atteinte des péricytes qui semble secondaire à l'atteinte endothéliale, les péricytes étant trappés dans la basale; des microanévrismes; plus

tardivement un épaissement des membranes basales.

-ultérieurement une dégénérescence des cellules endothéliales du versant artériolaire avec occlusion capillaire sur ce versant,une multiplication des microanévrismes du versant veineux,et l'ouverture de shunts artériolo-veineux (canaux préférentiels ) dans les zones d'occlusion capillaire (34).

Il faut d'emblée noter que ces lésions rétinienne ne sont pas spécifiques au diabète puisque de tels aspects sont rencontrés dans d'autres pathologies (3).On souligne en particulier les lésions rétinienne de la drépanocytose,maladie remarquable par ses désordres hémorhéologiques.

## PHYSIOPATHOLOGIE

### AVANT PROPOS

Avant d'envisager la physiopathologie de la microangiopathie diabétique,on soulignera quelques notions importantes:

\* Il importe de distinguer d'une part la microangiopathie histologique ou biochimique infraclinique et quasi-ubiquitaire (seuls les capillaires du tissu adipeux et de la muqueuse intestinale paraissent curieusement indemnes),d'autre part la triopathie qui implique la réaction propre des tissus concernés au développement de la microangiopathie:les facteurs locaux jouent un rôle essentiel.On peut ainsi souligner:

- le caractère terminal de la circulation rénale et rétinienne
- l'existence d'une barrière hématorétinienne avec "tight junctions" obturant les espaces interendothéliaux,et intense activité de transport des cellules endothéliales. (34)
- au contraire le caractère fenestré des capillaires glomérulaires,la complexité du filtre glomérulaire et de la circulation porte glomérulotubulaire
- l'intense activité métabolique rétinienne,la rétine ayant la plus forte consommation énergétique par gramme de tissu (in 46)
- la production d'un facteur angioprolifératif par la rétine en réponse à l'ischémie (126).

On peut également noter les analogies entre les cellules du mésangium,auxquelles on attribue un rôle de filtre des macromolécules,et les péricytes où des microvésicules contenant un traceur de gros poids moléculaire ont été observées (in 164).

\*La microangiopathie diabétique passe par un stade fonctionnel réversible,caractérisé par trois modifications hémodynamiques de la microcirculation:l'augmentation du débit sanguin capillaire , l'hyperperméabilité capillaire avec fuite protéique,et la perte de l'autorégulation du flux capillaire.Il est probable que ce stade soit une phase obligatoire précédant l'installation de la microangiopathie organique irréversible,de nombreux travaux accordant une bonne valeur prédictive de MAD à l'existence de ces troubles fonctionnels.Les résultats discordants des tentatives d'équilibration métabolique optimale sur l'évolution d'une microangiopathie s'expliquent probablement par l'évolution autonome de la MAD à sa phase organique.Il est donc essentiel de dépister la MAD lors de cette phase initiale seule accessible à une thérapeutique non palliative.

\*Les nombreuses études physiopathologiques sur la MAD apportent des résultats parfois déroutants,les contradictions tenant au caractère très hétérogène du syndrome diabétique et des populations étudiées,que ce soit sur le plan de l'étiologie ou surtout du degré de contrôle métabolique (75).

\*Des divers mécanismes pathogéniques avancés pour expliquer la MAD,aucun n'apparaît remporter la palme,comme en témoignent les innombrables publications parues sur le sujet.La MAD apparaît plutôt comme la résultante de désordres d'origines multiples que le syndrome diabétique a la particularité unique d'engendrer et que nous allons envisager.Nous détaillerons successivement:A.les anomalies fonctionnelles de la microcirculation- B.leurs conséquences tissulaires- C.leurs causes possibles.

## A. Les Anomalies de la Fonction Microcirculatoire

### 1. Augmentation des débits sanguins capillaires

\*Dès l'installation du diabète, on peut mettre en évidence une augmentation de la perfusion à différents niveaux de l'organisme:

#### a. la rétine

Le flux rétinien est de mesure difficile, il peut être évalué par 3 méthodes, la cinéfluoroangiographie, la vélocimétrie laser-doppler et la mesure du temps de transit de la fluorescéine. Par cette dernière méthode, on met en évidence une augmentation du flux rétinien chez les diabétiques avec rétinopathie modérée ou absente, ce flux diminuant en cas de rétinopathie sévère (77).

#### b. le rein

Il a été mis en évidence chez l'homme une augmentation modérée du flux plasmatique rénal dont la réalité est contestée; les techniques de microponction chez l'animal ont prouvé quant à elles une élévation du flux plasmatique glomérulaire (164).

#### c. les autres tissus

L'étude de Gundersen portant sur 18 jeunes DID évoluant depuis moins de 5 ans révèle par méthode isotopique (Xénon 133) une augmentation du débit musculaire, cutané et adipeux en cas de déséquilibre métabolique, anomalie réversible avec la normalisation glycémique (61). La comparaison chez 9 diabétiques de type 1 de découverte récente de l'irrigographie des membres inférieurs à JO et J10 après strict contrôle métabolique (pancréas artificiel ou pompe à insuline) montre que les 6 indices sont significativement plus élevés à JO et se normalisent à J10 par rapport aux témoins (99 bis).

\*Parallèlement à cet état d'hyperperfusion, on observe une vasodilatation capillaire et veineuse précoce bien décrite à la rétine, la conjonctive (42) et la peau (rubéose faciale).

\*Une expansion du volume plasmatique est également observée dans les phases précoces du diabète de type 1. Devant cet état d'hyperperfusion générale, on pourrait s'attendre à une augmentation du débit cardiaque, mais ce point a été peu étudié. Quelques observations suggèrent une augmentation de l'inotropisme myocardique avec diminution du temps de prééjection chez des patients déséquilibrés, anomalie réversible après contrôle par l'insuline (in 164).

### 2. Augmentation de la perméabilité capillaire

Là encore, le trouble a pu être mis en évidence aussi bien dans les organes cibles que dans les tissus périphériques (121, 151).

#### a. la rétine

La rupture de la barrière hématorétinienne, concept introduit par Cuhna-Vaz (34), est l'altération la plus précoce de la rétinopathie diabétique; elle semble être un facteur d'initiation puisque sa reproduction expérimentale chez l'animal aboutit à une rétinopathie identique; cette rupture est liée à une atteinte de son versant interne endothélial.

La rupture de la barrière hématorétinienne est mise en évidence précocement par la fuite extravasculaire de fluorescéine lors de l'angiographie rétinienne. Cet examen ne permet cependant qu'une approche morphologique; la quantification de la fuite a été possible par la mise au point par Cuhna Vaz de la fluorophotométrie du vitré, technique mesurant le gradient vitréen prérétinien de fluorescéine et offrant un intérêt physiopathologique et pronostique.

Une étude longitudinale de 25 patients sur 30 mois a en effet montré une corrélation entre l'élévation des indices vitréens et le développement de lésions rétinienne; elle suggère en outre l'existence d'un seuil critique de perméabilité où la rétinopathie est toujours présente (34).

Enfin de nombreuses études suggèrent une corrélation entre la perméabilité rétinienne déterminée par fluorophotométrie du vitré et l'équilibre métabolique. Il semble en fait que la normalisation de la perméabilité dépende plus de la disponibilité en insuline que de la normalisation glycémique elle-même. La réversibilité de l'hyperperméabilité selon le statut métabolique suggère qu'elle relève d'une atteinte fonctionnelle probablement par inhibition des transports anioniques actifs trans-endothéliaux, plutôt que d'une atteinte structurale des jonctions inter-endothéliales (34).

## b.le rein

*\*l'augmentation de la filtration glomérulaire jusqu'à 25 % est une caractéristique du diabète à sa phase initiale, largement décrite dans la littérature (107).*

Il s'agit d'un phénomène réversible associé là encore au contrôle métabolique, l'hyperfiltration s'aggravant lors d'un déséquilibre glycémique ou d'une charge glucosée aiguë (25,121); il n'est cependant pas lié au simple effet volumique ou osmotique de l'hyperglycémie puisque une charge aiguë en sodium ou en xylose n'élève pas la filtration glomérulaire (25), ni à des anomalies du filtre glomérulaire comme l'attestent les études de clearance de dextrans, mais relève plutôt des phénomènes suivants:

-l'augmentation de l'aire de filtration joue un rôle certain: l'hypertrophie des reins bien connue lors du diagnostic du diabète, d'environ 25% et corrélée à l'élévation de la filtration glomérulaire, s'accompagne d'une augmentation de taille des glomérules (Osterby 1979) sans hyperplasie; cette néphromégalie est une condition préalable indispensable à l'hyperfiltration glomérulaire;

-l'élévation du flux plasmatique rénal, déjà discutée, intervient également pour une part minime;

-l'augmentation de pression hydrostatique capillaire est le facteur déterminant (145); mise en évidence chez l'animal par microponction glomérulaire (164), elle s'élèverait aussi lors d'un déséquilibre glycémique (121); il faut citer ici le rôle possible d'un trouble primitif de la réabsorption tubulaire du glucose puis du sodium, influençant l'hémodynamique glomérulaire par le biais de la balance glomérulotubulaire dont le siège est au niveau du tubule distal et de l'appareil juxtaglomérulaire (47); intervient également le système enzymatique de la voie des polyols, puisque l'hyperfiltration glomérulaire est prévenue chez l'animal par l'administration d'inhibiteurs de l'aldose réductase ou par la supplémentation diététique en myo-inositol (Goldfarb 1986);

*\*l'apparition d'une microalbuminurie est un autre reflet de l'hyperperméabilité glomérulaire, les aspects de ce processus ont été précisés notamment par les travaux de Mogensen (107 à 112), Viberti (149 à 154) et Parving (123) et peuvent être résumés par les 9 points suivants:*

-si la néphropathie diabétique se manifeste cliniquement par une macroalbuminurie (>0.5g/24h) détectable par Labstix\*, il est possible de mettre en évidence par méthode immunologique une microalbuminurie physiologiquement inférieure à 15-20 µg/min;

-au cours des phases initiales du diabète, le déséquilibre glycémique s'accompagne d'une élévation de la microalbuminurie basale, réversible par le contrôle métabolique;

-l'élévation de la microalbuminurie peut être sensibilisée et induite par l'exercice physique, cette microalbuminurie d'effort est influencée là encore par l'équilibre métabolique; l'effort n'élève pas la protéinurie chez les témoins non diabétiques;

-cette microalbuminurie est d'origine glomérulaire car la fonction tubulaire appréciée par le dosage de la β2-microglobuline est normale, mais ce point est encore discuté;

-la microalbuminurie est détectable en l'absence de toute atteinte morphologique de la barrière glomérulaire;

-l'élévation de la microalbuminurie a une valeur prédictive de l'incidence ultérieure d'une néphropathie diabétique, telle est la conclusion des 3 principales études longitudinales (Viberti 1982, Mathiesen 1984, Mogensen 1984); les divergences tiennent d'une part à la technique de recueil des urines, d'autre part à la valeur du seuil à risque: Mogensen suggère que l'association "microalbuminurie >15 µg/min, filtration glomérulaire >150 ml/min, TA diastolique >90 mmHg" expose au risque de néphropathie ultérieure; Viberti proposait initialement 30 µg/min; il semble qu'un consensus se fasse pour une valeur de 15 µg/min.

-la conception maintenant classique de l'histoire naturelle de la néphropathie diabétique proposée par Mogensen résume bien les points exposés:

.le stade 1 est celui du diagnostic du DID, où il existe une hypertrophie et une hyperfiltration glomérulaire, une élévation de la microalbuminurie basale, avant la mise sous insuline;

.le stade 2 comporte l'apparition des premières lésions morphologiques décelables du

glomérule;la filtration glomérulaire est toujours élevée;la microalbuminurie basale normale s'élève à l'effort et en cas de déséquilibre glycémique;

.le stade 3 est le stade critique de "néphropathie incipiente";la microalbuminurie basale s'élève progressivement de 15 à 300  $\mu\text{g}/\text{min}$  ( progression de 25  $\mu\text{g}/\text{min}/\text{an}$  );la filtration glomérulaire reste élevée jusqu'au seuil de 70  $\mu\text{g}/\text{min}$  puis les fonctions rénales commencent à baisser;on note une élévation tensionnelle dont l'effet bénéfique du dépistage et du traitement sur ce tournant évolutif sont en cours d'évaluation;

.le stade 4 est celui de néphropathie installée,caractérisée par une protéinurie clinique ( $>0.5\text{g}/24\text{h}$ ),une HTA et une baisse progressive de la fonction glomérulaire (1ml/min/mois) ralentie par le traitement antihypertenseur;

.le stade 5 est celui de l'insuffisance rénale terminale;

-la signification pathologique de l'élévation de la microalbuminurie est imparfaitement connue.Par l'étude des clearances différentielles de l'albumine et des IgG,Viberti suggère que le flux transglomérulaire des protéines est contrôlé par 3 facteurs : le gradient de pression hydrostatique -la taille moléculaire - la charge électrique moléculaire.L'évolution de la protéinurie passe ainsi par 3 phases succesives liées à des déterminants distincts :

.à la phase 1 (microalbuminurie $<60 \mu\text{g}/\text{min}$ ),le rapport albumine/IgG urinaires est normal:l'élévation de la pression capillaire serait responsable de l'augmentation proportionnelle de filtration de l'albumine et des IgG;

.à la phase 2 (microalbuminurie $>60 \mu\text{g}/\text{min}$ ),le rapport albumine/IgG urinaires augmente: la perte des charges négatives du filtre glomérulaire,liée à une baisse du contenu en glycosaminoglycanes (161), est responsable de l'augmentation préférentielle de la filtration de l'albumine chargée négativement par rapport aux IgG neutres;

.à la phase 3 (baisse de la filtration glomérulaire),le rapport albumine/IgG urinaires diminue:des études de clearance de dextrans de différentes tailles suggèrent une distribution bimodale de la taille des pores de la membrane glomérulaire,la fuite des IgG étant liée à des modifications structurales du filtre aboutissant au développement d'une sous-population de larges pores de plus de 10 nm (54).L'existence de tels pores n'a cependant jamais été démontrée et la théorie des pores avancée pour expliquer la protéinurie est très contestée:pour Simpson notamment,la membrane basale est un gel colloïdal comportant des mailles hexagonales de 2.75nm,calibre très inférieur à celui de l'albumine (6 nm) qui doit donc déformer le gel comme une valve pour le traverser,ce qui nécessite une forte pression glomérulaire (135).

-enfin les perspectives thérapeutiques se conçoivent actuellement ainsi:

.au stade 4,il est établi que le contrôle métabolique n'a pas d'effet sur l'évolution de la néphropathie,les travaux cliniques évaluent l'intérêt de la réduction tensionnelle,notamment par les inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (IEC);

.au stade 3,si le contrôle glycémique permet de réduire la microalbuminurie (de manière inconstante et instable dans le temps),il reste à démontrer que cela réduit l'incidence ultérieure de la néphropathie;on s'oriente là aussi sur l'intérêt de la correction d'anomalies tensionnelles par ces mêmes IEC,voire vers leur emploi avant toute anomalie tensionnelle,et sur l'intérêt des inhibiteurs de l'aldose réductase; enfin les données expérimentales présentées ultérieurement incriminant le glucagon et la GH dans l'hyperperméabilité glomérulaire permettent d'envisager un effet thérapeutique possible de la somatostatine.

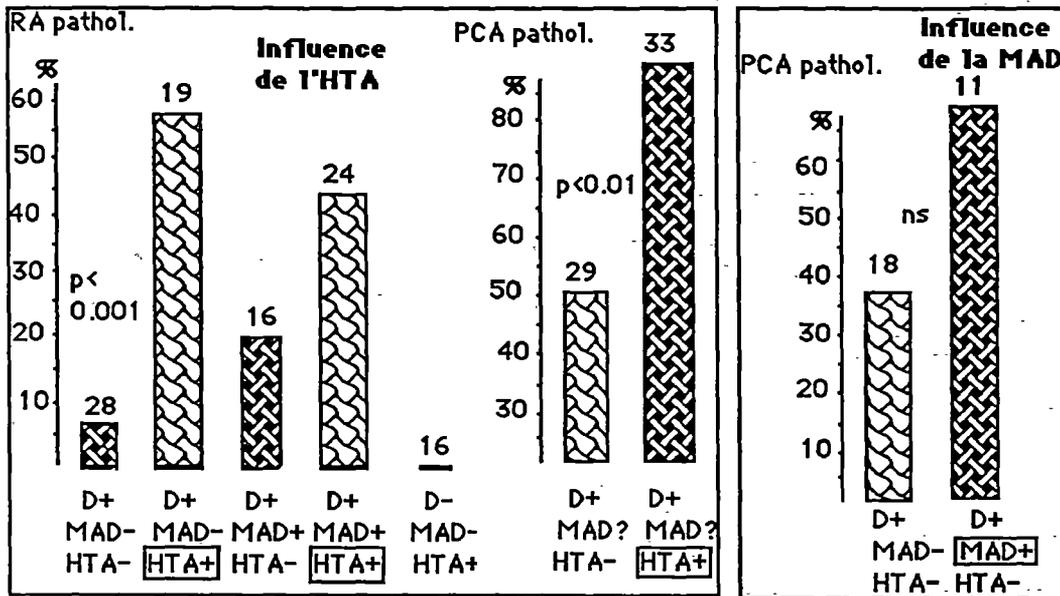
*\* les dépôts d'albumine et d'IgG dans les membranes basales glomérulaires et tubulaires* représentent le troisième aspect de l'hyperperméabilité glomérulaire;mis en évidence en immunofluorescence,ces dépôts sont caractéristiques du diabète car absents chez les témoins et au cours des néphropathies non diabétiques;ces dépôts régressent chez l'animal après transplantation d'îlots pancréatiques et apparaissent sur des reins normaux transplantés à un animal diabétique;il ne s'agit pas d'un phénomène immunologique mais plutôt d'un trappage dans la membrane basale car il n'existe pas de fixation du complément;au niveau tubulaire,ils siègent en effet sur le versant externe de la membrane basale,suggérant un passage de ces protéines à partir des capillaires péritubulaires;les dépôts hyalins des artérioles afférentes et efférentes semblent relever du même processus d'hyperperméabilité vasculaire (151).

c.les tissus périphériques

Une hyperperméabilité capillaire peut également être observée dans d'autres tissus que la rétine ou le rein, ainsi :

-le passage du compartiment intravasculaire vers les tissus interstitiels d'albumine et d'IgG marquées ("trans capillary escape rate") est accentué chez les diabétiques avec MAD par rapport aux témoins et aux diabétiques de courte durée d'évolution (121);

-ce test isotopique de perméabilité capillaire à l'albumine (PCA) a été sensibilisé par la réalisation d'une compression veineuse, la mesure de la rétention d'albumine à la levée de la compression (RA) sert d'indice de perméabilité; ce test a une bonne reproductibilité et est de réalisation courante; une étude de Valensi portant sur 87 diabétiques non sélectionnés révèle une forte prévalence de RA pathologique chez les diabétiques (prévalence de 50 %, identique dans le type 1 et le type 2), avant même l'apparition d'une MAD clinique, et le rôle aggravant sur la PCA de l'HTA, de la durée du diabète et de la MAD; ce test paraît ainsi intéressant pour la détection précoce de la MAD (148)



-la technique de vidéomicroscopie de fluorescence permet de montrer une fuite accrue de fluorescéine à partir des capillaires cutanés de diabétiques (14); cette étude originale de Bollinger, utilisant une technique peu invasive quantifiée par l'usage d'un vidéodensitomètre, a cependant été réalisée chez 13 diabétiques de longue durée d'évolution (17 ans) et mériterait d'être renouvelée chez des diabétiques récents;

-par immunofluorescence, on montre enfin des dépôts intenses d'albumine et d'IgG au niveau des basales des capillaires cutanés et musculaires (in 151); la fuite d'albumine est également objectivée au niveau du cortex cérébral chez les rats traités par streptozotocine (in 164).

Cette hyperperméabilité est influencée par le contrôle métabolique: ainsi l'étude du "transcapillary escape rate" d'albumine et d'IgG chez 10 diabétiques évoluant depuis moins de 1.5 an révèle une fuite accrue en cas de déséquilibre glycémique (121).

Sur le plan ultrastructural, l'hyperperméabilité correspond à une exagération de l'endocytose physiologique des macromolécules du compartiment vasculaire vers le secteur extravasculaire (165).

Cette hyperperméabilité périphérique est attribuée à une élévation de la pression capillaire moyenne. Cette hyperpression, mise en évidence par technique de microcathétérisme des capillaires périunguéraux des doigts ou des orteils, n'a cependant été retrouvée que chez de jeunes diabétiques non compliqués de MAD, accentuée encore par un mauvais contrôle glycémique. En fait, la pression capillaire au pied est normale lorsque le membre est au niveau du coeur, mais s'élève anormalement lors de l'abaissement du pied (145), suggérant une

mauvaise protection de la microcirculation lors de l'orthostatisme. Chez des patients atteints de diabète de longue date compliqué de MAD, cette hyperpression capillaire périphérique n'est plus observée, par contre on note des troubles de l'autorégulation de l'hémodynamique microcirculatoire (144) qui représentent le troisième volet de la microangiopathie fonctionnelle.

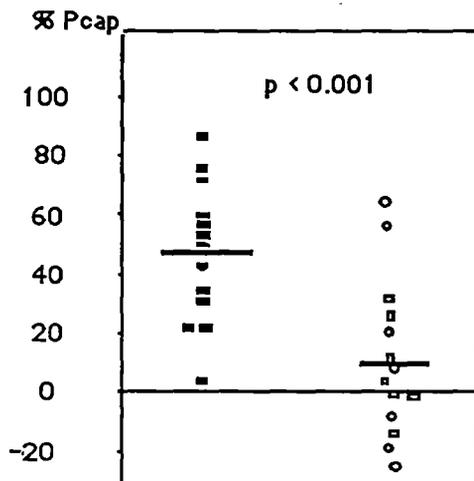
### 3. Les troubles de l'autorégulation du flux capillaire

L'autorégulation du flux sanguin permet le maintien d'un débit constant malgré les variations de la pression artérielle moyenne dans une fourchette de 70 à 150 mm Hg, la pression veineuse restant constante. Ce phénomène, démontré dans de nombreux tissus chez l'homme, est de mécanisme encore mal connu. Pour l'expliquer, il faut d'abord tenir compte des facteurs anatomiques: ainsi l'influence de l'innervation sympathique sur la vasomotricité est prédominante au niveau des vaisseaux de moyen calibre, mais à mesure que le calibre décroît, c'est l'autorégulation métabolique (acidose, PCO<sub>2</sub>) qui prime, complétée par des facteurs myogéniques (froid, pression intravasculaire) et hormonaux. D'autre part, il existe une vasomotricité artériolaire et veinulaire spontanée, bien visualisée in vivo en capillaroscopie, et on démontre l'existence d'une activité pace-maker au niveau des bifurcations vasculaires; cette activité myogénique du muscle lisse artériolaire et veinulaire et sa régulation font l'objet de recherches actuelles (17,19). Un trouble de l'autorégulation de la microcirculation retentira d'autant plus facilement sur la nutrition tissulaire qu'il existe un athérome associé responsable d'une chute proximale de pression, situation réalisée au cours du diabète.

Au cours du diabète, on observe une perte de l'autorégulation, de même que d'autres propriétés de l'hémodynamique microcirculatoire, ainsi:

- une étude comparative de trois groupes de patients (8 témoins, 8 DID de courte durée sans MAD, 8 DID de longue durée avec MAD clinique) révèle une perte de l'autorégulation dans le troisième groupe avec des variations du débit atteignant 20% pour une variation de la pression artérielle de 10 mm Hg, ce en l'absence de toute neuropathie végétative (73);

- la comparaison de la pression capillaire moyenne déterminée par microcathétérisme des capillaires périunguéaux chez 9 diabétiques de longue durée avec MAD clinique et 9 témoins, si elle ne montre pas de différence significative entre les deux groupes, révèle cependant chez les diabétiques une élévation post-ischémique très émoussée de la pression capillaire (test d'hyperhémie provoquée), malgré l'absence de neuropathie végétative et la persistance d'une capacité de vasoconstriction au froid intacte (144);



**Taux de variation de la pression capillaire lors d'un test d'hyperhémie réactionnelle**

● témoins  
○ diabétiques

Tooke - Diabetes 1980;29:815-19

-l'hyperhémie réactionnelle post-occlusion est également une épreuve dynamique utilisée pour sensibiliser la mesure de la vélocité et de l'amplitude du flux capillaire cutané obtenue par vélocimétrie laser-doppler;cette dernière technique, simple, est d'introduction récente et donne des résultats reproductibles chez un même sujet (87);les paramètres mesurés comprennent le temps nécessaire à l'obtention du pic ("time to peak"PT) et le temps de retour au niveau basal ("time to recovery" RT);dans une étude menée chez 104 diabétiques non hypertendus et 78 témoins,Uchimura note chez les diabétiques une prolongation significative de ces deux indices qui sont corrélés positivement avec l'HbA1c et avec le niveau d'affinité de l'hémoglobine pour l'oxygène (P50) (146);

-de nombreuses études rapportent une diminution des capacités de perfusion maximale sous divers stimuli (chaleur,CO2,ischémie,exercice musculaire) chez les diabétiques de longue durée;cette diminution est corrélée non pas avec l'équilibre glycémique mais avec la durée du diabète (in145); cela suggère,après la phase d'hyperperfusion déjà décrite, une évolution vers un état d'hypoperfusion qui n'est plus fonctionnel mais fixé,attribué à une augmentation des résistances vasculaires ou à une baisse de la distensibilité vasculaire;

-le réflexe veinuloartériolaire,représenté par une vasoconstriction précapillaire au niveau du pied lors de l'hyperpression veineuse liée à l'orthostatisme,et destiné à limiter l'hyperpression capillaire,est perturbé chez les diabétiques avec neuropathie,qui présentent ainsi une hyperirrigation distale d'orthostatisme (in 145);

-la maldistribution sanguine est la dernière caractéristique des troubles microcirculatoires du diabète,avec diminution du flux capillaire efficace nutritif au profit du flux des shunts capillaires artérioloveinulaires:une augmentation du flux sanguin global,de constatation classique avec des méthodes pléthysmographiques comme l'irrigraphie (53), peut ainsi masquer une véritable hypoxie tissulaire,objectivée par la diminution de la pression transcutanée d'oxygène récemment mise en évidence chez les diabétiques(89,90,99).

Diverses hypothèses tentent d'expliquer ces désordres microcirculatoires:

-la perte de l'autorégulation relève pour certains d'une origine fonctionnelle métabolique car elle peut être précoce (effet direct de l'hyperglycémie,de l'hypoxie,de l'hyperproduction de lactates:in 59),pour d'autres de variations structurales (corrélation entre la perte de l'autorégulation et la hyalinose des artéioles terminales:73;sclérose microcirculatoire liée à l'épaississement des membranes basales:145);

- la perte de l'autorégulation n'est liée ni à l'HTA ni à l'athérome ni à la neuropathie; cette dernière par contre serait responsable de la perte du réflexe veinuloartériolaire qui est un réflexe local sympathique d'axone;pour certains cependant l'hyperinsulinisme perturberait ce réflexe (in 145).

-la diminution des capacités de vasodilatation est attribuée à une atteinte du sphincter précapillaire aboutissant à un déficit de synthèse de prostacycline,l'hyperhémie étant liée aux prostaglandines car inhibée par l'indométacine (in 144);la sclérose microcirculatoire induirait de plus une baisse de la distensibilité (145);une neuropathie infraclinique n'est pas écartée;

-la maldistribution sanguine s'est vue attribuer une origine neurologique remise en question par les tenants de l'explication rhéologique(133);ce point sera détaillé plus loin.

#### 4.En résumé

On observe au cours des phases précoces du diabète une augmentation du débit sanguin au niveau de l'ensemble de l'organisme,qu'il s'agisse des tissus cibles de la MAD (rétine ,rein) ou des tissus périphériques (musculaires,cutanés,adipeux).Cet état d'hyperperfusion,associé à une vasodilatation capillaroveinulaire,est dépendant du contrôle métabolique.Une autre caractéristique précoce du diabète est l'existence d'une hyperperméabilité capillaire,elle aussi diffuse et influencée par l'équilibre glycémique.Une hypertension capillaire (ou une mauvaise protection du capillaire vis à vis des variations tensionnelles systémiques) explique ce phénomène.Dès les phases précoces peuvent être mis en évidence des troubles de l'autorégulation du flux capillaire associés à une maldistribution sanguine. Ultérieurement apparaît un état d'hypoperfusion avec perte des capacités de vasodilatation,qui semble fixé,



indépendant de l'équilibre métabolique. Il faut souligner que l'ensemble de ces anomalies fonctionnelles peuvent être mises en évidence non seulement chez l'homme mais aussi chez l'animal rendu diabétique par la streptozotocine, ce qui suggère le rôle pathogène prépondérant de la carence insulinaire. Mais avant d'aborder l'étude de ces facteurs pathogènes, nous détaillerons les conséquences de ces perturbations de l'hémodynamique microcirculatoire.

### 5. Remarques

Au terme de cette présentation des troubles fonctionnels de la microcirculation au cours du diabète, on souligne les similitudes existant avec les perturbations observées au cours de l'hypertension artérielle. L'HTA modérée s'accompagne d'une élévation de perméabilité vasculaire, illustrée par l'augmentation de la microalbuminurie et des phénomènes de hyalinose artériolaire (in 59;121) et liée probablement à l'hyperpression capillaire. On conçoit ainsi le rôle aggravant de l'HTA sur l'évolution de la MAD, souligné notamment par Mogensen (107, 109) montrant les relations entre microalbuminurie et HTA diastolique d'une part, microalbuminurie d'effort et HTA systolique d'autre part. Il existerait même une parenté pathogénique entre HTA et MAD puisque certains expliquent ces deux désordres par un trouble primitif de la viscosité sanguine, comme cela sera développé ultérieurement (92).

### B. Les conséquences tissulaires des anomalies fonctionnelles de la microcirculation

Si les troubles de la fonction microcirculatoire que l'on vient d'exposer semblent bien établis, leurs conséquences tissulaires et leur rôle dans l'évolution de la microangiopathie sont plus spéculatifs.

De manière générale, la plupart des auteurs estiment que l'augmentation de perméabilité capillaire est à la base de la morphogénèse de la MAD. L'extravasation accrue des protéines plasmatiques aboutit à des dépôts dans la membrane basale des capillaires et dans la paroi des artérioles : c'est le concept de "plasmatic vasculosis" attribuant à l'hyperperméabilité capillaire un rôle initial et décisif dans l'épaississement des membranes basales, les dépôts PAS positifs et la hyalinose artériolaire. Les dépôts protéiques dans les parois vasculaires et le tissu interstitiel stimuleraient la synthèse de membrane basale et de matériel interstitiel, d'où compression puis occlusion capillaire et défaillance de l'organe (121,151).

Dans le cas particulier du rein, les travaux de Brenner, reposant sur des constatations cliniques et expérimentales, suggèrent que c'est l'hyperfiltration glomérulaire qui est responsable du développement de la glomérulosclérose et de l'insuffisance rénale (cf les observations classiques du rôle protecteur d'une sténose rénale unilatérale ou délétère d'une néphrectomie unilatérale sur la glomérulopathie:101). La destruction des premiers néphrons enclenche un cercle vicieux, l'élévation de la pression glomérulaire dans les néphrons restants les détruit de même par un processus autonome. Les troubles hémodynamiques seraient pathogènes pour le glomérule par les biais suivants:

- agression directe mécanique de la paroi capillaire, contribuant à la prolifération endothéliale;
- hyperperméabilité capillaire avec dépôts péricapillaires mésangiaux, épaississement pariétal et mésangial, hyalinisation, contribuant au rétrécissement luminal;
- les troubles de l'hémostase favorisent ultérieurement la thrombose capillaire, l'hypoxie induisant une vasodilatation dans les territoires voisins à leur tour détruits par le même processus hémodynamique de base (164).

Pour expliquer les dégâts tissulaires de la rétinopathie, l'hypothèse proposée par Cuhna-Vaz repose de même sur l'atteinte primitive de la barrière hématorétinienne. A celle-ci est attribuée la prolifération endothéliale du versant veinulaire avec formation de microanévrismes, la dégénérescence puis l'occlusion capillaire du versant artériolaire, la

dégénérescence péricytaire, l'épaississement des basales, l'œdème rétinien, les exsudats et les hémorragies. Là encore, si un désordre général initie les lésions, celles-ci sont ensuite auto-entretenuës par un processus local (34). Un caractère propre à la rétine cependant est la synthèse d'un facteur angioprolifératif en réponse à l'hypoxie (126).

Un parallèle peut être fait ici entre l'épaississement mésangial caractérisant la néphropathie diabétique et la dégénérescence péricytaire observée dans la rétinopathie. L'accumulation de matériel mésangial reflète l'hyperperméabilité capillaire et la faillite du mésangium dans la clearance des macromolécules. Cette expansion mésangiale aboutit à une diminution de la surface de filtration capillaire glomérulaire par rétrécissement luminal, à l'étouffement et à la sclérose glomérulaire (101,102). Au niveau péricytaire, on observe des vésicules d'endocytose reflet du passage de macromolécules, qui lorsqu'il est exagéré induirait une dégénérescence péricytaire (in 164).

Une mention particulière doit être faite au problème de l'épaississement de la membrane basale, en raison de la place importante qu'il a occupé dans la littérature dans les années 70, des polémiques qu'il a suscitées et de son effet parasite sur la compréhension de la physiopathologie de la MAD. Sur ce marqueur morphologique caractéristique de la MAD, on peut retenir les faits suivants:

- les études faites sur la basale musculaire ont été l'objet de controverses: si Siperstein suggérait un épaississement d'origine génétique indépendant de l'hyperglycémie et pouvant précéder le diabète comme une entité séparable, la plupart des auteurs se sont rangés aux conclusions de Williamson et Kilo (158) qui par d'autres techniques montrent que l'épaississement est acquis et lié à l'hyperglycémie;

- les études menées sur la basale glomérulaire par Osterby (118) montrent que l'épaississement est acquis, survient après 1.5 an d'évolution du diabète et va en s'aggravant;

- par l'expérimentation animale et par les données de la transplantation rénale et pancréatique, Mauer montre que ce caractère est acquis et plus ou moins réversible (101);

- la structure de la membrane basale comprend une armature de collagène type 4 prédominant (lamina densa) entourée d'une lamina rara faite de protéoglycanes (héparan sulfate) responsables de la charge électrique négative, et d'une lamina rara faite de laminine et de fibronectine responsable de l'adhésion aux cellules endothéliales (161);

- les études biochimiques menées par Spiro (136) retiennent une augmentation du contenu en glucosylgalactose; celle-ci est liée à l'hyperactivité de la glucosyltransférase, système enzymatique stimulé par la carence insulinique et normalisé par l'équilibration glycémique. Westberg observe quant à lui une diminution du contenu en acide sialique, qui expliquerait la perte des charges négatives, et une diminution du contenu en cystine et en groupement sulfhydryl, qui générerait une hyperperméabilité vasculaire par baisse des ponts intra- et inter-chaînes de collagène (156);

- en fait, si certains ont attribué à l'épaississement de la basale l'hyperperméabilité capillaire, il semble plutôt que la perméabilité soit gouvernée par l'endothélium; l'hyperperméabilité est en effet un phénomène précoce observé bien avant tout épaississement de la basale; au contraire, l'hyperperméabilité capillaire, en entraînant le passage d'A2 macroglobuline et d'A1 antitrypsine, inhibiteurs de collagénases, contribuerait à l'épaississement de la basale (157); celui-ci apparaît ainsi comme une conséquence de l'hyperperméabilité capillaire, donc de l'hyperpression capillaire et comme un reflet de l'atteinte endothéliale, l'aspect laminaire de la basale traduisant le turnover accéléré des cellules endothéliales; le caractère plus marqué de l'épaississement de la basale dans les zones déclives des membres inférieurs et en cas d'insuffisance cardiaque illustre le rôle causal de l'hyperpression capillaire (145);

- les seules conséquences fonctionnelles de l'épaississement de la basale seraient une gêne à la diapédèse des polynucléaires favorisant les infections (157) et une augmentation de l'agrégation plaquettaire par disparition des glycosaminoglycanes (in 58);

- en résumé, l'épaississement des membranes basales apparaît comme un marqueur morphologique de la MAD, d'origine acquise fonction de la durée du diabète et de la carence

insulinique, reflétant l'agression de la cellule endothéliale et l'hyperperméabilité capillaire, et sans conséquence fonctionnelle majeure.

Un dernier aspect des lésions tissulaires de la MAD est constitué par les troubles du tissu conjonctif, de nombreuses études retrouvant notamment au niveau cutané et tendineux un aspect histologique de vieillissement précoce avec modification des teneurs en collagène, élastine et mucopolysaccharides, sur le plan biochimique déviation du type et de la glycosylation du collagène, et altérations ultrastructurales du fibroblaste (15, in 58, 143), les faits cliniques notant une corrélation entre incidence d'une rétinopathie et d'une capsulite rétractile (in 58). Les origines de ces altérations tissulaires, et notamment leurs rapports avec les troubles fonctionnels microcirculatoires, ne sont pas établis.

### C. Les Anomalies Élémentaires

Pour expliquer les altérations de la fonction microcirculatoire et leurs conséquences tissulaires, de nombreuses anomalies élémentaires ont été proposées que l'on peut regrouper en 7 catégories:

- les troubles de la membrane basale et du tissu conjonctif,
- les troubles de la fonction cellulaire,
- les troubles du métabolisme cellulaire,
- les troubles hormonaux,
- les troubles de l'hémostase,
- les troubles du transport de l'oxygène,
- les troubles rhéologiques.

Si cette classification proposée par McMillan (95) a le mérite de la simplification dans un domaine où la recherche est très prolifique et morcelée, il faut garder à l'esprit les nombreuses interactions entre ces types d'anomalies élémentaires, la physiopathologie de la MAD apparaissant comme plurifactorielle.

#### 1. Les troubles de la membrane basale et du tissu conjonctif

Le problème de l'épaississement de la membrane basale vient d'être abordé et se résume ainsi: ce phénomène est la conséquence de la maladie du capillaire et ne joue pas de rôle causal dans la MAD, hormis pour certains aspects très précis: une gêne possible à la diapédèse leucocytaire; une structure potentialisant l'agrégation plaquettaire; la perte des charges électriques négatives favorisant au niveau glomérulaire l'albuminurie.

Quant aux altérations du tissu conjonctif, caractérisées par un aspect de vieillissement précoce, elles seront probablement l'objet d'une polémique analogue, puisque certains auteurs suggèrent que l'altération des glycoprotéines et du collagène tissulaires précéderait l'angiopathie voire même l'éclosion des troubles métaboliques du diabète, la déviation de synthèse du collagène étant liée à un trouble constitutionnel de la cellule endothéliale et du fibroblaste indépendant du diabète lui-même (15; in 58). On observe en effet une sénescence prématurée des fibroblastes en culture des diabétiques et des diabétiques potentiels (in 95).

#### 2. Les troubles des fonctions cellulaires

De nombreuses altérations des fonctions cellulaires ont été observées au cours du diabète, cependant celles-ci apparaissent pour la plupart non pas primitives mais secondaires à l'hyperglycémie et à la carence insulinique et réversibles avec l'équilibration métabolique. On cite le déficit du chimiotactisme et de la phagocytose, les troubles de la cicatrisation, les altérations des fonctions lymphocytaires, les dysfonctions lysosomiales (113).

### 3. Les troubles du métabolisme cellulaire

#### a. L'augmentation de la voie des polyols

En l'absence d'insuline, le glucose peut pénétrer librement dans certains tissus, notamment le cristallin, la cellule de Schwann nerveuse, la paroi vasculaire, la cellule  $\beta$  des îlots de Langerhans, la papille rénale, la rétine, l'hématie.

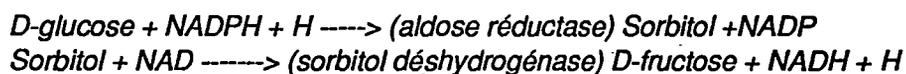
Dans ces tissus, la carence insulinaire fait dévier le métabolisme du glucose vers une voie non insulino-dépendante, la voie des polyols, transformant le glucose en sorbitol et en fructose grâce à une enzyme allostérique, l'aldose réductase.

L'absence de saturation enzymatique fait que cette voie normalement accessoire devient essentielle en cas d'hyperglycémie et aboutit à une élévation non négligeable du sorbitol. Celui-ci diffusant mal hors de la cellule s'accumule et exerce un effet osmotique important (55).

La voie des polyols est incriminée dans la pathogénie de la neuropathie et de la cataracte, et plus récemment dans celle de la rétinopathie et de la néphropathie. On souligne cependant que l'accumulation de sorbitol intra-érythrocytaire n'a pas d'effet sur les propriétés rhéologiques de l'hématie (4).

L'accumulation de sorbitol va de pair avec une déplétion cellulaire en myoinositol qui est un composant essentiel des membranes. Chez le rat rendu diabétique par la streptozotocine, le ralentissement des vitesses de conduction nerveuse a pu être prévenu par la supplémentation diététique en myoinositol.

Le développement d'inhibiteurs de l'aldose réductase en cours d'expérimentation thérapeutique explique l'intérêt porté à cette voie des polyols. Cependant les premières données obtenues chez l'homme dans le cadre de la neuropathie sont encore décevantes, tant en raison des effets secondaires des drogues utilisées que pour leur efficacité thérapeutique.



#### b. L'augmentation de la production de lactates

La carence insulinaire dévie le métabolisme du glucose vers toutes les voies non insulino-dépendantes, notamment vers la production de lactates. Ainsi on montre que l'augmentation du glucose dans le bain des capillaires de la vessie natatoire de l'anguille s'accompagne d'une augmentation des lactates. Or les lactates auraient un effet vasodilatateur et vasoprolifératif et stimuleraient la synthèse du collagène (in 59).

#### c. L'augmentation des glycosylations enzymatiques et non enzymatiques

L'ensemble des protéines de l'organisme peut subir un processus de glycosylation dépendant de l'équilibre métabolique, qu'il s'agisse d'un processus enzymatique (par exemple la création de résidus glucosylgalactose sur le collagène de la membrane basale par une glucosyl-transférase stimulée par la carence insulinaire) ou le plus souvent d'un processus non enzymatique (55). Or cette déviation du métabolisme du glucose vers ces voies non insulino-dépendantes a des répercussions fonctionnelles, la glycosylation perturbant les propriétés des protéines, ainsi:

- l'hémoglobine glycosylée a une affinité pour l'oxygène accrue,
- l'hémoglobine glycosylée en se liant à la membrane érythrocytaire gêne le mouvement de chenillette ("tank-treading") de l'hématie en déplacement,
- la glycosylation des protéines du cristallin entraînerait pour certains des phénomènes d'agrégation fibrillaire responsable de la cataracte,
- la glycosylation du collagène en augmentant les liaisons croisées interfibrillaires favoriserait un vieillissement précoce,
- la glycosylation de la spectrine, armature de la membrane érythrocytaire, modifierait les propriétés rhéologiques de l'hématie,
- l'albumine glycosylée subit une endocytose accrue, la glycosylation participant ainsi à l'hyperperméabilité vasculaire,

-l'albumine glycosylée en se liant aux protéines du glycocalix des hématies favorise l'agrégation érythrocytaire,

-les LDL glycosylées sont mal reconnues par les récepteurs des apoprotéines B, mais reconnues par les récepteurs scavenger des macrophages impliqués dans l'athérosclérose.

Ces faits expliquent l'intérêt porté à la recherche d'agents pharmacologiques inhibant cette glycosylation, en particulier le réarrangement d'Amadori transformant la base de Schiff en son produit terminal stable.

#### d. Les autres effets de l'hyperglycémie

Si les arguments épidémiologiques sont solides pour affirmer le rôle clé du contrôle glycémique sur l'évolution de la MAD (124), il est plus difficile de déterminer l'effet pathogène précis de l'hyperglycémie. En d'autres termes, le mauvais contrôle métabolique est-il pathogène par l'hyperglycémie elle-même, par la carence insulinaire, par le niveau glycémique ou par l'existence d'accoups hyperglycémiques? On peut citer les éléments de réponse suivants:

-par l'injection intrapéritonéale répétée de glucose pendant 5 semaines à des rats non diabétiques, Bohlen induit une microangiopathie intestinale similaire à celle des rats diabétiques témoins (11,12);

-l'hyperglycémie semble avoir une toxicité directe sur les cellules endothéliales et les jonctions interendothéliales, modifiant la sensibilité vasculaire à l'angiotensine ou à la noradrénaline (in 59);

-par la perfusion intraveineuse de glucose chez 7 diabétiques de type 1 (clampage par Biostator\*) et 10 témoins, Christiansen montre une élévation significative de la filtration glomérulaire parallèle à l'élévation de la glycémie, associée chez les diabétiques à une élévation du flux plasmatique rénal, cet effet n'étant pas retrouvé avec la perfusion de sérum salé ni par celle de xylose (25); cet effet est pour d'autres auteurs partiellement bloqué par l'indométacine;

-l'hyperglycémie aiguë chez des chats normaux entraîne une élévation du flux rétinien (in 164);

-par l'injection intraveineuse de 7 à 8 U.I d'insuline chez 5 diabétiques de type 1, Mogensen observe une diminution significative de la filtration glomérulaire (9%) et du flux plasmatique rénal (13%), dans les 90 minutes, accompagnées d'une tachycardie sans modification de la pression artérielle, d'une élévation de l'albuminurie et d'une baisse de la  $\beta_2$  microglobulinurie; il n'y avait pas de symptôme d'hypoglycémie ni d'élévation de l'adrénalinémie; la fraction de filtration, reflet de la pression glomérulaire, restait constante; ces effets hémodynamiques de l'insuline sont attribués à une réaction sympathique induite par une hypovolémie, et indépendante des effets sur la glycémie; en effet, en dehors du rein, l'augmentation de perméabilité vasculaire à l'albumine sous insuline a également été retrouvée; un accroissement de la micropinocytose physiologique a été observé sur des biopsies musculaires de rat diabétique 1 heure après injection d'insuline comparativement à l'injection de sérum physiologique; l'hyperinsulinisme serait donc un facteur d'hyperperméabilité capillaire et pourrait être incriminé dans la genèse de la microangiopathie après celle de la macroangiopathie diabétique (108);

-à des concentrations supraphysiologiques, l'insuline se comporte comme un vasodilatateur cutané et émousse le réflexe veinuloartériolaire (145) ce qui illustre encore l'intérêt d'une administration de l'insuline la plus physiologique possible;

-par la technique de clamp hyperglycémique, Juhan suggère que c'est la carence insulinaire plutôt que le niveau glycémique lui-même qui est responsable de la diminution de la déformabilité érythrocytaire (71) (cf page 28);

-bien que la pénétration érythrocytaire du glucose soit indépendante de l'insuline, on démontre la présence de récepteurs érythrocytaires pour l'insuline, de haute affinité, analogues à ceux des autres tissus, et à la densité de 2000 sites par hématie, dont le rôle est mal connu mais qui pourraient être impliqués dans les propriétés rhéologiques de l'hématie (56);

-enfin Ditzel met en cause les accoups hyperinsuliniques liés à l'administration non physiologique de l'insuline dans la diminution du 2-3DPG érythrocytaire (46) (cf page 19).

#### 4. Les troubles hormonaux

En dehors de la carence insulinique dont les effets directs et indirects sur la MAD viennent d'être abordés, il existe d'autres perturbations hormonales au cours du diabète pouvant influencer sur l'atteinte vasculaire.

##### a. le Glucagon

L'élévation des niveaux circulants de glucagon au cours du diabète a les conséquences suivantes:

- le glucagon augmente la production hépatique de glucose;
- par des études sur foie de rat isolé, on montre que le glucagon déprime la synthèse hépatique d'albumine et d'haptoglobine, et stimule la synthèse des protéines de phase aiguë de la réaction inflammatoire, dont le fibrinogène; cet effet est antagonisé par l'insuline (106); ces effets sur les protéines plasmatiques participent aux troubles rhéologiques (cf page 25);
- par une perfusion de glucagon chez 9 diabétiques de type 1 et 6 témoins permettant d'obtenir un taux sérique voisin de celui du diabète déséquilibré, Parving note une augmentation significative de la filtration glomérulaire sans modification de la microalbuminurie, et chez les diabétiques seulement une élévation du flux plasmatique rénal (122);
- le glucagon active les lysosomes hépatiques et participerait à l'élévation de l'activité lysosomiale plasmatique (in 95);

##### b. l'Hormone de Croissance

Les relations entre GH et MAD ont fait l'objet de nombreuses discussions dont l'intérêt est relancé par les travaux récents sur les facteurs de croissance et par la disponibilité en analogues de la somatostatine.

\*Les constatations cliniques sont discordantes (in 58):

.on rappelle l'observation classique de l'amélioration d'une rétinopathie diabétique hémorragique chez une femme après l'apparition d'un syndrome de Sheehan; la rareté de la rétinopathie chez des nains hypophysaires diabétiques; le caractère souvent moins sévère de la rétinopathie chez des diabétiques avec hémochromatose;

.à l'inverse, les acromégales diabétiques ne présentent pas de rétinopathie particulièrement sévère et les obèses diabétiques qui ont une GH abaissée présentent souvent une rétinopathie sévère.

\*Les études de Lundbaek retiennent schématiquement les faits suivants (94):

.le niveau de GH au cours du nyctémère est 3 à 4 fois plus élevé chez le diabétique de type 1; son élévation au cours de l'effort musculaire est plus marquée; ces phénomènes sont moins prononcés chez le diabétique de type 2; à l'effort, la GH est plus élevée chez les diabétiques atteints de rétinopathie proliférative que chez les autres diabétiques ou les témoins;

.la rétinopathie 5 ans après hypophysectomie chez des diabétiques de longue durée avec rétinopathie sévère est moins évoluée par rapport au groupe non opéré;

.cet effet de la GH sur la microcirculation ne semble pas d'origine métabolique mais plutôt lié à un effet vasculaire direct, car le contrôle métabolique n'est pas modifié par l'hypophysectomie.

\*Parmi les explications proposées au rôle de la GH, on a suggéré:

.une diminution de la résistance capillaire, réversible par l'hypophysectomie (in 95);

.une augmentation de l'agrégabilité plaquettaire, la GH augmentant la synthèse de facteur von Willebrand (29);

.le rôle de la GH sur l'épaississement des membranes basales est purement hypothétique;

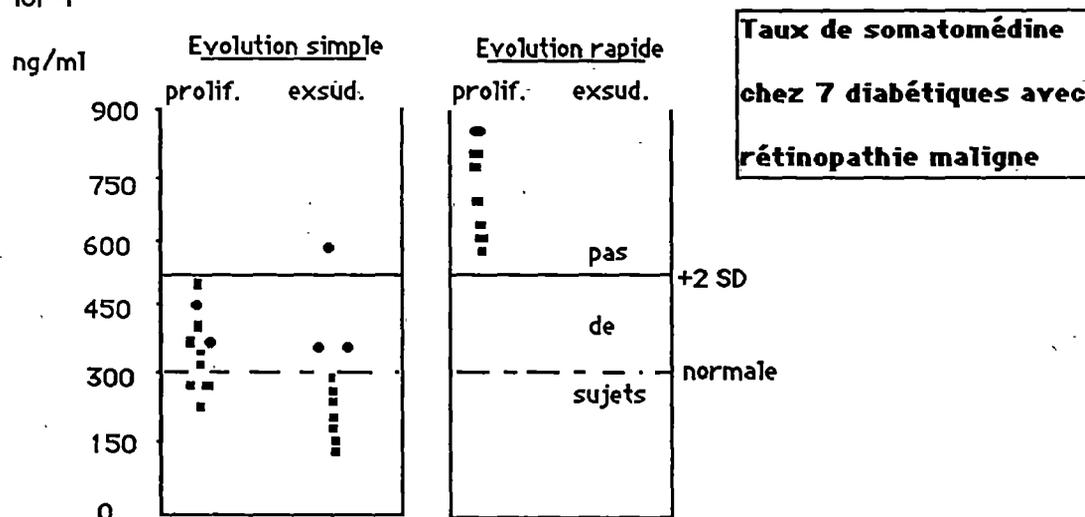
.par l'injection répétée de GH pendant une semaine chez 7 diabétiques de type 1, permettant d'obtenir des taux sériques comparables à ceux observés dans le diabète déséquilibré, Christiansen note une augmentation significative de la filtration glomérulaire et du flux plasmatique rénal sans élévation de la microalbuminurie, la taille des reins s'élevant de

façon non significative (26); les deux hormones de contre-régulation glycémique que sont la GH et le glucagon, et le glucose lui-même, exercent donc un effet vasodilatateur rénal direct;

si de l'avis général le taux de somatomédine C est abaissé au cours du diabète et serait d'ailleurs la cause primitive de l'élévation de GH (117), Merimee, étudiant 80 diabétiques adultes, trouve lui une élévation du taux d'IGF-1 dans le diabète de type 1 quel que soit l'état de la rétine, et une diminution du taux d'IGF-2 dans le diabète de type 2; mais surtout, le caractère original de son étude est qu'elle met en évidence une élévation très importante du taux de somatomédine C en cas de rétinopathie maligne; ce résultat demande à être confirmé et souligne l'intérêt d'études prospectives sur la valeur prédictive du taux de somatomédine dont le rôle pathogène reste à démontrer (105). La difficulté de la tâche est soulignée par Ashton qui, s'il trouve aussi un niveau de somatomédine plus élevé en cas de rétinopathie simple ou proliférante, insiste sur les fortes fluctuations et la grande dispersion des résultats dans ce groupe de patients (2). Ces observations sont à rapprocher de la caractérisation de récepteurs pour l'insuline et les facteurs de croissance IGF-1 et IGF-2 sur les cellules endothéliales et les péricytes de la rétine; ces récepteurs biochimiquement identiques à ceux des autres cellules sont nombreux, de haute affinité, et fonctionnels médiant les effets de l'insuline et des IGF sur le métabolisme et la croissance cellulaire (68); ces récepteurs sont cependant ubiquitaires, ce qui tempère la signification qu'on doit accorder à leur présence ici ou là;

la connaissance des relations entre GH et angiopathie pourrait bénéficier d'études thérapeutiques de l'effet des analogues retard de la somatostatine sur les paramètres mesurables de la MAD.

IGF-I



Merimee - N.Engl.J.Med.1983;309:527-30

### c. la Prostaglandine PGE2

Des travaux expérimentaux sur le rat rendu diabétique par la streptozotocine mettent en évidence une augmentation précoce de la libération glomérulaire de PGE2, substance vasodilatatrice susceptible d'augmenter le flux plasmatique rénal et la filtration glomérulaire. La production des prostaglandines par des cultures de cellules normales est augmentée lorsque le milieu est enrichi en glucose, cet effet est atténué par l'insuline. Enfin des perfusions d'indométacine atténuent l'hyperfiltration glomérulaire des rats diabétiques (in 164).

#### d. le Système Rénine Angiotensine

Au cours du DID, l'activité rénine plasmatique (ARP), en l'absence de toute hypovolémie comme réalisée par l'acidocétose, tend à être plus basse, en particulier lorsque le diabète est compliqué de néphropathie avec HTA ou d'hypotension orthostatique. Chez le rat normal, la restriction sodée induit une nette augmentation de l'ARP, réponse très émoussée chez le rat diabétique. Diverses hypothèses ont été avancées pour expliquer cette baisse de l'ARP parmi lesquelles l'expansion du volume plasmatique observée précocément dans le diabète, la destruction hyaline des cellules juxtaglomérulaires, un trouble de la sécrétion de rénine libérée sous une forme inactive, et une mauvaise modulation de cette sécrétion par les catécholamines (27).

De plus, des travaux expérimentaux sur des bandes aortiques de rat mettent en évidence une diminution de la réponse contractile à l'angiotensine II (ATII), tandis que d'autres auteurs notent un abaissement de la densité en récepteurs de l'ATII au niveau des glomérules malgré la diminution de l'ARP et de l'ATII circulantes. Ces résultats suggèrent que l'hyposensibilité à l'ATII est liée à un trouble de "l'up-regulation" des récepteurs chez l'animal diabétique (in 164).

Enfin, on observe que la réponse de la rénine à la déplétion sodée et la densité en récepteurs de l'ATII sont restaurées par le traitement insulinaire (in 164).

Ces perturbations du système rénine angiotensine sont compatibles avec la vasodilatation microcirculatoire du diabétique. Elles seraient impliquées dans les troubles de l'autorégulation. Il faut souligner cependant des discordances dans la littérature, certains auteurs observant une réactivité vasculaire à l'angiotensine accrue avec ARP normale en cas de diabète compliqué de rétinopathie seule. Pour eux, la baisse de l'ARP serait un mécanisme compensateur retardant l'apparition de l'HTA en cas de néphropathie (27).

#### e. les Catécholamines

On met là aussi en évidence une diminution de la réactivité vasculaire à la noradrénaline chez les rats diabétiques par l'étude de la réponse contractile de bandes aortiques. De même, la densité des récepteurs alpha-adrénergiques sur l'hépatocyte des rats diabétiques est diminuée. Ces deux anomalies sont réversibles par l'administration d'insuline (in 164) qui semble donc moduler l'expression des récepteurs vasculaires des hormones vasoactives.

### 5. Les Troubles de l'Hémostase

#### a. l'Hémostase Primaire

L'existence d'anomalies de la fonction plaquettaire a fait l'objet de publications abondantes, dont on souligne les discordances tenant soit aux techniques utilisées soit aux populations étudiées, la question essentielle restant de savoir si les troubles observés sont primitifs ou secondaires à l'atteinte vasculaire. Les faits suivants peuvent être retenus:

-pour certains auteurs, les plaquettes de patients diabétiques in vitro sont plus sensibles aux agents agrégants (ADP, adrénaline, collagène) en libérant plus de thromboxane A2 (TBXA2) à partir d'acide arachidonique; les plaquettes de patients diabétiques contiennent plus d'acide arachidonique dans leurs phospholipides; si l'on ajoute de l'acide arachidonique au milieu, on obtient plus de TBXA2, suggérant que l'hyperactivité des phospholipases n'est pas seule en cause (29);

-pour d'autres auteurs, l'agrégation plaquettaire mesurée par technique de Born sur plasma n'est pas modifiée, elle est par contre augmentée si elle est mesurée sur sang total par technique de Breddin, ce qui souligne le rôle de l'environnement érythrocytaire (72);

-si les plaquettes de diabétiques libèrent plus de TBXA2, substance proagrégante, les vaisseaux du diabétique synthétisent moins de prostacycline PGI2, antiagrégante; cette anomalie serait le reflet de la stimulation chronique des cellules endothéliales dont on a montré in vitro l'effet négatif sur la synthèse de PGI2; l'élévation des taux de facteur von Willebrand observée chez les rétinoopathes reflète l'agression répétée des cellules endothéliales (in 115);

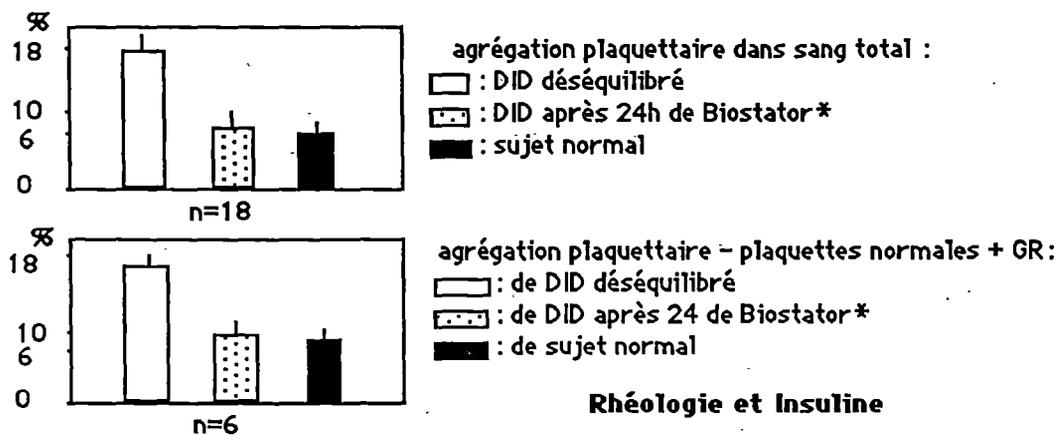
-la sensibilité des plaquettes aux effets inhibiteurs de la PGI2 est diminuée au cours du

diabète, de façon corrélée à la gravité de la rétinopathie (in 115);

-la glycosylation du collagène renforce ses effets positifs sur l'adhésion, l'agrégation et l'activation plaquettaire (in 115);

-l'environnement érythrocytaire retentit sur l'agrégation plaquettaire, qui est augmentée lorsque des plaquettes normales sont mises en présence des hématies d'un diabétique mal contrôlé; ainsi pour certains auteurs l'augmentation de l'agrégation plaquettaire n'est retrouvée que sur sang total et l'effet de l'insuline sur les plaquettes est médié par les érythrocytes rigidifiés, qui agiraient soit en libérant de l'ADP soit en stimulant la libération d'ADP par la plaquette (72,147);

-cette hypersensibilité plaquettaire aux agents agrégants disparaît, chez l'homme par la normalisation glycémique, chez le rat traité par streptozotocine par la transplantation d'îlots pancréatiques; l'hyperagrégation plaquettaire sur sang total est normalisée par pancréas artificiel (70,72); la normalisation glycémique rapide par pancréas artificiel agit également sur les taux de TBXA2 et de  $\beta$ -thromboglobuline (reflet de l'activation plaquettaire) qui chutent (147);



Juhan et Vague - Lancet 1982;1 :535-7

-certains ont avancé un phénomène de glycosylation non enzymatique des protéines membranaires plaquettaires, jamais démontré, d'installation rapide, à l'origine des troubles fonctionnels plaquettaires;

cependant il faut souligner que l'effet bénéfique de l'insuline s'exerce non seulement sur la glycémie mais aussi sur les taux de lipides sanguins; or l'hypercholestérolémie favoriserait la libération de l'acide arachidonique et sa transformation en TBXA2; pour certains, l'hyperagrégation plaquettaire du diabétique serait une conséquence des troubles lipidiques (in 115); pour Jones qui étudie l'effet sur l'agrégation de la glycémie, l'insulinémie, la cholestérolémie, l'HbA1c, les acides gras plaquettaires, l'analyse statistique de régression multiple ne retient que le rôle direct de la glycémie et donc l'hyperagrégation plaquettaire du diabétique est d'origine métabolique et non pas secondaire aux désordres pariétaux (69);

-la réduction de la survie plaquettaire observée chez certains diabétiques peut être attribuée soit à une atteinte directe de la plaquette par quelque effet membranaire, soit plus probablement à une atteinte indirecte liée à l'adhésion avec des vaisseaux chroniquement agressés;

cette dualité possible des causes des troubles plaquettaires est illustrée par les perturbations des prostaglandines: si l'élévation de la TBXA2 est attribuée au désordre métabolique, la baisse de la PGI2 est la conséquence de l'agression endothéliale.

De manière générale, les discordances entre les auteurs tiennent à cette dernière question, à savoir si les anomalies plaquettaires sont primitifs susceptibles d'induire la MAD, ou secondaires aux troubles pariétaux constituant la MAD. Ainsi pour Colwell (31) et Janka (67) l'ensemble des perturbations de l'hémostase primaire est de survenue précoce, antérieure à l'apparition clinique de la MAD et de caractère réversible (mais une MAD infraclinique

a-t-elle été exclue ?). Pour d'autres auteurs, les modifications plaquettaires ne sont retrouvées qu'en cas de MAD déjà déclarée (in 58). Il faut souligner qu'il n'y a qu'une seule observation faite in vivo illustrant un possible rôle pathogène des plaquettes: c'est la mise en évidence par Ishibashi de microthrombi plaquettaires dans les capillaires rétinien chez le rat après quelques mois de diabète expérimental, sans atteinte ultrastructurale des cellules endothéliales (64).

#### b. la Fibrinolyse

Outre ces perturbations de l'hémostase primaire, il faut citer les travaux d'Almer (1) qui observe, dans les cas de diabète compliqué de rétinopathie, une diminution de la fibrinolyse après veinostase liée à une baisse de la libération de l'activateur tissulaire du plasminogène, cette anomalie étant absente chez les patients indemnes de rétinopathie.

### 6. Les Troubles du Transport de l'Oxygène

Si l'hypoxie tissulaire est une conséquence des troubles du métabolisme cellulaire, de l'hémostase et de la rhéologie sanguine observés au cours du diabète, elle peut représenter aussi le primum movens de la microangiopathie diabétique. Les travaux originaux de Ditzel (45,46) suggèrent en effet qu'il existe un trouble du transport de l'oxygène lié à l'état diabétique et que celui-ci est la cause primitive, le "facteur clé" des altérations microcirculatoires du diabétique.

L'hypothèse de Ditzel repose tout d'abord sur des arguments indirects:

- la vasodilatation, l'hyperdébit et l'hyperperméabilité sont une réponse classique à l'hypoxie quelle qu'en soit l'origine;

- les microanévrismes rétinien, quoique caractéristiques du diabète, sont une forme de néovascularisation en réponse à l'hypoxie et s'observent dans d'autres pathologies où l'hypoxie rétinienne est présente: magroglobulinémie, myélome, thrombose veineuse rétinienne, drépanocytose (3);

- la rétine a la plus forte consommation d'oxygène par gramme de tissu, et les vaisseaux rétinien sont très sensibles aux variations de pression d'oxygène: l'effet néfaste de l'oxygénothérapie intensive chez les nouveaux nés prématurés est bien connu (vasoconstriction rétinienne irréversible), inversement l'ischémie rétinienne induit une vasodilatation locale immédiate suivie d'une rupture de la barrière hématorétinienne;

- on observe au cours du diabète une augmentation du métabolisme basal, sensible à l'équilibre glycémique, cette élévation pouvant atteindre 25 à 30%; il existe de plus de grandes variations de la consommation d'oxygène au cours du nyctémère; ainsi, le métabolisme basal est augmenté le matin, mais la consommation d'oxygène chute peu après l'injection d'insuline.

L'hypothèse de Ditzel est l'existence d'une *hypoxie d'affinité* caractérisée par une déviation à gauche de la courbe de dissociation de l'hémoglobine avec diminution de la P50 (tension d'oxygène pour une saturation de 50%). Cette augmentation de l'affinité de l'hémoglobine pour l'oxygène, quelle qu'en soit la cause, ne modifie pas la libération d'oxygène au pôle artériolaire, mais se manifestera au pôle veinulaire. Cette souffrance veinulaire explique que les désordres initialement observés dans la MAD fonctionnelle, à la rétine ou à la conjonctive, soient représentés essentiellement par une dilatation veinulaire. Il est intéressant de remarquer que l'intoxication à l'oxyde de carbone, modèle typique d'hypoxie d'affinité, produit aussi une dilatation veinulaire et des hémorragies rétinien. Cet exemple mis à part, les causes d'hypoxie d'affinité sont représentées par l'hypertriglycéridémie, l'élévation des taux d'hémoglobine glycosylée et la baisse des taux de 2,3-DPG érythrocytaire, toutes situations observées au cours du diabète, les deux dernières étant prédominantes.

Les études cliniques vont dans le sens de cette hypothèse, Ditzel observant une baisse de la P50 chez 42 diabétiques de type 1 ambulatoires, baisse encore plus nette chez 13 patients relevant d'acidocétose récemment corrigée. L'affinité pour l'oxygène semble d'autant plus forte que l'équilibre glycémique est mauvais. Cependant, il est intéressant de noter que l'administration d'insuline exogène modifie l'affinité: ainsi, si la détermination de la P50 chez des patients ambulatoires est faite le matin avant l'injection d'insuline, le résultat est normal; par contre, la libération d'oxygène peut diminuer de 0 à 30% quelques heures après l'injection chez les patients ambulatoires, et de 13 à 70% chez des patients en acidocétose après la première injection, pouvant dans ces derniers cas réaliser un stress hypoxique majeur pour la rétine, le cerveau et le myocarde. Ditzel suggère ainsi que le caractère discontinu de l'insulinothérapie conventionnelle est responsable de variations diurnes de l'affinité pour l'oxygène qui peuvent être pathogènes. Le caractère fluctuant du trouble explique l'absence de compensation par le biais d'une polyglobulie comme c'est le cas dans certaines hémoglobinopathies.

En dehors de la glycosylation de l'hémoglobine, c'est la concentration érythrocytaire en 2,3 DPG qui détermine la libération d'oxygène. Deux facteurs contribuent à diminuer le taux de 2,3 DPG: l'acidose, et surtout l'hypophosphorémie. Or l'insuline a un effet hypophosphorémiant. Ditzel suggère ainsi de corriger la tendance hypophosphorémique:

- soit par un diphosphonate (EHDP) qui, lors d'une étude contre placebo pendant 28 jours chez 14 diabétiques de type 1 et 5 témoins, augmente significativement la réabsorption tubulaire de phosphate, la phosphorémie et la P50, chez les témoins et les patients,

- soit par supplémentation en phosphate de calcium (2 grammes 3 fois par jour, soit environ le double de l'apport alimentaire habituel) qui, chez 34 enfants diabétiques, augmente significativement la P50 après 28 jours, sans effet secondaire notable (45).

Pour Ditzel ainsi, "la microangiopathie diabétique apparaît comme une maladie de l'autorégulation d'origine hypoxique affectant primitivement le pôle veinulaire, tout comme l'HTA est un désordre de l'autorégulation affectant primitivement le pôle artériolaire". Les implications thérapeutiques sont d'une part une administration de l'insuline optimale, d'autre part la correction de l'hypophosphorémie. Pour de nombreux auteurs cependant, ces modifications de l'affinité de l'hémoglobine pour l'oxygène sont trop discrètes pour avoir des conséquences microcirculatoires (11).

Si l'hypoxie relève ici de troubles du métabolisme érythrocytaire, elle est aggravée par des désordres hémorhéologiques maintenant abordés.

## 7. Les Troubles Hémorhéologiques

### a. Quelques définitions (49,138)

\*La *rhéologie* est l'étude de la déformation des corps sous l'effet des contraintes qui leur sont appliquées. L'héorhéologie étudie le comportement du sang sous l'influence des contraintes et son écoulement au niveau de la macro- et surtout de la microcirculation.

\*La *viscosité* d'un fluide est due à la friction interne entre couches adjacentes:

- le gradient de vitesse entre deux couches adjacentes, dans un écoulement laminaire, est appelé *taux de cisaillement* (shear rate);
- la force nécessaire pour vaincre la résistance entre deux couches adjacentes en mouvement est appelée *force de cisaillement* (shear stress);
- la viscosité est définie comme le rapport de la force de cisaillement par le taux de cisaillement.

\*On peut distinguer deux grandes catégories de fluides,

- les *fluides newtoniens* qui ont une viscosité constante (à température constante);
- les *fluides non newtoniens* dont la viscosité varie selon les conditions d'écoulement et doit être exprimée selon le taux de cisaillement.

\*Le sang est un fluide non newtonien considéré comme une suspension de cellules dans le plasma; les principaux paramètres de la viscosité sanguine sont donc:

- la *viscosité plasmatique*, dépendant essentiellement des protéines;
- la *déformabilité* des hématies, intervenant lors des interactions intercellulaires et cellule-endothélium;

-l'*agrégation* des hématies, due aux interactions cellules-protéines.

\*Les deux derniers paramètres sont responsables du comportement non newtonien du sang et sont également à l'origine de deux propriétés rhéologiques originales du sang,

-la *viscoélasticité* d'une part, qui rend compte de la déformation élastique des hématies lorsque le flux sanguin démarre, les cellules emmagasinant de l'énergie restituée lors de l'arrêt du flux;

-la *thixotropie* d'autre part, qui est un reflet de l'énergie nécessaire à la dissociation des rouleaux érythrocytaires lors de l'application d'une contrainte.

### b. Quelques caractéristiques hémorhéologiques générales (24,88)

\*L'étude des paramètres de la viscosité sanguine doit aborder deux ordres de facteurs:

- les paramètres macrorhéologiques, à savoir l'hématocrite et les protides sanguins (fibrinogène, albumine et globulines);
- les paramètres microrhéologiques, représentés par le degré d'agrégation des hématies et leur déformabilité.

\*Shu Chien (24) a particulièrement étudié l'influence des protéines plasmatiques sur l'agrégation érythrocytaire et a observé les faits suivants:

- la viscosité sanguine augmente avec la concentration de fibrinogène, surtout à basse vitesse de cisaillement, jusqu'à un plateau obtenu à une fibrinogénémie de 6 g/l;
- les globulines ont un effet fibrinogène-like équivalent à une fibrinogénémie de 3g/l;
- l'albumine n'a pas d'effet fibrinogène-like;
- il y a une corrélation entre l'effet fibrinogène-like de la protéine et son poids moléculaire;

-la taille des agrégats érythrocytaires augmente avec la fibrinogénémie.

Il conclut que le fibrinogène cause l'agrégation érythrocytaire et la formation des rouleaux, en s'adsorbant sur la membrane érythrocytaire, chaque molécule réalisant un pont entre deux hématies. L'absence de répulsion électrostatique entre les deux cellules est liée à la longueur de la molécule de fibrinogène; l'albumine, elle, est une courte molécule et ne peut empêcher cette répulsion; l'effet variable des dextrans sur l'agrégation selon leur poids moléculaire est un argument pour le rôle essentiel du poids moléculaire de la protéine, les dextrans étant électriquement neutres.

Cette force d'agrégation est relativement faible et est facilement surmontée par les forces de

cisaillement. Lorsque la vitesse de cisaillement est élevée, les érythrocytes sont complètement désagrégés, la déformation érythrocytaire est maximale et la viscosité sanguine minimale.

\*L'hématocrite est un paramètre essentiel de la viscosité sanguine, avec des variations proportionnelles pour des valeurs voisines de la normale, mais beaucoup plus marquées si les hématocrites sont très bas ou très élevés (88).

\*La viscosité du sang s'élève lorsque la température décroît; ce paramètre intervient peu entre 36 et 40°C mais est important à considérer lors d'études in vitro.

\*Selon le niveau anatomique considéré, on note des variations des conditions d'écoulement et des vitesses de cisaillement, ces dernières modifiant l'influence des deux principaux paramètres microrhéologiques (déformabilité et agrégation) sur la viscosité sanguine, ainsi:

-au niveau de la macrocirculation, les vitesses de cisaillement sont telles que le sang se comporte presque comme un milieu continu newtonien, sauf au niveau des turbulences d'origine pariétale;

-au niveau des microvaisseaux dont le calibre dépasse celui de l'hématie, l'orientation et la déformation des hématies dans l'axe du vaisseau forme un "core" globulaire central avec un manchon plasmatique périphérique; le profil des vitesses est en forme de parabole; la vitesse des globules est donc supérieure à celle du plasma, ce qui explique la diminution de l'hématocrite au niveau de la microcirculation et favorise la baisse de viscosité sanguine à mesure que le calibre vasculaire décroît (effet Fahraeus-Lindqvist);

-au niveau des capillaires, la vitesse de cisaillement à la paroi est très importante (271 sec.<sup>-1</sup>), l'écoulement érythrocytaire se fait globule après globule à frottements constants contre la paroi vasculaire, et c'est le paramètre déformabilité qui détermine la viscosité; en fait, le déplacement de l'hématie s'assimile au mouvement d'un tank sur sa chenille et dépend essentiellement de la viscosité interne et membranaire de l'hématie; la vitesse de cisaillement est également élevée au niveau artériolaire (69 sec.<sup>-1</sup>);

-au niveau des veinules post-capillaires par contre, la vitesse de cisaillement est basse (2,4 à 11 sec.<sup>-1</sup>), et le calibre vasculaire suffisant pour qu'une agrégation érythrocytaire se produise et influe sur la viscosité.

En somme, c'est la déformation érythrocytaire qui permet de maintenir une viscosité faible aux fortes vitesses de cisaillement, tandis que l'agrégation érythrocytaire est responsable de la viscosité élevée aux faibles vitesses de cisaillement.

\*La concentration érythrocytaire modifie l'importance relative de la déformabilité et de l'agrégation, in vitro, sur le comportement non newtonien du sang, ainsi, si la concentration est normale ou basse, l'agrégation joue le rôle déterminant, tandis que le rôle de la déformabilité augmente lorsque la concentration érythrocytaire est élevée (24).

\*Cette présentation des paramètres hémorhéologiques doit enfin mentionner dans le cadre des interactions sang-vaisseau le rôle clé du "film endo-endothélial de fibrine" décrit par Copley (32) qui joue une fonction essentielle de lubrifiant et de filtre, intervenant dans le glissement et l'adhésivité des hématies à l'endothélium. L'augmentation de l'adhésivité au cours du diabète est un phénomène de mise en évidence récente décrite en particulier par Wautier, pour lequel on a proposé des modifications des séquences des acides gras membranaires érythrocytaires (155).

### c. Quelques conséquences physiopathologiques des troubles rhéologiques (88)

La rhéologie est un facteur important de l'autorégulation et de l'hémodynamique microcirculatoires, elle participe aux résistances vasculaires à l'écoulement du sang et en cela conditionne les échanges au niveau de la microcirculation et notamment l'oxygénation.

Ainsi l'hyperviscosité sanguine est un facteur de *stase microcirculatoire*, qui se manifestera d'abord dans les zones de basses vitesses de cisaillement, donc dans les veinules. La stase

rhéologique a été incriminée dans de nombreux processus pathologiques:

-l'ischémie rétinienne,avec aggravation de l'hyperviscosité par l'hypoxie et l'acidose et création d'un cercle vicieux;

-l'ischémie cérébrale: le débit cérébral,si déjà abaissé par une sténose par exemple; diminue si la viscosité s'élève;

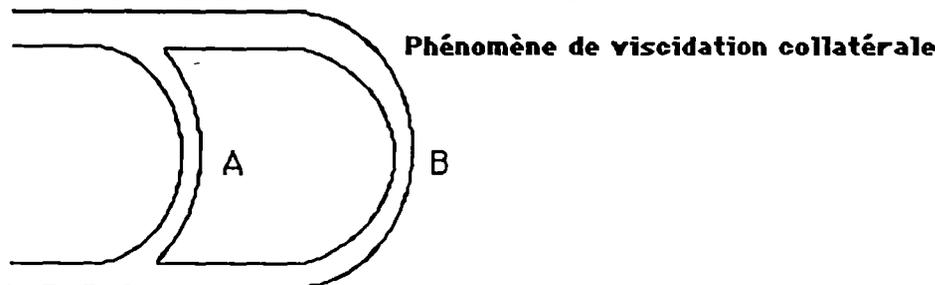
-l'hypertension artérielle,qui pour certains serait un mécanisme compensant l'élévation des résistances circulatoires d'origine rhéologique.Une étude cas-témoins réalisée chez 49 hypertendus non traités trouve dans la population hypertendue une élévation de la viscosité sanguine et plasmatique,de l'hématocrite et du fibrinogène;la viscosité sanguine est corrélée avec le niveau tensionnel,elle reste élevée à hématocrite égal,par contre elle est normale sur sang défibriné,ce qui souligne le rôle primitif essentiel de l'hyperfibrinogénémie;l'élévation du fibrinogène est mal expliquée,celle de l'hématocrite est attribuée à une hémococoncentration par hyperfiltration capillaire due à l'hyperviscosité.Cette étude cependant ne prouve pas l'existence d'une relation de cause à effet entre hyperviscosité et HTA (92);

-la protéinurie : la cause principale de l'albuminurie et de la glomérulosclérose pour Simpson (135) est la rigidité érythrocytaire, responsable d'une résistance circulatoire accrue dans l'artéiole efférente et le plexus péricapillaire,d'une élévation de pression intraglomérulaire;l'hémococoncentration locale réalisée par la filtration glomérulaire renforce l'hyperviscosité et la stase;cet auteur cite l'amélioration de la protéinurie des cardiopathies congénitales cyanogènes après saignée,qui diminue l'hématocrite et la viscosité;

-l'activation plaquettaire: l'élévation des forces de cisaillement à la paroi lèse l'endothélium et libère le facteur von Willebrand;

-l'artériopathie des membres inférieurs: par le suivi sur trois ans de 62 patients claudicants non traités,Dormandy a montré une relation significative entre le niveau initial de la fibrinogénémie et de la viscosité sanguine,et l'aggravation clinique;les paramètres rhéologiques revêtent ici une signification pronostique (48).

L'hyperviscosité sanguine favorise également le *vol sanguin* par l'ouverture de circuits de shunt artérioveineux,selon le phénomène de viscidation collatérale décrit par H.Schmid-Schonbein (133): si le gradient de pression entre vaisseaux afférent et efférent est faible,en cas d'hyperviscosité les forces de cisaillement appliquées dans le circuit B restent inférieures au seuil de mise en mouvement et seul le circuit A fonctionnera.



la résistance à l'écoulement augmente avec la longueur des vaisseaux  
si  $P_{aff} - P_{eff}$  est faible  
si viscosité sang élevée | seul le circuit A fonctionne

= hémodétournement rhéologique

Schmid-Schonbein -Int.Rev.Physiol.Cardiovasc.1976;2:1-62

Cet hémodétournement explique que la correction d'une hyperviscosité puisse améliorer certaines artériopathies diabétiques hyperpulsatiles. Une étude réalisée par Stoltz chez 16 diabétiques de type 1 comportant une mesure pléthysmographique du débit artériel des membres inférieurs avant et après normalisation glycémique par pancréas artificiel (Biostator\*) trouve:

- une élévation du débit initial avant Biostator\*, interprétée comme une hyperhémie réactionnelle à une ischémie périphérique infraclinique, liée à des troubles hémorhéologiques et à l'ouverture de shunts induits par le diabète;

- une diminution de ce débit après normalisation glycémique, d'autant plus nette que le débit initial était plus haut, argumentant le caractère fonctionnel réversible de cette artériopathie à haut débit, sans lésion pariétale cliniquement décelable (une variation de calibre artériolaire par action pariétale directe de l'insuline ne peut cependant être formellement exclue);

- une diminution de la viscosité sanguine et plasmatique à toutes les vitesses de cisaillement, surtout aux basses vitesses, après Biostator\*, tandis que la filtrabilité érythrocytaire est améliorée (137); ces éléments confirmant le rôle du strict contrôle métabolique sur les paramètres rhéologiques sont interprétés comme correspondant à une amélioration du flux capillaire et de la biodisponibilité en oxygène mais demandent à être confirmée par des mesures transcutanées de pression partielle d'oxygène (TcPO<sub>2</sub>).

On rapproche en effet de cette étude les quelques travaux récents portant sur la mesure de TcPO<sub>2</sub> chez les diabétiques, considérée comme un bon reflet de la nutrition tissulaire:

- chez 45 diabétiques de type 1 ou 2 mal équilibrés, Larroque trouve une baisse de la TcPO<sub>2</sub> au pied, à l'état basal et après test d'hyperhémie réactionnelle par rapport aux témoins, baisse non influencée par la présence d'une MAD rétinienne, rénale ou conjonctivale (89)

- chez 85 diabétiques de type 1 ou 2 avec ou sans angiopathie, Le Devehat observe une relation très significative entre la TcPO<sub>2</sub>, la viscosité plasmatique et la filtration érythrocytaire; les troubles hypoxiques et rhéologiques précèdent l'apparition de la MAD (90).

- chez 31 diabétiques de type 2 avec ou sans rétinopathie, Maeda note une corrélation négative entre TcPO<sub>2</sub> d'une part, viscosité sanguine et HbA<sub>1c</sub> d'autre part; la TcPO<sub>2</sub> est déjà abaissée par rapport aux témoins dans le groupe sans rétinopathie, elle est la plus basse dans le groupe avec rétinopathie proliférante, alors que la perfusion au site de mesure y est la plus élevée (99).

Ces données suggèrent que les anomalies rhéologiques peuvent être responsables d'une baisse de l'oxygénation tissulaire et que la mesure de TcPO<sub>2</sub> peut représenter un indice précoce de MAD.

Dans un même ordre d'idées, la réduction de l'hyperdébit, associée à l'accroissement de la pression tissulaire d'oxygène et à l'effet bactéricide de l'oxygène, est avancée pour expliquer l'effet thérapeutique bénéfique de l'oxygénothérapie hyperbare dans certaines gangrènes diabétiques. Il est intéressant de signaler que Faglia observe les meilleurs résultats dans les gangrènes compliquant une neuropathie ou une microangiopathie, et des effets plus décevants dans les complications d'athérome (50). L'étude par Coget de la déformabilité érythrocytaire chez 70 patients traités par oxygénothérapie hyperbare pour troubles trophiques a révélé une amélioration significative de l'index de déformabilité dès la première séance, qui se poursuit dans le temps, sans variation de la viscosité plasmatique ni de l'hématocrite (28).

Enfin Isogai a utilisé une technique élégante pour visualiser l'hémodétournement: l'étude de la distribution du flux sanguin des membres par injection de microsphères d'albumine radiomarquées dans les artères fémorales amène les constatations suivantes: chez les témoins, l'essentiel de la radioactivité est détectée au niveau des membres inférieurs; chez les diabétiques atteints de gangrène distale, il existe une accumulation pulmonaire, interprétée comme la conséquence de shunts dans la circulation périphérique (66).

Si l'on considère individuellement (et artificiellement) chacun des 3 composants de la viscosité sanguine, leur rôle pathogène se conçoit ainsi:

- l'hyperviscosité plasmatique est un facteur d'élévation des résistances circulatoires, induisant une élévation des pressions de perfusion, une vasodilatation, une transsudation accrue et la synthèse de matériel conjonctif (96);

-le phénomène de l'agrégation érythrocytaire est plus complexe: un certain degré d'agrégation est physiologique et, en attirant les cellules en un manchon central et en élargissant la couche plasmique périphérique, diminuerait ainsi les résistances et favoriserait le flux sanguin; l'exagération pathologique de l'agrégation fait intervenir d'une part l'augmentation des résistances vasculaires avec élévation des contraintes de cisaillement à la paroi, élévation des pressions de perfusion, hyperperméabilité aux protéines, réduction des vitesses circulatoires, et d'autre part l'exclusion temporaire de certains territoires capillaires par la facilitation de l'ouverture des shunts (24,97,140,141); une hyperagrégation érythrocytaire peut provoquer le phénomène de "plasma skimming" où les capillaires ne sont plus perfusés que par du plasma (écrémage): cela est à prendre en compte dans l'interprétation des angiographies rétiniennes où la fluorescéine liée aux protéines ne reflète que la diffusion du plasma seul (77);

-si la déformabilité érythrocytaire représente un phénomène réduisant la résistance à l'écoulement, il faut souligner qu'elle intervient, à la différence de l'agrégation, aussi dans les zones de fortes vitesses de cisaillement, en particulier dans la macrocirculation, et par suite une réduction de déformabilité a été incriminée aussi dans la pathogénie de l'athérosclérose du diabétique (98).

#### d. La viscosité plasmatique au cours du diabète

La majorité des nombreuses études réalisées sur ce sujet met en évidence une élévation de la viscosité plasmatique chez le diabétique. On cite en particulier :

-les travaux de H. Schmid-Schonbein comparant 77 diabétiques de type 1 ou 2 à 58 témoins et retrouvant une hyperviscosité plasmatique chez tous les diabétiques (132);

-l'étude de Lowe portant sur 38 diabétiques de type 1 de moins de 50 ans d'âge et retrouvant une élévation de la viscosité plasmatique et du fibrinogène, aussi bien dans le groupe avec rétinopathie que chez les patients indemnes d'atteinte oculaire (93);

-l'étude de McMillan portant sur 45 diabétiques et montrant une hyperviscosité plasmatique, non influencée par la durée du diabète (moins ou plus de 5 ans d'évolution) mais plus marquée chez les patients atteints de MAD (96).

Cette hyperviscosité plasmatique ne dépend pas de l'urée ni du glucose puisque la viscosité de l'ultrafiltrat plasmatique est sensiblement constante (in 49). Les variations du fibrinogène sont essentielles mais ne sont pas seules en cause car la viscosité du sérum reste modérément élevée. Les variations de viscosité dépendent essentiellement des modifications des protéines plasmatiques décrites en particulier par McMillan (96). Celui-ci avance en effet les faits suivants:

-toutes les protéines plasmatiques sont modifiées dans le diabète, mais on constate en particulier une élévation des protéines dites de phase aigüe (fibrinogène et  $\alpha_2$  globulines) et une diminution de l'albumine, ce en dehors de tout stress récent;

-la viscosité plasmatique dépend plus des macromolécules élongées (fg,  $\alpha_2$  globulines) que des molécules sphériques (albumine); c'est le changement de la distribution des formes des protéines qui est responsables de l'hyperviscosité plasmatique du diabétique;

-ces modifications des protéines ne sont pas spécifiques du diabète, retrouvées dans d'autres pathologies comme la polyarthrite rhumatoïde; par ailleurs, on observe des manifestations de rétinopathie similaire à celle du diabète dans certaines pathologies comme la maladie de Waldenström où l'hyperviscosité plasmatique est caractéristique;

-ces variations semblent dues à une déviation de l'utilisation hépatique des acides aminés depuis la synthèse de l'albumine vers celle des protéines de phase aigüe, liée à la carence insulémique et à l'hyperglucagonémie (106).

La viscosité plasmatique est influencée par le contrôle métabolique du diabète et est susceptible de se normaliser parallèlement à la normalisation glycémique, que ce soit à long terme ou à court terme. A long terme, l'influence de l'hyperglycémie est illustrée par l'étude de Paisey portant sur 12 patients déséquilibrés ( $HbA_{1c} > 12\%$ ) retrouvant une diminution du fibrinogène et de la viscosité plasmatique 8 à 12 semaines après équilibration métabolique ambulatoire (120). A court terme, l'étude de Stoltz déjà citée montre une correction de la

viscosité plasmatique sous Biostator\* (137). Les glycosylations des globulines et du fibrinogène ont été incriminées pouvant induire des changements conformationnels responsables de l'élévation de viscosité, cependant leurs effets rhéologiques sont plus mal connus que ceux de la glycosylation de l'albumine qui favorise l'agrégation érythrocytaire, et d'autre part la correction rapide de l'hyperviscosité plasmatique est en contradiction avec un rôle prépondérant des glycosylations qui sont plus lentement réversibles.

Une autre conclusion de McMillan, plus intéressante, est que ces modifications des protéines et de la viscosité plasmatique, observées de manière aussi importante à la phase précoce du diabète qu'ultérieurement, surviennent *avant* la MAD et constitueraient un marqueur de susceptibilité à la MAD, hypothèse restant à vérifier. Cet auteur constate que parmi les modifications des protéines observées au cours du diabète, seule l'élévation des protéines de phase aiguë (fg, haptoglobine...) responsables de l'hyperviscosité plasmatique est corrélée avec la présence d'une MAD (96). L'étude de Martins Silva, portant sur 29 diabétiques, confirme l'élévation parallèle du fibrinogène et de la viscosité plasmatique et constate une corrélation entre le taux de fibrinogène et le degré de rétinopathie évalué en 4 stades (100). Dans l'étude de Lowe déjà citée, le fait que l'hyperviscosité plasmatique soit présente chez de jeunes diabétiques avant toute rétinopathie, suggère aussi qu'elle joue un rôle pathogène, hypothèse à confirmer par étude prospective (93). Pour d'autres auteurs cependant, les modifications des protéines plasmatiques ont été retrouvées absentes ou discrètes chez les enfants diabétiques et chez les patients indemnes de MAD, et sont donc considérées comme une conséquence de la MAD. Paisey qui étudie deux groupes de 10 patients appariés en tous points notamment sur le plan métabolique ne retrouve pas de différence quant à la viscosité plasmatique entre les patients avec ou sans MAD mais l'échantillon est faible et la possibilité de complication infraclinique non vérifiée (120).

#### e. L'agrégation érythrocytaire au cours du diabète

L'agrégation érythrocytaire a été particulièrement étudiée *in vivo* par Knisely qui a utilisé pour la désigner le terme de "sludge" (boue) (76). Ce phénomène résulte d'un équilibre énergétique entre forces d'agrégation et forces de répulsion:

-les forces d'agrégation font intervenir un pontage entre deux hématies par l'intermédiaire de macromolécules comme le fibrinogène et les globulines; la nature des structures d'adsorption n'est pas connue;

-les forces de répulsion comprennent: 1. l'énergie électrostatique des hématies chargées négativement grâce à leur forte teneur en acide sialique-2. l'énergie mécanique due au cisaillement dans l'écoulement: il existe une relation linéaire entre contrainte et désagrégation-3. l'énergie mécanique due à la déformation de la membrane érythrocytaire, initialement concave, au moment du pontage, qui explique qu'une diminution de déformabilité puisse entraver l'agrégation (139 à 141).

Ce phénomène d'agrégation se manifeste ainsi à faible taux de cisaillement, les hématies formant des rouleaux susceptibles de s'organiser en structures secondaires (réseaux ou blocs) et responsables de l'augmentation de la viscosité du sang à faible taux de cisaillement. L'agrégation érythrocytaire surviendra préférentiellement au niveau des veinules post-capillaires, zones où le taux de cisaillement est le plus faible. C'est donc un phénomène fondamental pour la microcirculation.

Au cours du diabète, les mêmes modifications des protéines plasmatiques déjà décrites, à savoir l'augmentation des protéines allongées comme le fibrinogène, renforcent la tendance à la formation des rouleaux. On cite ici deux études de l'agrégation érythrocytaire *in vitro* au moyen d'un rhéophotomètre ou rhéoscope, dispositif composé d'un viscosimètre à cône transparent équipé d'un microscope, pouvant être couplé à un analyseur informatique d'image, et permettant de mesurer la vitesse d'agrégation et la force de cisaillement nécessaire à la dispersion des rouleaux, et donc de quantifier le phénomène d'agrégation:

-H. Schmid-Schonbein observe chez 77 diabétiques de type 1 ou 2 une augmentation de la vitesse de formation des agrégats érythrocytaires et une résistance mécanique accrue de ces

agrégats à la dispersion,quels que soient l'âge,la durée du diabète, l'état métabolique et l'existence ou non d'une rétinopathie;cette tendance est plus marquée en cas d'infection;elle est liée à des modifications de la composition du plasma,comme le montrent les mesures sur érythrocytes suspendus dans un plasma témoin (132).

-Satoh étudie l'agrégation érythrocytaire chez 28 diabétiques de type 1 répartis en 3 groupes selon que la rétinopathie est absente,simple ou proliférative;il note une vélocité d'agrégation significativement accrue dans le groupe rétinopathie proliférative;cette vélocité est corrélée avec le taux d'HbA1c,d'a2 globulines,de fibrinogène et avec le rapport a2 + fg/alb; Satoh suggère que l'hyperagrégation peut s'expliquer,non seulement par les modifications des taux des protéines plasmatiques,mais aussi par la glycosylation non enzymatique des protéines du plasma et de la membrane érythrocytaire qui favoriserait le pontage intercellulaire ou diminuerait la répulsion électrostatique (130).

Un travail plus récent de Le Devehat utilise la mesure de l'agrégation érythrocytaire par la méthode de rétrodiffusion laser.Cette technique est en bonne voie de standardisation et permet l'accès à de nombreux paramètres,notamment la cinétique d'agrégation et surtout de désagrégation,et semble bien refléter les perturbations rhéologiques observées in vivo.Les résultats préliminaires obtenus sur plus de 200 diabétiques suggèrent des perturbations de tous les paramètres étudiés chez tous les patients,présentes même dans le groupe bien équilibré,et plus importantes chez les patients mal contrôlés et surtout chez ceux porteurs d'une angiopathie (soumis pour publication).

L'augmentation de l'agrégation érythrocytaire chez le diabétique est par ailleurs démontrée in vivo par l'examen des vaisseaux conjonctivaux (41,65) (cf 2ème partie).

#### f.La déformabilité érythrocytaire au cours du diabète

\*Les principaux déterminants de la déformabilité érythrocytaire sont (in 49,139):

-extrinsèques d'une part: .la contrainte exercée par le plasma sur l'hématie,  
.l'hématocrite qui favorise l'alignement et provoque une déformation par entassement;

-intrinsèques d'autre part: à l'origine de la réduction de déformabilité érythrocytaire observée chez le diabétique,on a incriminé tour à tour les facteurs suivants:

.la glycosylation de l'hémoglobine, déjà impliquée dans l'augmentation d'affinité pour l'oxygène mais finalement récusée quant à ses effets sur la déformabilité qui restent mineurs (gène au mouvement de chenillette de la membrane);

.le rôle du contenu intraglobulaire en ATP et en 2-3 DPG a été suggéré mais a un effet indirect,passant par une diminution de la phosphorylation de la spectrine;

.le rôle de l'accumulation intraglobulaire de sorbitol est minime (4);

.l'augmentation de la microviscosité membranaire des hématies est une des hypothèses actuellement retenues;mise en évidence par des techniques de polarisation de fluorescence,cette réduction de fluidité serait en rapport avec des modifications du rapport cholestérol/ phospholipides membranaires, et avec la glycosylation et la phosphorylation des protéines membranaires;

.l'altération du système spectrine-actine déterminant la forme de l'hématie est l'autre hypothèse en vogue,la phosphorylation de la spectrine étant supposée insuline-dépendante.

\*On a décrit,en dehors du diabète,une réduction de la déformabilité érythrocytaire dans les circonstances suivantes:

-élévation des taux circulants de catécholamines et de PGE2 ;

-élévation de l'osmolalité plasmatique,des corps cétoniques,des acides gras libres, acidose;

-hypoxie:on observe ainsi des hématies rigidifiées ou ecchynocytes dans le sang veineux des alpinistes où la protéinurie est fréquente et chez les rats diabétiques hypoxiques (in 135).

\*De multiples techniques ont été utilisées pour apprécier la déformabilité érythrocytaire chez le diabétique:

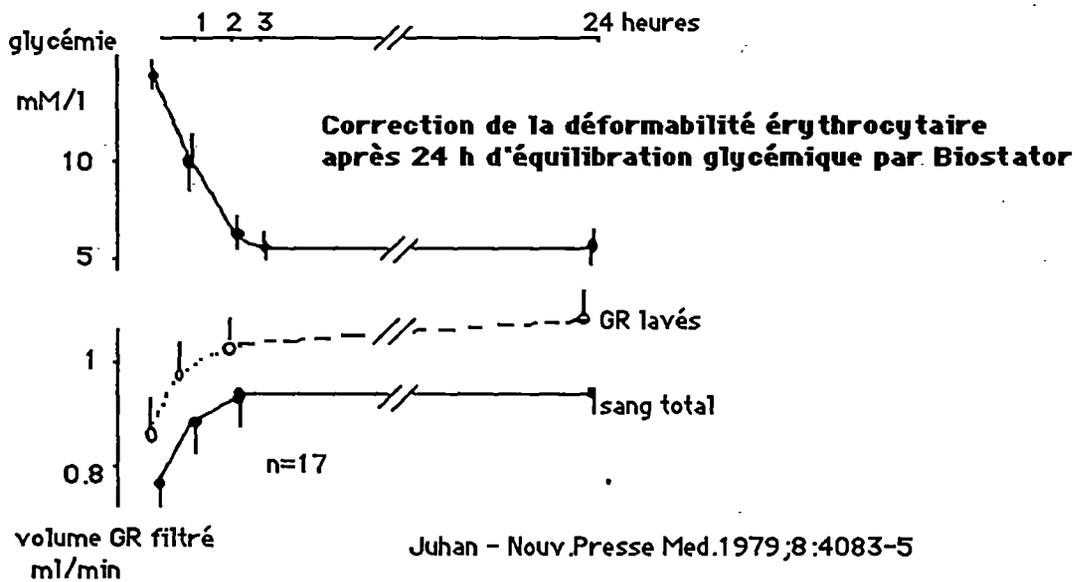
Les méthodes de filtration étudient les conditions de passage des hématies au travers de filtres de polycarbonate dont le diamètre des pores est de 3 à 5 µm et ont été très employées avec des conclusions variées;on cite en particulier:

-l'étude de Schmid-Schonbein portant sur 77 diabétiques (filtre Nuclepore de 5µm, mesure du débit sous pression de 5 cm H<sub>2</sub>O,hématies suspendues dans plasma autologue ou normal) révèle une réduction de déformabilité,qui n'est pas corrélée avec la durée du diabète ni avec la présence de MAD,mais fortement corrélée avec l'équilibre glycémique,régressant après normalisation glycémique;la rigidité des globules de diabétiques ou de témoins paraît dépendante de facteurs extrinsèques plasmatiques,elle augmente en cas d'accumulation de lactates,de corps cétoniques et d'acides gras libres,elle diminue si les hématies sont suspendues dans du plasma normal (132);

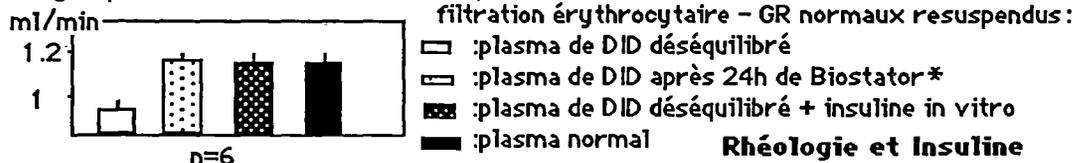
-l'étude de Barnes portant sur 64 diabétiques de plus de 20 ans d'évolution (filtre 5µm, mesure sur sang total) retrouvant une réduction de déformabilité chez les patients ayant une MAD sévère (5);

-les travaux de Juhan et Vague (70-72,147),mesurant la filtration érythrocytaire sur filtre de 5µm,de sang total puis d'hématies lavées de diabétiques ou de témoins,suspendues dans du plasma déplaqueté de diabétique ou de témoin,avant puis après équilibration glycémique par Biostator\*,et après clamp hyperglycémique,arrivent aux conclusions suivantes:

.la déformabilité est réduite chez le diabétique,en corrélation avec l'HbA1c et le niveau glycémique,et l'anomalie est rapidement réversible sous Biostator\* parallèlement à la normalisation glycémique, suggérant une anomalie fonctionnelle (comme un trouble de phosphorylation de la spectrine) et non pas structurale (comme la glycosylation des protéines membranaires);



.la réduction de déformabilité s'observe aussi bien sur sang total que sur hématies lavées, ainsi que sur hématies normales suspendues dans du plasma de diabétique non contrôlé,et est corrigée par l'addition d'insuline in vitro;



.la technique de clamp hyperglycémique permet de montrer que c'est la carence insulinique et non pas l'hyperglycémie elle-même qui est pathogène ici;

.l'effet bénéfique de l'insuline,observable in vitro et in vivo,se manifeste non pas par le biais de quelque effet métabolique plasmatique (acides gras ou autre) mais par effet direct sur le récepteur érythrocytaire de l'insuline dont l'existence est démontrée (56) mais l'effet mal connu (phosphorylation de la spectrine?);

-l'étude de Bareford portant sur 83 diabétiques de type 1 mal équilibrés, utilisant cette fois des filtres de 3  $\mu\text{m}$ ,contredit ces résultats puisque aucune diminution de filtrabilité n'est observée;si on augmente la concentration de glucose du milieu de suspension des hématies, la déformabilité érythrocytaire ne diminue modérément qu'à partir de 50 mmol/l,effet prévenu par le sorbinil mais pas par l'insuline in vitro;l'auteur cite trois autres études ne retrouvant aucune anomalie de filtration érythrocytaire chez le diabétique (4).

L'utilisation de *micropipettes* de verre de 4  $\mu\text{m}$  de calibre est une autre approche plus physiologique de la déformabilité érythrocytaire.Mac Millan observe ainsi une réduction de déformabilité chez le diabétique sur des hématies lavées suspendues dans un milieu standard (97).

La mesure par un *rhéoscope* de différents paramètres de déformabilité des hématies soumises à des forces de cisaillement est une troisième méthode.Utilisée par Williamson chez 10 diabétiques,elle ne révèle aucune diminution de déformabilité;si au préalable on isole par centrifugation les 10% d'hématies les plus vieilles et les 10% les plus jeunes,on note que les vieilles hématies,aussi bien chez les diabétiques que chez les témoins,ont une déformabilité réduite;Williamson conclue ici que la glycosylation de l'hémoglobine,de la spectrine ou de la membrane érythrocytaire ne joue donc aucun rôle sur la déformabilité et que celle-ci ne dépend que de l'âge cellulaire (159);cet auteur suggère que les anomalies décrites par Schmid-Schonbein,Juhan ou McMillan sont trop subtiles pour être détectées par le rhéoscope,et par suite innocentes dans la pathogénèse de la MAD;par ailleurs,si les érythrocytes de diabétiques étaient moins déformables,ils seraient rapidement éliminés par la rate avec les érythrocytes sénescents,avant d'exercer un rôle pathogène sur les vaisseaux,cette suggestion étant étayée par la mise en évidence d'une réduction de la demi-vie des hématies de diabétiques marquées au chrome51 correctible par l'équilibration glycémique.

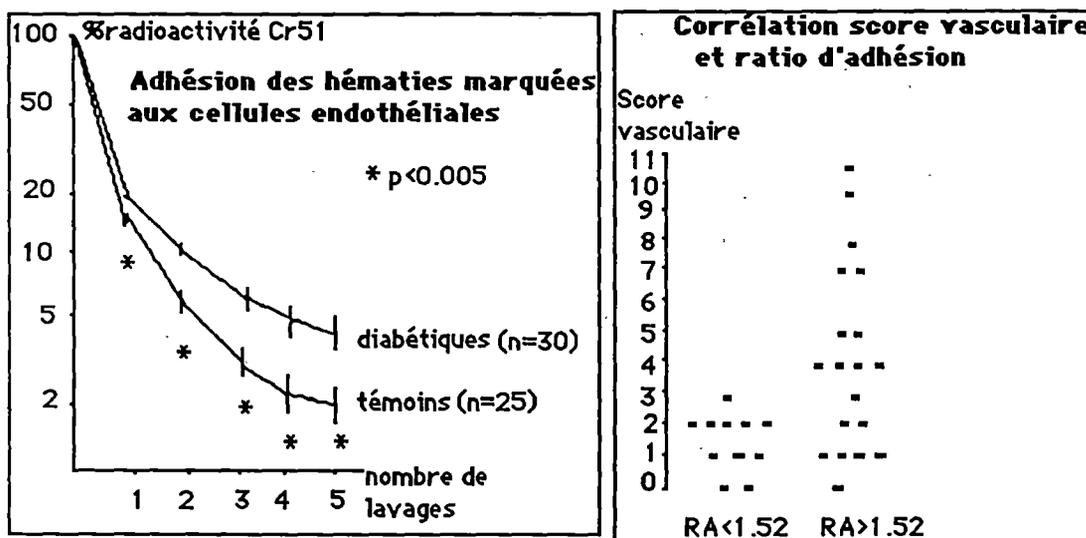
\*En résumé,la réduction de déformabilité érythrocytaire chez le diabétique est une notion fréquemment avancée mais encore controversée,en raison de problèmes méthodologiques.La mesure de la filtration expose à de nombreux artefacts:hyperleucocytose,hyperosmolalité plasmatique, macrocytose modifient les mesures;les filtres de 5  $\mu\text{m}$  sont pour certains trop sensibles à la contamination par les leucocytes et on doit leur préférer les filtres de 3  $\mu\text{m}$ ;les conditions de mesure (hématies lavées,suspendues dans un milieu standard,hématocrite corrigé,facteur protéique plasmatique éliminé) sont très éloignées de la physiologie;enfin la dépendance étroite de la déformabilité et du contrôle métabolique peut expliquer les divergences de la littérature.Surtout ce phénomène joue un rôle prépondérant au niveau des fortes vitesses circulatoires et est moins fondamental que l'agrégation érythrocytaire au niveau de la microcirculation.

### g. La viscosité apparente du sang total au cours du diabète

La viscosité du sang total est une fonction de l'hématocrite, de la viscosité plasmatique, de l'agrégation et de la déformabilité érythrocytaire. La suite logique de ce qui vient d'être exposé est qu'il existe une hyperviscosité sanguine chez le diabétique, à hématocrite constant. De fait, celle-ci est mise en évidence par la plupart des auteurs, en particulier ceux déjà cités (5, 49, 93, 97, 120, 132); elle est particulièrement nette aux basses vitesses de cisaillement qui règne dans les veinules post-capillaires et qui favorise l'agrégation (augmentation de 15 à 25 %), elle est plus faible aux fortes vitesses de cisaillement (augmentation de 5 à 10 %); fait important, elle peut être retrouvée avant l'apparition d'une MAD (93); elle est plus marquée en cas de MAD sévère (5); elle est sensible au contrôle glycémique (120).

### h. L'adhésivité érythrocytaire au cours du diabète

Wautier a proposé une méthode statique où une suspension d'hématies marquées au chrome 51 est incubée avec une culture de cellules endothéliales humaines; on compte la radioactivité résiduelle après 5 lavages. Les résultats obtenus chez 30 diabétiques et 25 témoins montrent une adhésion érythrocytaire significativement accrue chez le diabétique, avec une corrélation entre le rapport d'adhésion RA (%hématies diabétiques adhérentes/%hématies contrôles adhérentes) et un score semiquantitatif des complications vasculaires. L'addition de fibrinogène au milieu renforce l'adhésion de manière proportionnelle dans les deux groupes, ce qui suggère une anomalie intrinsèque des hématies de diabétiques (155).



Kaul a développé une méthode dynamique utilisant une préparation de mésocaecum de rat; la microcirculation y est perfusée avec une suspension érythrocytaire dont l'hématocrite peut être ajusté, ainsi que la pression de perfusion. On mesure la résistance circulatoire et on observe le flux par vidéomicroscopie. Les résultats chez 10 diabétiques montrent une élévation significative des résistances circulatoires, et une clearance incomplète des cellules après rinçage. On observe en effet une adhésion érythrocytaire, absente chez les témoins, qui est limitée aux veinules, qui s'accroît lorsque la pression de perfusion décroît, et qui est indépendante de facteurs plasmatiques (74).

### i.Synthèse sur les troubles hémorhéologiques du diabète

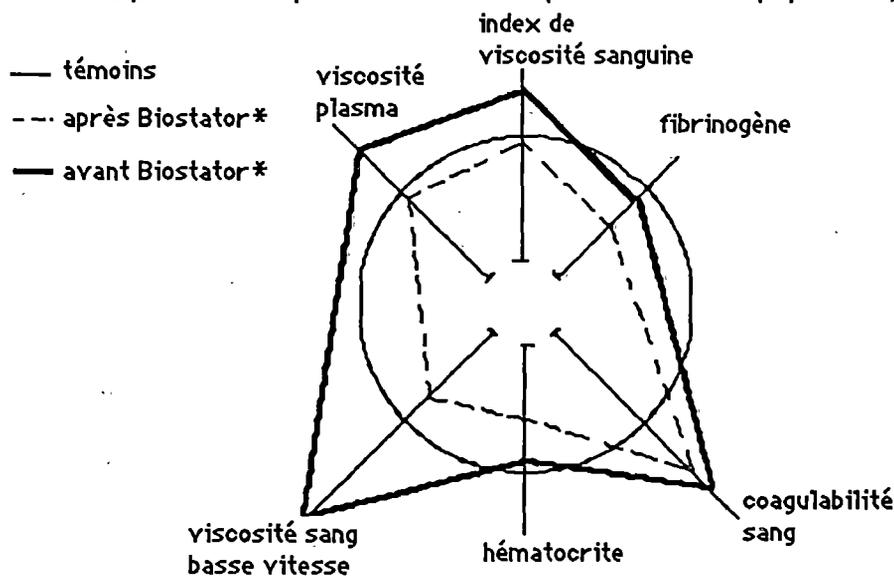
Un certain nombre de remarques doivent être faites sur ce chapitre, la question principale étant celle des rapports éventuels entre les perturbations rhéologiques observées et l'incidence des complications dégénératives:

-les troubles rhéologiques peuvent être très précoces au cours du diabète et présents avant toute complication dégénérative; ils ne sont donc pas secondaires à l'angiopathie;

-les troubles rhéologiques n'ont pas toujours été retrouvés plus intenses chez les patients présentant une MAD; cependant il faut souligner que les paramètres hémorhéologiques peuvent varier rapidement dans le temps, influencés par l'état métabolique, et que leur mesure est ponctuelle comme celle de la glycémie, rendant les corrélations difficiles;

-l'originalité des perturbations rhéologiques est qu'en plus de leur retentissement évident sur le débit tissulaire en cas de vaisseaux à paroi manifestement lésée, elles peuvent induire une maldistribution sanguine par ouverture de shunt en l'absence d'atteinte vasculaire évidente, rhéopathie fonctionnelle pouvant contribuer secondairement à une MAD organique;

-les propriétés rhéologiques du sang sont sous la dépendance du contrôle métabolique du diabète, comme l'illustrent les travaux sur la viscosité sanguine, plasmatique et la filtration érythrocytaire utilisant des pancréas artificiels; une étude récente d'Isogai illustre l'amélioration significative de la viscosité plasmatique et sanguine, du fibrinogène et de l'hématocrite après 24 heures de Biostator\* (66); par ailleurs, le suivi sur 3 ans d'une large série de diabétiques a permis à Le Devehat de montrer que ces trois paramètres restaient normaux chez les patients bien équilibrés sur le plan métabolique; cependant même ceux-ci présentent des perturbations discrètes de l'agrégation érythrocytaire in vitro qui s'impose comme le paramètre le plus intéressant à explorer dans cette population;



-s'il n'y a pas de preuve d'un enchaînement physiopathologique entre rhéopathie et angiopathie, il existe un faisceau d'arguments impliquant les troubles rhéologiques dans la genèse de la MAD. Dans un travail récent portant sur 78 diabétiques, étude prospective sur 3 ans évaluant le devenir de la rétinopathie selon les marqueurs rhéologiques et métaboliques, Barnes note que les 31 patients dont la rétinopathie s'est aggravée au cours des 3 ans avaient des valeurs initiales de viscosité sanguine significativement plus élevées que les 47 dont la rétinopathie est restée stable; il conclut que la viscosité sanguine est le facteur prédictif le plus sensible du devenir de la rétinopathie, de sensibilité prédictive supérieure à celle de l'HbA1c dont les valeurs ne différaient pas entre les deux groupes (6). Les autres travaux actuels portent sur le rôle pathogène de l'agrégation érythrocytaire, dont les moyens d'investigation sont en voie de standardisation; les troubles de la déformabilité trop souvent évoqués et parfois à tort quittent le devant de la scène. Enfin les troubles rhéologiques imputables aux leucocytes sont également à l'étude depuis peu;

-enfin,la plupart des travaux hémorhéologiques portent sur des études réalisées in vitro;il est nécessaire que ces explorations soient bien standardisées,la variabilité des résultats étant importante selon la méthode utilisée (119);d'autre part les transpositions sur les phénomènes observés in vivo doivent être prudentes et utiliser la comparaison avec les résultats obtenus par les méthodes modernes d'exploration microcirculatoire in vivo,comme la vélocimétrie laser doppler ou la TcPO2 (13,87).Dans le cadre de l'étude du rôle des troubles rhéologiques du diabète,l'angioscopie conjonctivale nous paraît un examen particulièrement adapté,car le seul abordant de manière simple l'hémorhéologie in vivo et permettant d'observer l'agrégation érythrocytaire qui en est le paramètre essentiel.

## CONCLUSION

Les travaux réalisés au cours des dix dernières années ont permis:

-d'une part de mettre au point,ou tout au moins d'incriminer un certain nombre d'indices visant à mettre en évidence des anomalies fonctionnelles de la microcirculation potentiellement réversibles et à dépister ainsi les patients à haut risque de microangiopathie diabétique organique,grâce à des techniques peu invasives et pour la plupart reproductibles et en bonne voie de standardisation:on cite notamment :

- .la microalbuminurie et la photofluorométrie vitréenne,
- .les explorations des troubles de perméabilité par technique isotopique ou par capillaroscopie périunguëale et/ou conjonctivale avec vidéofluorométrie,
- .les tests d'hyperhémie réactionnelle utilisant les mesures de pression capillaire ou la vélocimétrie laser-doppler et explorant les troubles de l'autorégulation,
- .les explorations rhéologiques où dominent actuellement la mesure de l'agrégation érythrocytaire,
- .la mesure de pression partielle transcutanée d'oxygène,la recherche d'anomalies tensionnelles,les marqueurs biologiques comme la somatomédine C;

-d'autre part de dégager quelques éléments thérapeutiques,réels ou encore théoriques: optimisation de l'administration d'insuline,modification de la tension artérielle par les inhibiteurs de l'enzyme de conversion,inhibition de l'aldose réductase,utilisation d'anti-agrégants plaquettaires, correction de l'hypophosphorémie,diminution de la viscosité sanguine (hémodilution ou substance agissant sur les propriétés rhéologiques de l'hématie), action sur l'autorégulation du flux capillaire en modifiant la vasomotricité,action sur les somatomédines par la somatostatine.

Dans une deuxième partie,nous envisagerons l'intérêt de l'angioscopie conjonctivale et de sa quantification morphométrique comme autre indice de dépistage précoce de la microangiopathie diabétique.

SECONDE PARTIE : ANGIOSCOPIE CONJONCTIVALE  
ET DIABETE

Dans cette seconde partie, nous présenterons brièvement l'angioscopie conjonctivale, une synthèse des connaissances actuelles sur ce sujet étant remarquablement exposée dans l'atlas publié en 1985 par Carpentier et Franco (16). Nous développerons plus largement la sémiologie conjonctivale chez le diabétique ainsi que les travaux sur les corrélations avec les autres cibles de la MAD, pour aborder enfin les perspectives offertes par cet examen.

## I. PRESENTATION GENERALE DE L'ANGIOSCOPIE CONJONCTIVALE

### A. HISTORIQUE

L'étude de la microcirculation in vivo chez l'homme fut abordée pour la première fois à la fin du 17<sup>ème</sup> siècle par Herman Boerhaave qui choisit pour cela la conjonctive bulbaire. Cependant l'angioscopie conjonctivale naît véritablement vers les années 1950 et devient une technique intéressante aussi bien les cliniciens internistes que les physiologistes. Elle représente en effet une méthode d'examen simple, non invasive, facilement répétitive, de la microcirculation in vivo chez l'homme, permettant d'observer aussi bien certaines perturbations du contenu vasculaire (agrégation érythrocytaire et vitesse circulatoire essentiellement) que les anomalies morphologiques et fonctionnelles du contenant (capillaires mais aussi artérioles et veinules) ainsi que leur retentissement tissulaire.

Le diabète est naturellement devenu un domaine d'exploration privilégié, car générant une microangiopathie conjonctivale particulière. La sémiologie conjonctivale du diabétique a été décrite au cours des années 60 par Ditzel, Davis, Landau et Chazan, en France par Labram et Lestradet. Plus récemment, Lagrue et Maurel ont précisé l'intérêt diagnostique et pronostique de l'angioscopie conjonctivale chez le diabétique. Enfin les premières études quantitatives morphométriques ont été réalisées à partir de 1980 à San Diego par Zweifach, Chen, Fenton et Kovalcheck.

### B. ANATOMIE DE LA CONJONCTIVE BULBAIRE

Le site d'observation de l'angioscopie conjonctivale est la conjonctive bulbaire, muqueuse tapissant la surface antérieure du globe oculaire à l'exception de la cornée et représentant la partie la plus mince de la conjonctive, laissant voir clairement sa vascularisation en transparence.

Il existe plusieurs niveaux de dichotomie dans la vascularisation conjonctivale; en effet:

- on distingue d'une part les régions périphériques temporales et nasales, où on visualise au mieux les artérioles et les veinules, et d'autre part la région du limbe cornéen riche en capillaires dessinant les arcades périlimbiques et nourrissant la cornée;

- la vascularisation conjonctivale comporte deux réseaux superficiel et profond, mieux discernables avec une lampe à fente qu'avec une loupe binoculaire; l'espace sous-conjonctival séparant les deux plexus s'épaissit en cas d'œdème; en pratique seul le réseau superficiel est analysé car la définition y est meilleure;

- sur le plan anatomique proprement dit, ces deux réseaux ont pour origine le système carotidien interne; les artères conjonctivales postérieures forment le réseau superficiel, les artères ciliaires antérieures forment le réseau profond et fournissent les arcades périlimbiques (16, 134).

Il faut souligner ici l'existence de la pinguécula, petite saillie jaunâtre située dans la région périlimbique de part et d'autre de la cornée, plus fréquente avec l'âge et correspondant à des lésions d'élastose liées à l'exposition solaire. Le réseau vasculaire y est très désorganisé et elle est une source d'erreurs d'interprétation et de variabilité dans les études morphométriques.

### C. TECHNIQUE D'EXAMEN

Le matériel utilisé pour visualiser les vaisseaux conjonctivaux comporte d'une part un système optique grossissant permettant des grossissements habituels de x15 à x60, d'autre part une source de lumière froide. Pour notre part, nos examens sont faits à l'aide d'une loupe binoculaire Nachet NS 50 équipée d'un zoom x10 à x50, avec éclairage orthogonal à la conjonctive transmis par le système optique. Toutes nos angiographies sont faites en routine au grossissement de x30 par souci d'homogénéisation et de standardisation des examens. Sur l'un des oculaires est fixé un appareil photographique Olympus OM2N avec flash électronique. Les deux principaux inconvénients de notre dispositif sont d'une part la luminosité assez moyenne liée au zoom, surtout gênante pour la visualisation des capillaires, d'autre part l'éblouissement important lié à l'éclairage orthogonal, source d'œdème photique, de larmoiement et de mouvements oculaires incontrôlés lorsque l'examen se prolonge. Cet éblouissement est minimisé avec les dispositifs à lampe à fente où l'éclairage est tangentiel et focalisé. Enfin il faut citer ici la possibilité d'obtenir directement des clichés de la conjonctive au moyen d'appareil photographique 35mm équipé d'un objectif de 200mm, mais ce procédé n'autorise qu'une analyse morphométrique et prive de l'aspect dynamique de l'angiographie proprement dite (52).

L'examen à la loupe binoculaire se fait chez le sujet en décubitus dorsal et porte successivement sur le champ temporal et nasal des deux yeux. Par parenthèse, dans les études morphométriques princeps de l'équipe de Zweifach, manuelles ou informatisées, détaillées ultérieurement, il n'y avait pas de différence entre les deux yeux. La complexité du réseau microcirculatoire conjonctival nécessite une analyse méthodique et successive des éléments suivants: veinules (calibre, trajet), artériole (calibre, trajet, rigidité), relations veinules-artérioles (rapport V/A, parallélisme, désorganisation), capillaires (raréfaction, hyperhémie), anomalies morphologiques (microanévrismes), agrégation érythrocytaire, anomalies tissulaires. En annexe est présentée la fiche d'examen que nous utilisons.

En toute rigueur, il faut standardiser les conditions d'examen. Ainsi De| Guercio a étudié la microcirculation conjonctivale chez 21 patients non diabétiques atteints de maladies diverses, avec deux examens quotidiens à 8h et 19h, sous un régime alimentaire séquentiel: soit standard, soit hyperprotidique (+ 25-30 g/j/2j), soit hyperlipidique (+ 0.5 g/kg/j/2j). Il ne constate pas de modification de l'angiographie conjonctivale, sauf après charge lipidique où il observe une accentuation de l'agrégation érythrocytaire, une diminution de la vitesse globulaire et une dilatation veineuse (38). Par ailleurs, Ditzel a mesuré le calibre veineux et artériolaire conjonctival, chez 48 témoins et 47 diabétiques traités par une injection d'insuline lente le matin, les clichés photographiques étant pris d'une part à 8h avant l'injection, d'autre part à 17h au moment du pic présumé d'insulinémie. Il constate une vasodilatation veineuse chez tous les diabétiques, ainsi qu'une vasodilatation artériolaire chez les diabétiques récents, et, fait intéressant, cette vasodilatation régresse à 17h. Ce phénomène est attribué à une hypoxie corrigée par l'insuline (44). Enfin, dans l'interprétation correcte de l'angiographie conjonctivale, il faut tenir compte des pathologies locales (par exemple kératoconjonctivite responsable d'hyperhémie) ou générales (syndrome inflammatoire aggravant l'agrégation érythrocytaire).

### D. SIGNIFICATION DE L'EXAMEN

Les observations faites au niveau conjonctival peuvent être extrapolées aux autres microcirculations de l'organisme. Cette notion fondamentale, avancée par Knisely (76), a été démontrée par l'étude de Bjork, tout au moins en ce qui concerne l'agrégation érythrocytaire. Dans cette étude est évaluée l'agrégation érythrocytaire simultanément au niveau conjonctival et mésentérique chez 11 chiens, le sludge étant successivement induit puis corrigé par perfusions de dextrans de différents poids moléculaires. Il existe une corrélation parfaite du degré d'agrégation érythrocytaire aux deux sites de mesure dans 38 observations sur 41 (10). C'est là tout l'intérêt de l'angiographie conjonctivale de pouvoir estimer les perturbations rhéologiques et microcirculatoires de l'organisme à partir d'un site d'observation très accessible in vivo.

## II. SEMIOLOGIE CONJONCTIVALE AU COURS DU DIABETE

### A. Description des anomalies élémentaires

#### 1. Mise en évidence

La sémiologie conjonctivale au cours du diabète ne peut se définir que par rapport à un groupe témoin apparié selon l'âge, et les anomalies observées n'ont qu'une valeur purement statistique. La description de cette sémiologie repose sur les études comparatives réalisées sur de grandes séries par Ditzel (40-44), Labram (80-83,91) et Davies (35-37,162-163).

#### 2. Aspect chez le sujet normal

Chez le sujet normal, la microcirculation conjonctivale est formée d'artérioles et de veinules qui suivent un trajet parallèle, à peu près rectiligne, leur calibre est régulier avec un rapport de diamètre (V/A: veinule/artériole) relativement constant de 2/1 à 3/1. Ces vaisseaux aboutissent après 3 à 4 divisions dichotomiques à angle aigu à un réseau capillaire fin et régulier, partiellement visible. L'étude du courant sanguin intra-vasculaire montre soit une colonne sanguine ininterrompue semblant immobile, soit une onde qui se déplace rapidement, mais sans qu'aucune fragmentation nette puisse être constatée. Enfin l'œdème, responsable d'un aspect gommé du réseau capillaire, est absent et les tissus périvasculaires parfaitement transparents, sans hémorragies ni dépôts hémossidériniques (16).

#### 3. Aspect chez le diabétique

Chez le diabétique, on peut observer 3 ordres d'anomalies touchant soit la morphologie des vaisseaux eux-mêmes, soit le courant sanguin intra-vasculaire, soit les tissus périvasculaires. Toutes les études s'accordent pour hiérarchiser les anomalies observées de la manière suivante:

##### a. Anomalies caractéristiques

Les anomalies les plus caractéristiques, car les plus fréquentes et les plus significatives par rapport aux témoins sont représentées par:

- *les irrégularités de calibre et de trajet des capillaires et des veinules* : ces vaisseaux s'allongent, deviennent tortueux, sinueux, présentent des dilatations ou sacculations et des rétrécissements donnant au vaisseau un aspect moniliforme; l'atteinte capillaire prédomine au pôle veinulaire;

- *les anomalies artériolaires* : les artérioles sont longues, d'aspect rigide et deviennent plus grêles ; les irrégularités de calibre sont plus discrètes qu'au niveau veinulaire; il n'y a jamais de microanévrismes;

- *l'exagération de l'agrégation érythrocytaire intra-vasculaire* : celle-ci est évaluée selon une échelle semi-quantitative définie par Ditzel (41) et perfectionnée par Davies (35) qui distinguent selon la taille et la topographie des agrégats:

.le grade 0: le flux sanguin est parfaitement homogène et rend difficile l'appréciation de la vitesse circulatoire qui est rapide;

.le grade 1: petits agrégats; l'agrégation apparaît au niveau des plus petites veinules sous forme d'un flux finement granuleux laissant apprécier la vitesse circulatoire; le flux reste homogène au niveau des plus grosses veinules et des artérioles;

.le grade 2 : gros agrégats; les petites veinules sont parcourues par un flux discontinu ainsi que de manière moins nette les capillaires et les grosses veinules; le flux reste homogène dans les artérioles; la vitesse circulatoire est ralentie avec des zones de stase;

.le grade 3 : l'agrégation apparaît au niveau des artérioles, dans les 4 champs conjonctivaux; elle persiste de façon très marquée au niveau des autres vaisseaux où on distingue nettement les agrégats érythrocytaires séparés par des espaces de plasma; la vitesse circulatoire est très ralentie avec des zones ischémiques importantes; ce stade correspond au véritable "sludge".

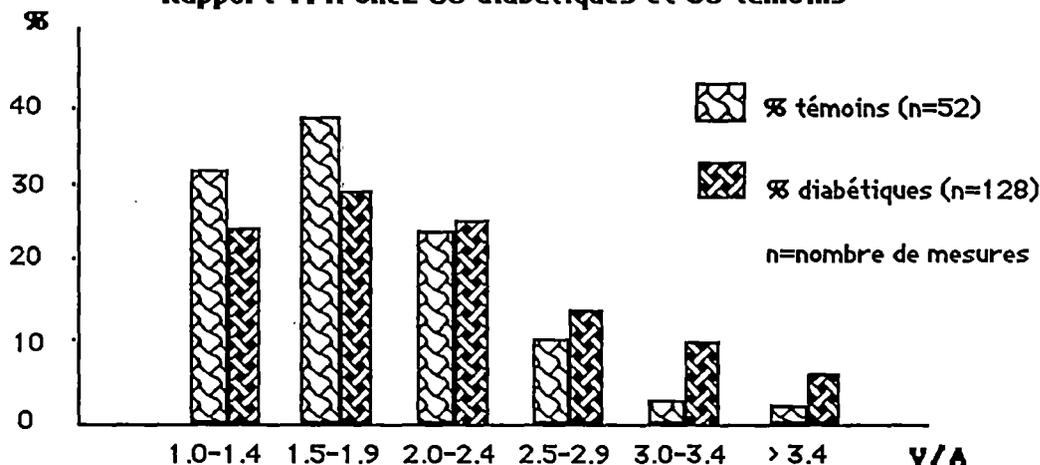
- *l'œdème périvasculaire* qui pour Ditzel est corrélé de façon significative avec la dilatation veinulaire.

Ces données ressortent d'une étude de Labram portant sur 200 sujets normaux âgés de 4 à 20 ans et de 101 diabétiques de type 1 du même âge dont le diabète durait depuis 2 à 10 ans. Cette étude est résumée dans le tableau suivant (82,83) :

Fréquence des anomalies conjonctivales	I. 200 sujets normaux	II. 101 jeunes diabétiques	différence I et II	III. 66 diabétiques bien contrôlés	différence I et III
irrégularités trajet cap.	4.5 %	21 %	+++ p<10-5	11 %	0
irrégularités calibre cap.	0	6 %	+++ p<0.01	3 %	0
irrégularités trajet veinules	11.5 %	63 %	+++ p<10-9	60 %	+++ p<10-6
irrégularités calibre veinules	10 %	36 %	+++ p<10-7	32 %	+++ p<10-4
irrégularités calibre artérioles	0.5 %	10 %	+++ p<0.001	7.5 %	+++ p<0.01
augmentation V/A	4 %	10 %	+ p<0.05	6 %	0
agrégation érythrocytaire st2	1.5 %	7 %	++ p<0.02	1.5 %	0
oedème périvasculaire	0.5%	15 %	+++ p<10-6	1.5%	0
microanévrismes	0	2 %	0	1 %	0

Les anomalies caractéristiques pour Ditzel sont analogues, mais cet auteur souligne également l'importance de l'augmentation du rapport V/A chez le diabétique (43):

#### Rapport V/A chez 88 diabétiques et 30 témoins



Bech - Diabetes 1960;9:441-446

-l'augmentation du rapport V/A : ce ratio est le seul élément relativement facilement quantifiable en angioscopie conjonctivale. Il peut être déterminé directement sur le négatif photographique avec un micromètre, au niveau d'un couple artériolo-veinulaire, à distance des bifurcations. Par cette méthode, Bech a comparé 30 témoins et 88 diabétiques de moins de 50 ans, par des clichés pris dans la zone temporale à distance du limbe péri-cornéen, 2 heures après le dernier repas. Il note ainsi une élévation significative du ratio chez les diabétiques mais celle-ci ne saurait avoir de valeur diagnostique de diabète car insuffisamment spécifique (présente dans l'insuffisance cardiaque droite et d'autres affections). Il n'observe pas d'influence de l'âge ni de la durée du diabète sur ce ratio, mais remarque qu'au cours des 30 premières années du diabète, le rapport tend à s'élever initialement, puis diminue avant de s'élever à nouveau: cette évolution s'explique par la dilatation veinulaire initiale, suivie d'une sclérose veinulaire et enfin d'un rétrécissement artériolaire (9). Cependant pour Labram l'intérêt du rapport V/A est limitée d'une part par ses variations plus ou moins importantes

possibles au cours du nyctémère en fonction de l'insulinémie comme on l'a vu plus haut, d'autre part par ses variations possibles d'un couple artériolo-veinulaire à un autre chez un même sujet (82). Il est généralement le plus homogène au niveau des vaisseaux d'ordre 2 à distance des bifurcations.

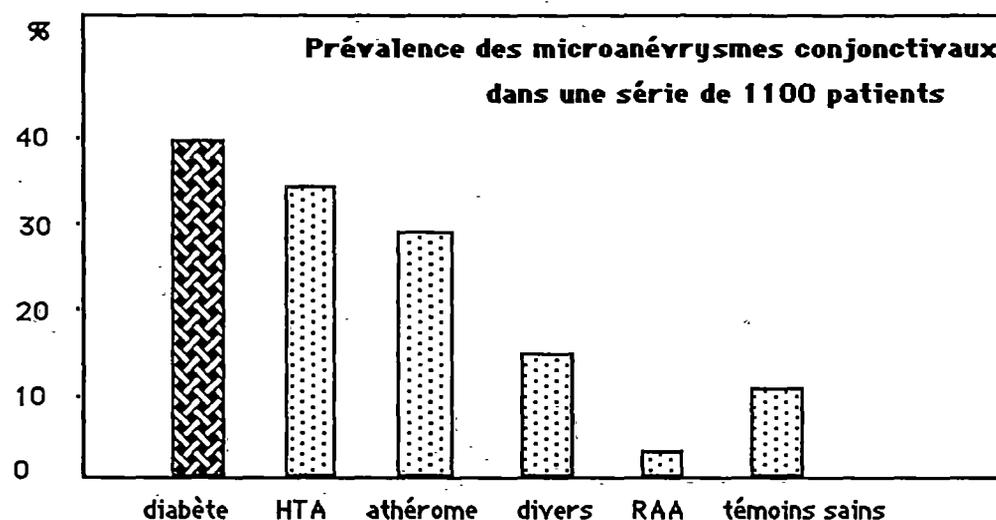
#### b. Anomalies moins caractéristiques

Les anomalies moins caractéristiques, car moins fréquentes ou peu spécifiques, comportent:

- *l'infiltration hyaline* des tissus périvasculaires, qui se présente comme une zone blanc-gris avasculaire. Elle représente un stade évolué d'œdème conjonctival et est retrouvée par Ditzel chez 16% des diabétiques, alors qu'elle n'a jamais été rencontrée par Labram chez le jeune diabétique;

- *l'aspect ischémique d'ensemble* du champ vasculaire est toujours pathologique. Il est retrouvé chez les diabétiques avec MAD très évoluée ou au cours des épisodes de cétose;

- *les microanévrismes conjonctivaux* : définis par la perte du parallélisme des parois vasculaires, ils ont été particulièrement étudiés par Davies, Landau et Chazan et on peut retenir les faits suivants:



Davies - Bibl. Anat. 1965; 7: 543-546

On distingue 3 types de microanévrismes: le type I, sacculaire, le plus rare; le type II, fusiforme, le plus fréquent; le type III, sans connection apparente avec le réseau vasculaire (36);

Les microanévrismes conjonctivaux ont une structure analogue à leurs équivalents rétinien; ils correspondent à une forme de néoangiogenèse secondaire à l'hypoxie et à la stase; cependant, si l'incidence des anévrysmes rétinien dépend surtout de la durée d'évolution du diabète, les microanévrismes conjonctivaux sont également liés à l'âge du patient indépendamment de la durée du diabète (20);

Dans l'étude de Davies portant sur 1105 patients tout venant, des microanévrismes conjonctivaux sont retrouvés chez 14% des sujets sains, 40% des diabétiques, 35,5% des hypertendus et 30% des athéromateux; ils sont plus fréquents dans le champ nasal que dans le champ temporal; il n'existe pas de prédominance d'un type de microanévrisme en fonction de la maladie en cause. Cette étude suggère donc que les microanévrismes conjonctivaux sont caractéristiques mais non pathognomoniques de diabète; cependant l'influence de l'âge est mal explicitée ici (36);

Labram, lui, argumente le rôle de l'âge: dans son étude déjà citée (82) concernant des témoins et des diabétiques jeunes de moins de 20 ans, l'incidence des microanévrismes est nulle chez les témoins et exceptionnelle chez les diabétiques (2%), ce qui confirme les constatations de Ditzel; dans un autre travail (in 20), chez 500 sujets normaux, il note que l'incidence des microanévrismes est de 0% avant 20 ans, de 6% entre 21 et 50 ans et de 14% après 50 ans.

## B.Facteurs de variation de l'angioscopie conjonctivale

### 1.Influence de l'âge

\*Labram a étudié l'influence de l'âge sur l'aspect de la microcirculation conjonctivale, en comparant 205 témoins âgés de 4 à 50 ans groupés par tranches d'âge de 10 ans, à 100 diabétiques de type 1 âgés de 3 à 20 ans dont le diabète évoluait depuis 1 mois à 15 ans et indemnes de MAD rétinienne ou rénale (80,91).

Chez les témoins, il observe une augmentation progressive avec l'âge de la fréquence des anomalies conjonctivales suivantes: les irrégularités de trajet des capillaires, de trajet et de calibre des veinules d'une part, et les modifications extra-vasculaires (oedème et infiltration hyaline) d'autre part. L'agrégation érythrocytaire par contre est peu influencée par l'âge. L'incidence des microanévrismes est ici trop faible pour être analysée selon l'âge. L'analyse correcte du calibre des capillaires et des artéioles a été limitée par l'agrandissement de l'appareil utilisé.

Chez les diabétiques, il constate que les modifications conjonctivales suivantes: trajet des capillaires, calibre des veinules, anomalies extra-vasculaires, et agrégation érythrocytaire, sont beaucoup plus importantes que ne le voudrait l'âge des sujets examinés.

Il ressort de cette étude, complétée par celle portant sur les microanévrismes, deux notions essentielles:

- les altérations conjonctivales observées chez les diabétiques ne présentent pas de spécificité
- celles-ci reflètent un vieillissement vasculaire accéléré chez le diabétique.

L'angioscopie conjonctivale prend donc toute sa valeur dans l'étude des diabétiques jeunes, indemnes de lésions dégénératives liées à l'âge.

\*Laguer et Maurel, dans une étude de 100 sujets de 20 à 70 ans tout venant groupés par tranches d'âge de 10 ans où les altérations conjonctivales sont exprimées sous forme d'un score, tempèrent cette influence de l'âge: en effet, si le score augmente effectivement avec l'âge, cela traduit non pas un vieillissement physiologique mais une augmentation parallèle des facteurs de risque vasculaire avec l'âge (HTA, tabac, diabète, dyslipidémie): les deux seuls items paraissant s'aggraver avec l'âge indépendamment de ces facteurs de risque sont les altérations veinulaires et tissulaires, ces deux éléments étant les plus sensibles à l'irritation de la conjonctive par l'air ambiant, ce qui rend d'ailleurs aléatoire l'interprétation de l'angioscopie conjonctivale après 70 ans. L'observation d'un sujet de 62 ans, sportif, ne présentant aucun des facteurs de risque et qui avait un score remarquablement bas (0.5/10), est particulièrement instructive (103).

\*Fenton enfin, dans une des premières études morphométriques de la conjonctive, observe une augmentation de la densité vasculaire totale avec l'âge dans une population de 131 témoins (52).

### 2.Influence de l'hypoxie corrigée par le traitement insulinique

La réversibilité de la dilatation veinulaire conjonctivale est un phénomène bien documenté par les travaux de Ditzel (42,44). Dans une étude comparant 56 diabétiques de type 1 âgés de 10 à 40 ans traités par insuline lente à 50 témoins de même âge, il note les résultats suivants:

-il confirme l'existence d'une dilatation veinulaire chez les diabétiques, quelle que soit l'heure de la journée; le calibre artériolaire par contre ne présente pas de différence significative

-il montre que la dilatation veinulaire est maximale à 8h et régresse à 16h, tandis que le calibre veinulaire des témoins n'est pas influencé par l'heure, de même que le calibre artériolaire des témoins et des diabétiques

-il n'observe pas d'influence de la glycémie, du dosage d'insuline injectée, sur le calibre veinulaire

-il constate enfin l'influence de la durée du diabète sur la réversibilité de la dilatation veinulaire:

.avant 15 ans, le calibre veinulaire garde sa capacité à se normaliser pendant la journée;

.après 15 ans,la dilatation veineuse est fixée,suggérant une atteinte structurale irréversible;la plupart des patients ont alors des signes de MAD rétinienne;il existe aussi à ce stade une constriction artériolaire.

Ditzel interprète cette variation nyctémérale du calibre veineuse comme un état réactionnel à une hypoxie relative,illustrée par l'élévation du métabolisme basal le matin,et corrigée par l'administration d'insuline.Il constate en effet que la création d'une acidose respiratoire par l'inhalation de CO<sub>2</sub> à 5% pendant 30 minutes entraîne une dilatation veineuse conjonctivale avec ralentissement circulatoire,oedème et constriction artériolaire, cette réaction étant prédominante chez les diabétiques atteints de rétinopathie (114).

### 3.Influence de l'équilibre métabolique

\*La réversibilité des autres anomalies conjonctivales est diversement appréciée selon les auteurs.On peut retenir les faits suivants:

- l'hyperaggrégation érythrocytaire,l'oedème conjonctival,l'ischémie sont susceptibles de régresser à moyen terme de même que la dilatation des veinules et des capillaires
- les irrégularités de trajet des veinules,capillaires et artérioles sont considérées comme fixées par Ditzel mais Labram a pu en constater la réversibilité au moins partielle (80,83)
- l'infiltration hyaline est jugée irréversible (Ditzel);l'évolution des microanévrismes n'est pas caractérisée dans la littérature (Labram a pu ,de rares fois,les voir disparaître à quelques mois d'intervalle: 82).

\*Cette réversibilité est déterminée par un paramètre essentiel,l'état métabolique,aspect particulièrement détaillé dans une étude longitudinale de Labram portant sur 249 diabétiques de type 1 âgés de 4 à 20 ans (83):

-l'acidocétose est susceptible d'induire des altérations conjonctivales sévères avec ischémie, oedème et sludge:Labram a pu les constater chez 16 malades,avec dans 15 cas une régression importante quelques semaines plus tard (la latence n'est pas précisée)

-la phase initiale du diabète est une autre circonstance génératrice d'altérations conjonctivales: celles-ci ont été observées chez 12 patients lors du diagnostic du diabète et avaient régressé dans 7 cas quelques semaines plus tard,même en l'absence de cétose inaugurale.On peut ici faire un parallélisme avec les autres manifestations précoces que sont l'hyperfiltration glomérulaire et la veinodilatation rétinienne

-le mauvais contrôle métabolique,même sans cétose,intervient de façon importante sur l'apparition d'anomalies conjonctivales:l'aggrégation érythrocytaire,les irrégularités capillaires et l'oedème sont les plus sensibles;l'augmentation du rapport V/A l'est également; les irrégularités de trajet et de calibre des veinules et des artérioles sont moins nettement influencées par ce facteur (cf tableau p 36)

-ce potentiel de réversibilité persiste très longtemps,puisque Labram a observé chez deux patients diabétiques depuis 14 et 18 ans,en déséquilibre glycémique chronique,atteints de rétinopathie proliférante,une nette amélioration de l'état conjonctival après quelques mois d'adaptation thérapeutique.Les paramètres conjonctivaux ainsi améliorés et l'évolution rétinienne ne sont malheureusement pas précisés.On remarque que cette durée avoisine le seuil d'irréversibilité de 15 ans fixé par Ditzel.

\*Si l'état métabolique influence la microcirculation conjonctivale à moyen terme,le taux de la glycémie au moment de l'examen n'intervient pas à court terme : telle est la conclusion de Labram d'une part, pour qui dans son groupe de 100 jeunes diabétiques une glycémie supérieure à 2g/l n'intervient guère que sur l'aggrégation érythrocytaire (80),et de Ditzel d'autre part dans son étude des variations nyctémérales du calibre veineuse (42).Cependant la méthodologie employée est grossière et une conclusion rigoureuse sur cet aspect nécessiterait une étude avec pancréas artificiel.

### 4.Influence de la durée du diabète

Elle est diversement appréciée puisque si Labram,dans son groupe de 100 diabétiques de moins de 20 ans d'âge évoluant depuis moins de 15 ans ne trouve pas d'influence de la durée du

diabète sur la microcirculation conjonctivale (80), Ditzel retrouve par contre une nette intervention de ce facteur parmi 70 enfants diabétiques en comparant ceux de moins de 5 ans à ceux de 5 à 13 ans d'évolution (in 80) tandis que la réversibilité de la dilatation veineuse disparaît après 15 ans (42).

#### 5. Influence d'autres facteurs

\* *La grossesse* : l'étude par Ditzel de 70 femmes enceintes diabétiques révèle un aspect conjonctival inchangé pendant les 6 premiers mois, avec aggravation des anomalies vasculaires au cours du dernier trimestre d'autant plus marquée que le diabète est mal équilibré, et réversibilité après l'accouchement de 87% des anomalies; il existe une corrélation entre la mortalité intra-utérine et l'importance des anomalies conjonctivales (41).

\* *Le poids* : on retient que dans un groupe de 75 enfants normaux nés de mère diabétique, Ditzel rencontre des anomalies conjonctivales importantes chez 52% des obèses et 18% des sujets de poids normal; il s'agit cependant d'un facteur indirect car ces patients sont superposables à ceux présentant une HGPO perturbée.

\* *L'hérédité* : ce facteur est abordé là encore dans deux études :

- celle de Ditzel compare 75 enfants normaux nés de mère diabétique à 75 enfants normaux nés de mère normale: les anomalies conjonctivales sont nettement plus fréquentes dans le premier groupe; cependant l'épreuve de l'HGPO révèle que seuls les cas avec tolérance anormale présentent des altérations vasculaires et que les cas avec tolérance normale et ceux avec conjonctive normale sont strictement superposables.

- celle de Labram compare les 92 parents et 63 frères et sœurs de leur groupe de diabétiques de type 1 à des témoins de même âge: il trouve des irrégularités de trajet des capillaires et veinules et de calibre veineux plus fréquentes chez les parents, tandis que les collatéraux ne diffèrent pas des témoins (80).

\* *L'hyperlipidémie* : l'existence d'une hypercholestérolémie ou d'une hyperbétalipoprotéïnémie est corrélée pour Labram à la présence d'un œdème conjonctival, et à un moindre degré à une hyperagrégation érythrocytaire (80).

\* *Le traitement oral* : dans un groupe de 20 patients traités par sulfamides ou biguanides, Labram constate une dégradation régulière de la microcirculation conjonctivale malgré l'amélioration métabolique, avec régression spectaculaire lors du relai par une insulinothérapie (82).

### C.Synthèse

A ce stade de la présentation de la sémiologie conjonctivale du diabétique se dégagent plusieurs notions:

-si aucune des anomalies conjonctivales prise individuellement n'est spécifique au diabète, l'association de tortuosités veinulaires et capillaires, d'une augmentation du rapport V/A, d'une hyperagrégation érythrocytaire et d'un oedème est caractéristique et très évocatrice. Cette association pathologique, sa corrélation quoique contestée avec la durée du diabète, un substratum histologique habituel de la MAD avec des dépôts péri-vasculaires PAS positifs, ont fait proposer par Ditzel la notion d'une angiopathie conjonctivale diabétique spécifique au même titre que la rétinopathie ou la néphropathie diabétique.

-les modifications conjonctivales sont très variables dans le temps et conservent longtemps un potentiel de réversibilité à court ou moyen terme avant de se fixer, ce dont il faut tenir compte dans l'interprétation de l'examen; l'agrégation érythrocytaire et la dilatation veinulaire, facteurs les plus facilement quantifiables, sont aussi les plus facilement réversibles à court terme

-il est commode de schématiser les lésions conjonctivales du diabète en tableaux évolutifs ("patterns") : Yanko et Davies distinguent ainsi deux stades évolutifs:

.le "diabetic pattern" où domine la stase veinulaire, avec dilatation veinulaire et capillaire, augmentation du rapport V/A, tortuosités et sacculations veinulaires, stade bien réversible avec le contrôle métabolique

.l' "ischemic and arteriosclerotic pattern" marqué par une sclérose et un rétrécissement du calibre artériolaire et veinulaire, une normalisation du rapport V/A, une raréfaction artériolaire, une agrégation érythrocytaire très marquée avec importantes zones de raréfaction capillaire, un oedème péri-capillaire, ce stade étant moins souvent réversible (162).

### D.Sémiologie conjonctivale au cours de l'HTA

L'association fréquente de l'hypertension artérielle au diabète justifie une présentation brève des anomalies rencontrées au cours de cet état.

On constate au cours de l'HTA essentielle une raréfaction des capillaires qui deviennent plus grêles, on note aussi une réduction du calibre artériolaire avec augmentation du rapport V/A. Au cours des HTA malignes et des toxémies gravidiques, on observe un sludge, un oedème péri-capillaire et une ischémie marquée (16).

L'association d'une HTA à un diabète se manifeste pour Davies et Yanko par une augmentation de fréquence de l'"arteriosclerotic pattern" et des microanévrismes (163).

Les altérations conjonctivales au cours de l'HTA essentielle, forme maligne exceptée, sont cependant trop modestes pour proposer l'angioscopie conjonctivale qualitative dans le bilan de rentissement viscéral. Les études morphométriques par contre prennent tout leur intérêt ici.

### III. CORRELATIONS ENTRE MICROANGIOPATHIES CONJONCTIVALE, RETINIENNE ET RENALE

#### A. Etudes comparatives

Une première façon d'aborder ce chapitre est d'évaluer de façon comparative le degré d'atteinte conjonctivale dans une population atteinte de rétinopathie et/ou de néphropathie par rapport à une population diabétique indemne de ces localisations de MAD. C'est le but de trois études que nous rapportons ici.

\*Dans une étude réalisée par Ditzel sont comparés un groupe de 60 diabétiques de type 1 de moins de 40 ans, évoluant depuis plus de 10 ans et atteints de rétinopathie isolée (n=34) ou associée à une néphropathie (n=26), et un groupe de 35 diabétiques d'âge équivalent mais indemnes d'atteinte rétinienne ou glomérulaire cliniquement décelable (43). L'angioscopie conjonctivale est réalisée sans connaissance des données cliniques. Il ressort de cette étude les faits suivants:

- toutes les anomalies conjonctivales sont plus fréquentes dans le groupe 1, et de façon significative quant aux irrégularités artériolaires, veinulaires et à l'oedème
- si on exprime les données conjonctivales sous forme d'un score, on confirme qu'il existe une corrélation significative entre le score conjonctival et la présence d'une rétinopathie ou d'une néphropathie
- cette corrélation est retrouvée indépendamment de la durée d'évolution du diabète.

Il faut noter que cette étude ne prend pas en compte le degré d'agrégation érythrocytaire. Surtout, il s'agit d'une étude ancienne, où les moyens de détection de l'atteinte rétinienne et rénale utilisés (fond d'oeil, macroalbuminurie) laissent échapper des atteintes plus précoces aisément décelables par les techniques actuelles. De même, il n'y a pas ici de tentative de quantification de la rétinopathie ou de la néphropathie.

\*L'étude de Yanko tente de prendre en compte la sévérité de la rétinopathie, les anomalies observées au fond d'oeil là encore permettant de définir le groupe dr0 (rétinopathie absente), dr1 (microanévrismes isolés), dr2 (microanévrismes associés à des hémorragies et des exsudats) (162). Sont étudiés 93 diabétiques de type 2 de 45 ans ou plus, 100 témoins et 22 patients atteints de maladies diverses non vasculaires, appariés pour l'âge. L'HTA est absente. Les anomalies conjonctivales sont réparties en stade 1 ("diabetic pattern" où domine la dilatation veinulocapillaire) et stade 2 ("ischemic and arteriosclerotic pattern"). La présence de microanévrismes conjonctivaux et d'un sludge (agrégation érythrocytaire grade 3) est évaluée. Yanko et Davies retiennent les faits suivants:

- les microanévrismes conjonctivaux, s'ils sont plus fréquents chez les diabétiques que chez les témoins ou les autres malades, sont moins fréquents dans le groupe dr2 que dans le groupe dr0 ou dr1; ce signe ne reflète donc pas la gravité de la rétinopathie;
- la présence d'un sludge, si elle est plus fréquente chez les diabétiques que dans les deux groupes de contrôle, n'est là aussi pas plus fréquente dans le groupe dr2 que dans le groupe dr0 ou dr1
- dans le groupe dr2, la dilatation veinulaire (stade 1) est significativement plus rare, et le rétrécissement et la raréfaction vasculaire (stade 2) significativement plus fréquents par rapport aux groupes dr0 et dr1; les auteurs suggèrent que la présence d'un stade 2 doit inciter à chercher une rétinopathie sévère, tandis qu'un stade 1 peut permettre de dépister une intolérance au glucose.

Dans cette étude, Yanko et Davies font également les observations suivantes, qui cependant n'engagent que les auteurs car sans valeur statistique:

- ayant observé des rétinopathies sévères sans anévrismes conjonctivaux, et des rétines normales avec nombreux anévrismes conjonctivaux, ils suggèrent que le développement des anévrismes réiniens et conjonctivaux est indépendant;

-on peut noter des microangiopathies conjonctivales sévères sans atteinte rétinienne; l'inverse est vrai; cela suggère que rétine et conjonctive développent indépendamment leur propre pathologie.

Il faut de cette étude faire deux critiques principales:

-l'influence de l'agrégation érythrocytaire sur la rétinopathie n'est pas correctement prise en compte, car seul le stade 3 de sludge est évalué

-la classification de la rétinopathie ici utilisée reflète-t-elle valablement la sévérité de celle-ci ?

\*Une troisième étude réalisée par Dexel concerne 60 diabétiques, âgés de 18 à 70 ans, évoluant depuis 0 à 26 ans, répartis en trois groupes de 20 selon que la rétinopathie est absente, de grade 1 ou de grade 2 (le détail de cette classification de la sévérité de la rétinopathie n'est pas précisé). Un score d'angioscopie conjonctivale est mis au point, par référence à un groupe témoin de 20 sujets. Cette étude ne retrouve pas de corrélation entre le score conjonctival et le degré d'atteinte rétinienne. Il est observé que le score est plus élevé en cas d'association diabète-HTA et que les patients avec le score le plus élevé présentent également une artériopathie périphérique (39).

### **B.Sensibilité et spécificité de l'angioscopie conjonctivale**

L'équipe de Lagrue et Maurel s'est particulièrement attachée à définir la sensibilité et la spécificité de l'angioscopie conjonctivale dans l'évaluation de la MAD.

\* Dans une première étude (84,85) sont étudiés les paramètres suivants de microangiopathie :

-fond d'oeil complété d'angiographie fluorescéinique, et parfois biopsie rénale

-angioscopie conjonctivale, avec établissement d'un score de 0 à 10 intégrant les anomalies suivantes:

.artérioles et capillaires (calibre, trajet).....	0-1-2
.veinules (calibre, trajet).....	0-1-2
.dilatations fusiformes .....	0-1-2
.microanévrismes.....	0-1-2
.agrégation érythrocytaire.....	0-1/2-1
.vitesse circulatoire.....	0-1/2-1

-biopsie cutanée, avec évaluation semi-quantitative des modifications des membranes basales et des fibres élastiques et collagènes

-mesure de la résistance capillaire par pétéchiométrie à la face antérieure de l'avant-bras

-étude isotopique sur biopsie gingivale, selon une technique mise au point par les auteurs permettant par l'analyse du métabolisme des macromolécules du tissu interstitiel une estimation quantitative de la MAD.

Les auteurs ont ainsi étudié quatre groupes de patients, dont le diabète est de type 1 ou 2, patent ou chimique:

-groupe I : 22 patients diabétiques atteints de MAD rétinienne ou rénale : tous ont une angioscopie conjonctivale perturbée caractéristique de diabète, la dilatation veineuse apparaissant l'anomalie la plus fréquente; l'atteinte cutanée, la résistance capillaire et l'analyse isotopique sont perturbées de façon importante

-groupe II : 31 patients diabétiques indemnes de MAD rétinienne ou rénale, mais avec angioscopie conjonctivale pathologique typique de MAD; l'atteinte cutanée, la résistance capillaire et l'analyse isotopique sont superposables à celles du groupe I

-groupe III : 13 patients diabétiques indemnes de MAD rétinienne ou rénale, dont l'angioscopie conjonctivale anormale est de type athérosclérose mais non typique de MAD; les altérations cutanées, isotopiques et la résistance capillaire sont encore perturbées mais de façon quantitativement moins importante que dans le groupe II

-groupe IV : 100 patients hypertendus, avec une tolérance normale au glucose; 6 d'entre eux présentent une angioscopie conjonctivale de type diabétique; chez ces 6 patients, l'atteinte

cutanée est identique à celle du groupe II, l'indice isotopique est le plus faible des 4 groupes; on note que 3 de ces 6 patients ont des antécédents familiaux de diabète.

Les auteurs tirent de cette étude les enseignements suivants:

-l'angioscopie conjonctivale permet un dépistage précoce de la MAD, cette méthode apparaissant plus sensible que le fond d'oeil ou l'angiographie fluorescéinique. On fait ici deux objections:

.la sensibilité diagnostique vis à vis de la MAD est évaluée par rapport à deux méthodes de référence, l'histologie cutanée et l'étude isotopique, dont on ne connaît pas la signification véritable

.la référence de MAD ayant une signification pratique étant bien évidemment l'atteinte rétinienne ou rénale, la sensibilité diagnostique d'une méthode comme l'angioscopie conjonctivale doit idéalement être évaluée dans une étude longitudinale, appréciant chez les patients présentant des altérations conjonctivales l'incidence ultérieure d'une rétinopathie ou d'une néphropathie. Une telle étude n'a pas encore été réalisée à notre connaissance.

-les altérations conjonctivales ne sont pas spécifiques du diabète puisqu'on les observe chez les hypertendus: à une agression d'origine diverse (métabolique, hémodynamique), la microcirculation conjonctivale ne peut répondre que de manière univoque.

-malgré ce manque de spécificité, les auteurs proposent l'angioscopie conjonctivale comme une méthode très simple de dépistage précoce et de surveillance d'anomalies de la microcirculation susceptibles d'annoncer la survenue ultérieure d'une MAD clinique.

\*Une autre étude de Lagrue vise à comparer la sensibilité et spécificité de l'angioscopie conjonctivale, du fond d'oeil et de l'angiographie fluorescéinique dans le diagnostic d'un état diabétique ou d'une intolérance au glucose (86).

Cette étude concerne 142 patients vasculaires (HTA, athérosclérose) comportant 61 non diabétiques et 81 diabétiques dont 46 diabètes patents et 35 diabètes chimiques.

Les critères diagnostiques retenus étaient, pour le fond d'oeil et l'angiographie rétinienne, la présence de microanévrismes, pour l'angioscopie conjonctivale, 2 des 3 anomalies suivantes: dilatation veineuse avec  $V/A > 3$ , microanévrismes, augmentation du réseau anastomotique profond.

On observe les résultats suivants:

-pour la sensibilité : fond d'oeil 6 % - angiographie rétinienne 26 % - angioscopie conjonctivale 86 %

-pour la spécificité : fond d'oeil 98 % - angiographie rétinienne 94 % - angioscopie conjonctivale 80 %

Cette étude simple suggère que l'angioscopie conjonctivale permet avec une bonne sensibilité de prévoir l'existence d'un trouble de la glycorégulation, en révélant avec une spécificité satisfaisante des signes précoces de MAD. Une application a pu être proposée pour les cas limites où les moyens biochimiques habituels de diagnostic de troubles de la glycorégulation étaient parfois insuffisants (artériopathie ou rétinopathie inexplicables, antécédents familiaux de diabète, prescription d'oestrogènes...) mais ce type d'application paraît désuet.

\*Une conclusion analogue est suggérée par une étude de Davies comparant la microcirculation conjonctivale chez 57 patients présentant un diabète chimique diagnostiqué par HGPO et 29 témoins. On relève dans le premier groupe une forte incidence d'altérations conjonctivales de type "diabetic pattern" ou "arteriosclerotic pattern". Ce même auteur avait par ailleurs noté des perturbations conjonctivales analogues chez les mères de gros bébés, même en l'absence d'intolérance au glucose à l'HGPO. Ces données argumentent la précocité du développement de la MAD au cours du diabète de type 2 (37).

## IV. INTERET DE L'EVALUATION DE L'AGREGATION ERYTHROCYTAIRE IN VIVO

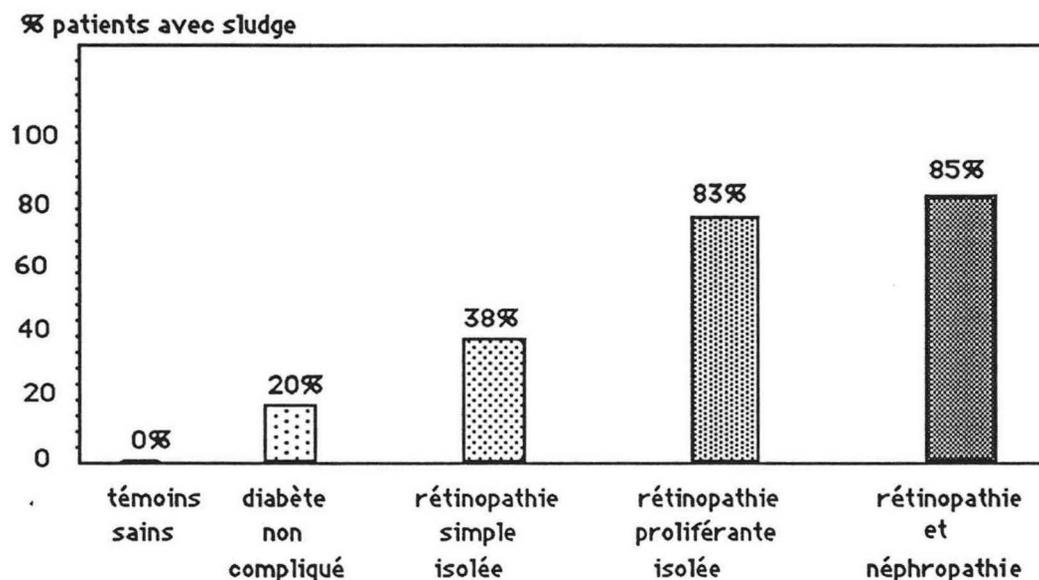
Un des principaux attraits de l'angioscopie conjonctivale est que cette méthode est la seule à permettre la visualisation simple et atraumatique de l'agrégation érythrocytaire intravasculaire dans les conditions physiologiques. Nous rapportons ici quelques travaux consacrés à l'étude in vivo de ce phénomène rhéologique essentiel, dans la pathologie générale d'une part, et dans le diabète en particulier d'autre part.

### A. Agrégation érythrocytaire in vivo et Microangiopathie diabétique

Une augmentation de l'agrégation érythrocytaire est un facteur d'hyperviscosité sanguine impliqué dans la raréfaction de la circulation nutritionnelle, comme on l'a vu dans la première partie. Cela est particulièrement net au niveau de la microcirculation conjonctivale, où la présence d'un sludge s'accompagne généralement d'un ralentissement circulatoire et de vastes zones ischémiques. Il paraissait donc intéressant de chercher à corréler la sévérité de l'agrégation érythrocytaire conjonctivale, reflet de ce phénomène au niveau des autres microcirculations de l'organisme comme démontré par Bjork (10), avec le développement de la MAD. C'est le cas de deux études menées par Ditzel et Isogai.

\*L'étude de Ditzel s'adresse à 70 témoins et 145 diabétiques de type 1 répartis en quatre groupes selon le fond d'oeil et la présence d'une macroalbuminurie: 70 non compliqués; 26 rétinopathie simple; 23 rétinopathie proliférante; 25 rétinopathie + néphropathie (41). L'angioscopie conjonctivale est réalisée sans connaissance de l'état clinique. Les faits suivants ont été observés:

- une agrégation érythrocytaire de grade 1 ou 2 peut se rencontrer chez les témoins (7 cas et 3 cas respectivement sur 70), par contre le grade 3 est toujours pathologique (0/70)
- une hyperagrégation érythrocytaire s'observe de façon beaucoup plus fréquente et plus marquée chez les diabétiques
- l'incidence d'un sludge est d'autant plus importante que les complications de MAD sont plus sévères, comme l'illustre la figure suivante:

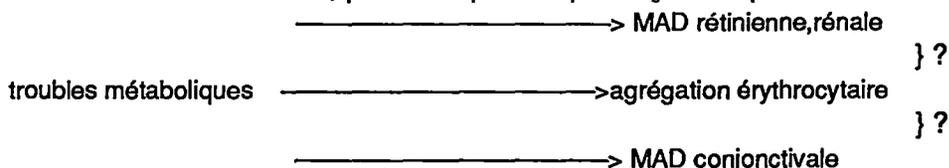


Ditzel - J.Lab.Clin.Med.1959;54:843-59

-l'incidence d'un sludge est d'autant plus importante que les altérations morphologiques des vaisseaux conjonctivaux sont marquées

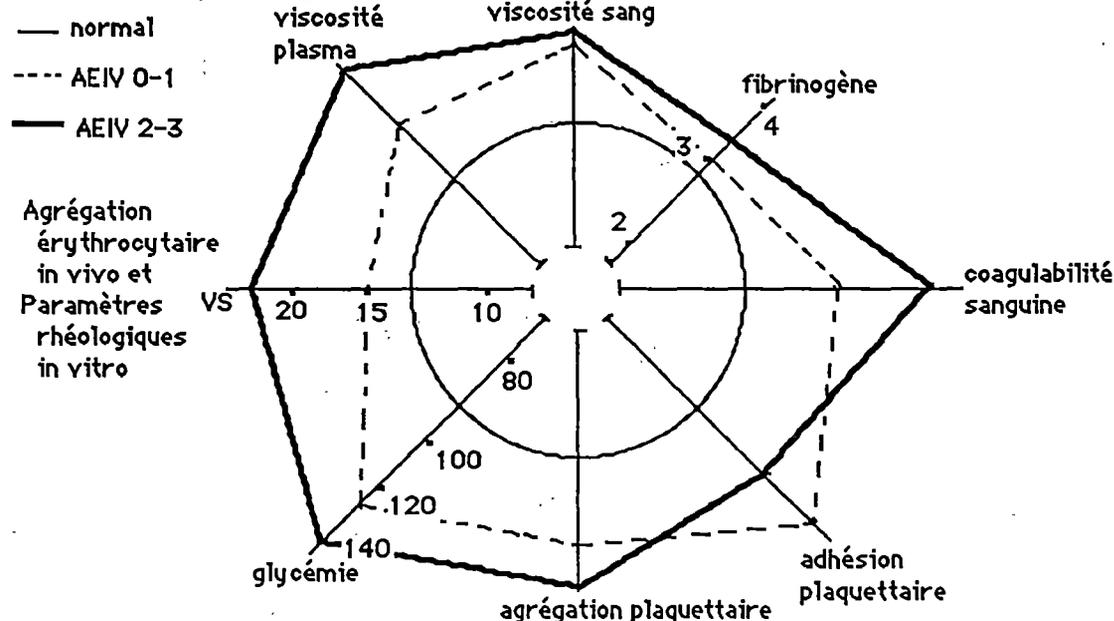
-le degré d'agrégation érythrocytaire est corrélé avec les modifications des protéines sanguines, notamment l'albumine (corrélacion positive) et les globulines alpha1,2 et  $\beta$  (corrélacion négative); l'auteur avait antérieurement montré une association entre la présence d'une rétinopathie ou d'une néphropathie et les modifications de la distribution des protéines sanguines; il note ici que 20 % des diabétiques ont déjà un sludge sans complications de MAD, ce qui suggère que les modifications protéiques précèderaient l'apparition de la MAD.

Cette étude ancienne, qui montre un certain nombre de corrélacions simples entre sludge, MAD, altérations morphologiques conjonctivales, soulève le problème des liens chronologiques et de cause à effet entre ces désordres, questions qui n'ont pas reçu de réponse définitive à ce jour.



\*L'étude d'Isogai complète celle de Ditzel en comparant, vis à vis de la sévérité de la rétinopathie, les données rhéologiques in vivo (agrégation érythrocytaire conjonctivale) et in vitro (VS, fibrinogène, viscosité sanguine et plasmatique, agrégation plaquettaire) (65).

Cette étude s'adresse à 13 témoins et 63 diabétiques de type 2 répartis selon la sévérité de la rétinopathie en deux groupes DR1 et DR2. On fait les constatations suivantes :



-témoins / diabétiques : les paramètres rhéologiques in vitro et in vivo sont tous perturbés chez ces derniers, la significativité n'étant pas précisée

-rhéologie in vivo / in vitro : les paramètres in vitro sont tous plus élevés si l'agrégation conjonctivale est de grade 2 ou 3 que de grade 0 ou 1

-rhéologie in vivo / aspects cliniques : une agrégation conjonctivale élevée de grade 2 ou 3 est associée à une rétinopathie plus sévère et à une durée du diabète plus longue

Cette étude confirme donc l'existence d'une relation entre élévation de l'agrégation érythrocytaire et présence d'une rétinopathie évoluée, et montre de plus une bonne concordance entre les données rhéologiques in vivo et in vitro. Il s'agit cependant là encore d'une étude ponctuelle qui ne montre pas de lien de cause à effet. Il serait notamment intéressant de connaître le devenir de la rétinopathie des patients du groupe DR1 car leur agrégation érythrocytaire diffère.

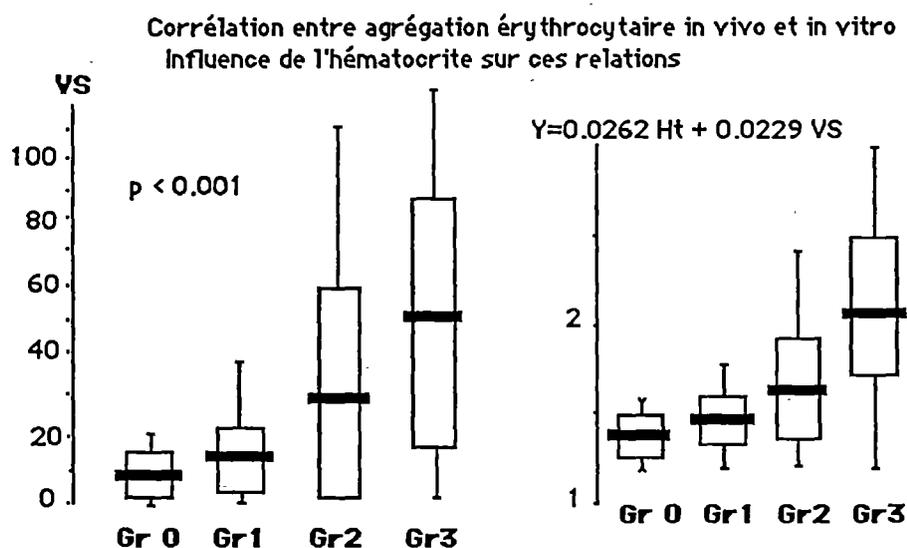
rétinopathie	AEIV grades 0-1	grades 2-3
témoins	13	0
DR1	18	21
DR2	1	23

## B.Agrégation érythrocytaire in vivo et pathologie générale

De nombreux auteurs se sont attachés à chercher une corrélation entre agrégation érythrocytaire in vivo et vitesse de sédimentation globulaire in vitro. Il est important en effet de disposer en clinique d'un indice fiable de ce phénomène rhéologique, permettant la surveillance d'un état clinique ou d'une thérapeutique.

Un premier écueil vient de la difficulté de quantifier l'agrégation érythrocytaire au niveau conjonctival, en ce sens que l'échelle de Ditzel habituellement utilisée est subjective, semi-quantitative et insuffisamment discriminative. De plus, certains comme Davies ne considèrent que le grade 3 (sludge) comme significatif de maladie systémique, les autres grades pouvant se rencontrer chez les sujet sain ou avoir une cause locale.

Ces réserves faites, une telle corrélation est généralement retrouvée mais imparfaite avec de nombreux cas discordants. Dans l'étude de Labram, sur 176 patients, on ne note de façon constante une agrégation conjonctivale que si la VS est au moins supérieure à 35 (81). Dans un groupe de 44 patients ayant une hyperagrégation érythrocytaire in vivo et in vitro, Groth a étudié l'effet d'une perfusion de dextran de bas poids moléculaire connu pour inhiber l'agrégation; il n'observe de modification au niveau conjonctival que dans un tiers des cas, tandis que la VS corrigée pour l'hématocrite est toujours améliorée (60). Dans une large série de 300 patients, Davies note un sludge dans 33 % des cas si VS < 20, 72% si VS > 20, 88% si VS > 40 (35). En fait, dans un groupe de 63 patients, Carpentier qui retrouve une corrélation imparfaite entre VS et agrégation conjonctivale, montre que cette relation est améliorée si on prend en compte le facteur hématocrite qui influence fortement la VS, tandis que les facteurs principaux influençant l'agrégation in vivo sont la fibrinogénémie et l'albuminémie (18).



Carpentier - J.Mal.Vasc.1986;11 :219-223

Plutôt que vouloir corréler ces deux tests, il paraît en fait plus utile de chercher lequel reflète au mieux l'état clinique. C'est le but de l'étude de Davies (35), qui observe une concordance entre les deux tests dans deux tiers des cas. Dans les cas discordants (VS élevée sans sludge ou VS normale avec sludge), c'est le test anormal qui reflète l'état clinique. Les deux tests se complètent donc en tant qu'indicateur de maladie systémique, et l'intérêt de l'angioscopie conjonctivale en routine est de permettre le dépistage de maladies à VS normale par l'objectivation d'un sludge.

## V. QUANTIFICATION DE L'ANGIOSCOPIE CONJONCTIVALE

L'angioscopie conjonctivale est une méthode d'approche qualitative et subjective de la microcirculation, et il n'existe guère que deux paramètres, le rapport V/A et l'agrégation érythrocytaire, pouvant se prêter à une estimation semi-quantitative immédiate. La réalisation d'études cliniques bénéficie grandement de la quantification des données observées.

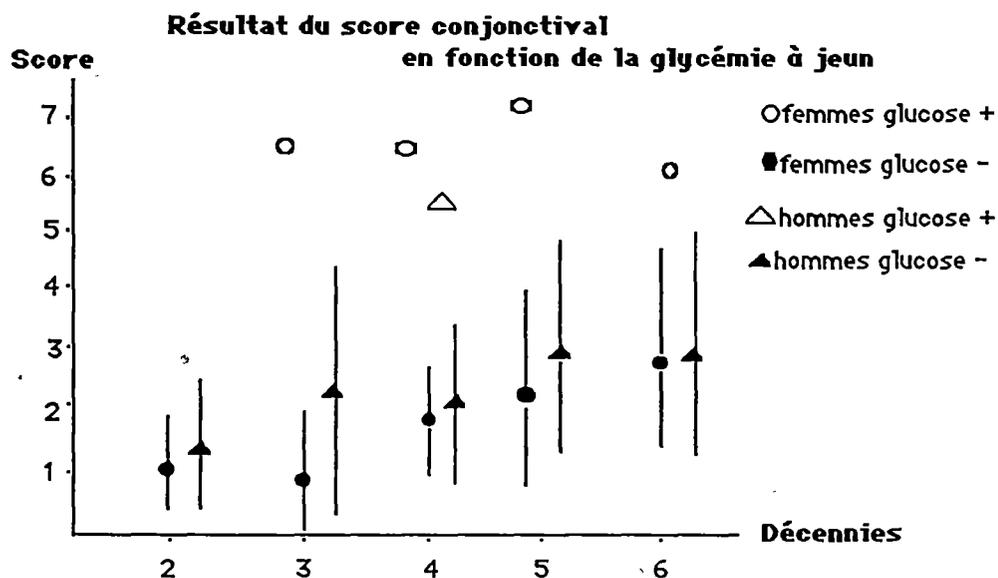
### A. Quantification sous forme de score

La réalisation d'un score ne fait que chiffrer une anomalie selon un barème préalablement établi, ce qui reste d'une grande subjectivité. Etablir un score suppose avoir évalué sur une grande série la fréquence des anomalies caractérisant la maladie en question par rapport à d'autres maladies ou à des témoins; si un paramètre est fréquent (respectivement rare) chez les témoins, il aura une puissance faible (respectivement forte) dans le score.

De nombreux scores ont été proposés pour évaluer l'angioscopie conjonctivale chez le diabétique. Nous rapportons ici celui établi par Maurel et Lagrue car à notre sens il reflète au mieux les caractéristiques de la conjonctive du diabétique (103) : l'examen est coté de 0 à 10 par échelon de 0.5:

.morphologie artériolocapillaire (calibre, trajet, paroi, souplesse, couleur, rapport V/A):	0 à 2
.morphologie veinulaire .....	0 à 2
ces critères morphologiques sont cotés de la manière suivante:	
-aspect normal.....	0
-1 ou 2 items anormaux mais dans une région très localisée.....	0.5
-1 item anormal mais sur l'ensemble des 4 champs étudiés.....	1
-2 items très perturbés sur l'ensemble du réseau.....	1.5
-ensemble des items très perturbés.....	2
.microanévrismes selon leur nombre.....	0 à 2
.dynamique circulatoire (agrégation érythrocytaire et vitesse circulatoire).....	0 à 2
.aspect périvasculaire (oedème, hyalinose, hémorragies, dépôts).....	0 à 2

L'intérêt d'un tel score est illustré par l'étude de ces auteurs portant sur 100 patients tout venant, à priori normaux, chez qui l'angioscopie conjonctivale réalisée sans connaissance de la clinique a permis de dépister 5 diabètes devant un score très pathologique :



Maurel, Lagrue - Art. et Veines 1986;5:131-141

## B. Quantification morphométrique

### 1. La méthode morphométrique

Parmi les paramètres qui conditionnent l'hémodynamique microcirculatoire et la nutrition tissulaire, il faut souligner la place importante que tiennent les caractéristiques géométriques du lit circulaire, à savoir notamment les diamètres, longueurs, densités vasculaires et distances de diffusion intercapillaire.

L'application de principes stéréologiques à la microcirculation conjonctivale permet d'avoir accès à quelques uns de ces différents paramètres. L'analyse morphométrique d'un document photographique de la conjonctive se fait de la manière suivante, décrite par G. Schmid-Schonbein (131).

On utilise une grille calibrée aux carreaux de 4 mm de côté centrés chacun par un point. On délimite tout d'abord la surface à analyser sur le document, choisie arbitrairement selon la qualité technique de la photographie et de la mise au point.

Pour que l'échantillon ainsi choisi soit représentatif, l'équipe de Zweifach estime qu'une surface minimale de 10.6 mm<sup>2</sup> est nécessaire (21). Cependant, si on prend la précaution de choisir la zone de mesure en dehors de la pinguecula, il est probable qu'une surface inférieure soit suffisante. On observe en effet dans la zone périlimbique ou pinguecula une grande variabilité des densités vasculaires tenant à la désorganisation caractérisant cette région. Lorsque la distribution des microvaisseaux est hétérogène, on choisit au moins deux aires de mesure par photo, l'une faiblement, l'autre richement vascularisée, et la moyenne est retenue.

La grille transparente est appliquée sur le document photographique. En comptant le nombre de points de la grille inclus dans la surface d'observation et le nombre d'intersections du réseau microcirculatoire et de la grille, il est possible à partir de formules mathématiques d'estimer l'aire de la zone analysée, la longueur de grille et surtout la densité vasculaire, exprimée en unité de longueur par unité de surface. On réalise au préalable un calque des artérioles, des veinules et des capillaires pour obtenir la densité de chacun de ces types de vaisseaux.

Enfin, pour tenir compte de l'orientation préférentielle des vaisseaux conjonctivaux vers le limbe cornéen, la mesure est répétée deux fois en faisant pivoter la grille de 45°, la moyenne étant retenue. Il faut souligner que les mesures réalisées ne tiennent compte que des vaisseaux fonctionnels, visibles car remplis d'hématies, et ne détectent pas les vaisseaux structurellement présents mais exclus par un shunt.

Les formules mathématiques utilisées pour la morphométrie manuelle sont les suivantes :

-  $S = N_p \cdot c^2$  où S est l'aire de la zone de mesure,  $N_p$  le nombre de points de la grille que l'on y compte, et c le côté du carreau au grandissement du cliché

-  $L = 2 \cdot N_p \cdot c$  où L est la longueur de grille incluse dans la surface d'observation

-  $L_m = (\pi \cdot N_i) / 2 \cdot L$  où  $L_m$  est la densité des microvaisseaux exprimée en unité de longueur par unité de surface, et  $N_i$  le nombre d'intersections du réseau microcirculatoire et de la grille.

G. Schmid-Schoenbein qui a introduit cette méthode a observé, lors d'études morphométriques sur différents tissus (mésentère, muscle), une similitude remarquable des densités vasculaires chez différents animaux sains (131). Il n'existe cependant pas encore, à ce jour, d'études larges permettant de définir des valeurs de normalité des paramètres morphométriques, et les études disponibles sont donc comparatives.

## 2.Applications

Le champ d'investigations réalisées à ce jour avec la morphométrie conjonctivale couvre le domaine du diabète, de l'hypertension artérielle, du sludge et de la pharmacologie.

### a. le diabète

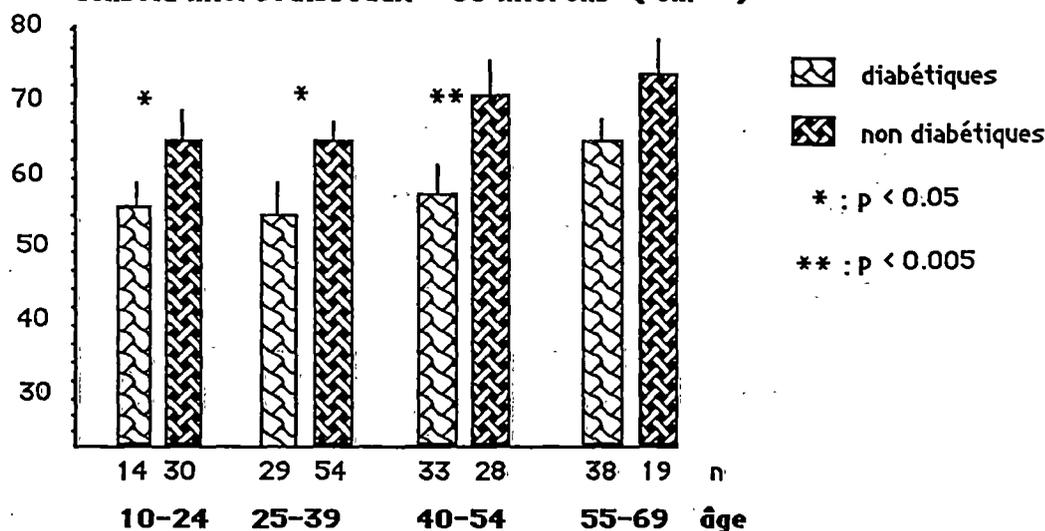
Fenton a comparé 114 diabétiques (type 1 et 2) et 131 témoins, âgés de 11 à 68 ans, regroupés et appariés selon l'âge en 4 cohortes de 15 années chacune (52):

-étudiant la densité vasculaire totale, il note une élévation de celle-ci avec l'âge dans les deux populations. Cependant, dans chaque cohorte, la densité en microvaisseaux des diabétiques est inférieure à celle des témoins, avec une différence significative pour les cohortes 25-39 et 40-44 ans;

-étudiant la densité des vaisseaux de moins de 30  $\mu\text{m}$  de calibre, correspondant essentiellement aux capillaires et aux artérioles, il retrouve là encore une élévation avec l'âge dans les deux groupes, avec chez les diabétiques une valeur significativement plus basse dans toutes les cohortes sauf celle des 55-69 ans (cf figure);

-par contre l'étude de densité des vaisseaux de plus de 30  $\mu\text{m}$ , correspondant essentiellement aux veinules, ne montre pas de différence entre diabétiques et témoins; on note que les capillaires représentent de loin les vaisseaux les plus abondants.

#### densité microvaisseaux < 30 microns ( $\text{cm}^{-1}$ )



Fenton - Microvasc. Res. 1979; 18:153-66

Fenton montre donc qu'à âge égal, les diabétiques ont une plus faible densité en petits vaisseaux de moins de 30 microns. Il fait cependant les remarques suivantes:

-la durée du diabète n'est pas prise en compte ici; elle varie de quelques années à plus de 30 ans, avec une moyenne dans chaque cohorte de 10-11 ans;

-cette étude ne distingue pas les diabétiques de type 1 et ceux de type 2;

-si la distribution des microvaisseaux est uniforme chez les témoins, elle est plus hétérogène chez les diabétiques avec apparition de zones ischémiques; cette hétérogénéité doit être prise en compte dans le choix de la zone de mesure;

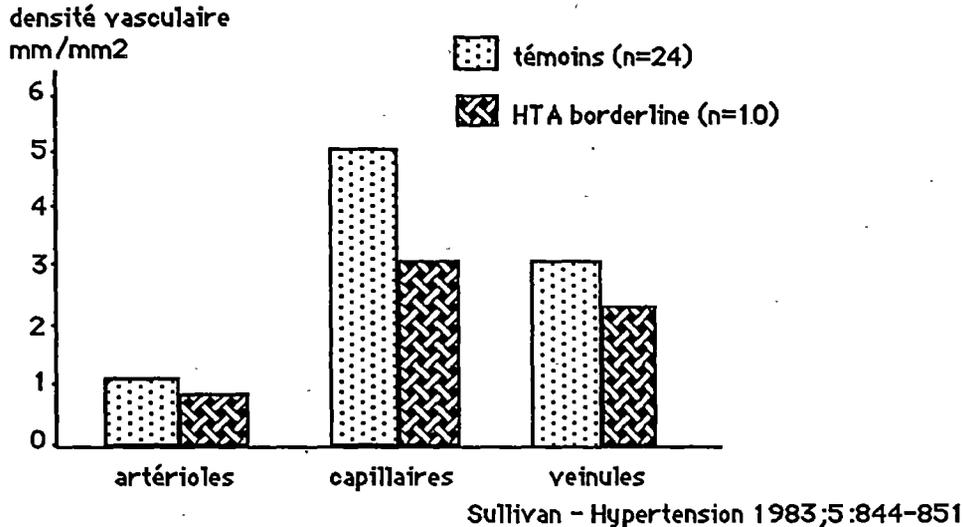
-bien que les anomalies veinulaires (dilatation, tortuosités) soient caractéristiques chez les diabétiques, la densité veinulaire n'en est pas un indice représentatif;

-cette diminution de densité des microvaisseaux chez les diabétiques est-elle d'origine fonctionnelle (shunt rhéologique) ? anatomique ? technique (rétrécissement du calibre des capillaires devenant alors inaccessible à la mesure avec le grandissement utilisé) ? Fenton propose de réaliser les mesures avant et après application locale de vasodilatateur, pour évaluer la part anatomique et fonctionnelle des troubles et l'existence d'une réserve vasculaire.

Une étude ultérieure de Kovalcheck, accélérée par l'usage d'une tablette de digitalisation d'image, portant sur 143 témoins sains âgés de 5 à 79 ans, confirme l'élévation des densités microvasculaires avec l'âge (79).

### b.l'hypertension artérielle

Sullivan a mesuré les densités microvasculaires conjonctivales dans un groupe de 10 jeunes patients présentant une HTA essentielle intermittente ("borderline") par comparaison avec un groupe témoin de 24 sujets. Il observe une réduction significative des densités capillaires, veinulaires et vasculaires totales dans le groupe HTA. De façon intéressante, la densité capillaire est corrélée négativement avec l'index cardiaque déterminé par échocardiographie. L'élévation du débit cardiaque caractérisant donc la phase précoce de l'HTA essentielle s'accompagne donc d'une réduction de densité des capillaires fonctionnels (142).



Ce résultat, qui est à rapprocher d'une étude antérieure de Harper montrant une réduction de la densité artériolaire de 20% dans un groupe d'hypertendus essentiels avérés (62), mériterait d'être confirmé sur une plus large série. Hutchins, qui a cherché à déterminer la part fonctionnelle et structurale de cette réduction de densité artériolaire, étudie des rats de souche SHR (spontanément hypertendus) et des rats de souche WKY (normotendus), la densité artériolaire fonctionnelle est déterminée in vivo (tonus normal), la densité structurale est évaluée après dilatation maximale par injection de latex (atonie). Il observe:

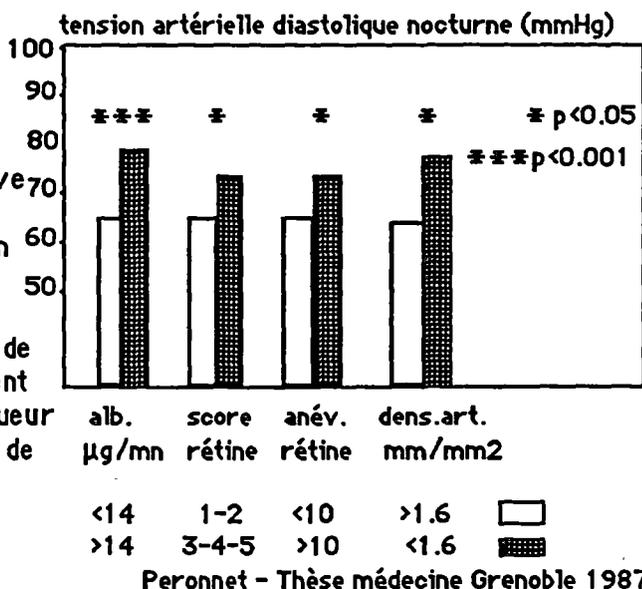
à 3 semaines d'âge, une densité fonctionnelle et structurale identique dans les deux populations

à 6 semaines, au moment où l'HTA s'installe, une raréfaction structurale et fonctionnelle des artérioles chez les rats SHR

ultérieurement, seule persiste une réduction de la densité fonctionnelle, suggérant une aggravation du tonus occlusif avec l'âge (63).

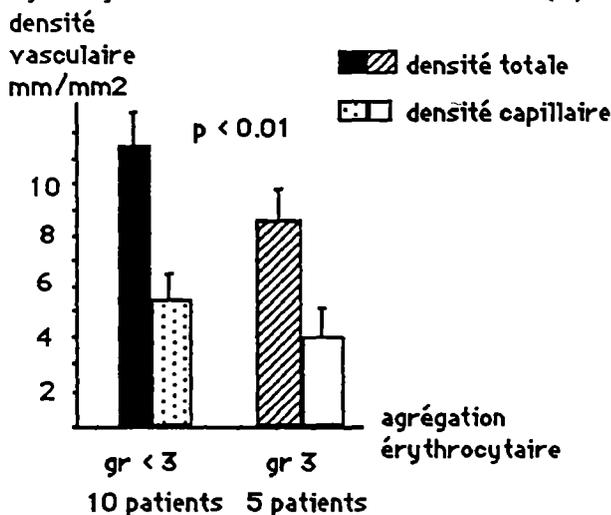
Au cours de l'HTA essentielle, tout se passe donc comme si l'élévation initiale de débit cardiaque était compensée (voire précédée ?) de façon très précoce par une réduction de densité capillaire et artériolaire qui va en s'aggravant. On peut suggérer que cette mesure de densité vasculaire serve d'indice précoce de retentissement des HTA limites, si ces résultats sont confirmés.

Des résultats analogues sont retrouvés par Péronnet sur une population de 16 diabétiques de type 1 non hypertendus: il y a une relation négative significative entre la densité artériolaire conjonctivale (DAC) et la tension artérielle diastolique nocturne (TADN). Si cette étude suggère la TADN comme un indice de risque de MAD sévère, elle permet également de proposer la DAC comme marqueur du caractère supraphysiologique de la charge tensionnelle et comme indice de son retentissement microcirculatoire.



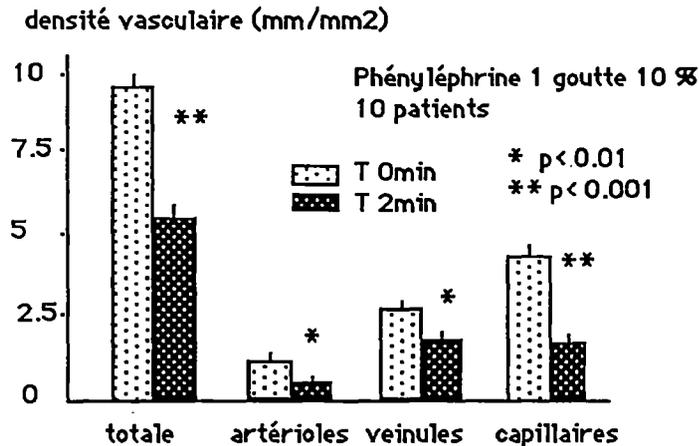
#### c. le retentissement de l'agrégation érythrocytaire

Sur une série de 15 patients de médecine interne, Carpentier a étudié les densités vasculaires conjonctivales et leurs corrélations avec le degré d'agrégation érythrocytaire in vivo évaluée selon l'échelle de Ditzel. Cinq sujets présentaient une agrégation de grade 0 ou 1, cinq une agrégation de grade 2 et cinq une agrégation de grade 3. Il démontre une diminution significative de la densité vasculaire totale et de la densité capillaire chez les patients présentant un sludge (grade 3), argumentant ainsi le rôle pathogène de l'hyperagrégation érythrocytaire sur la circulation nutritionnelle (18).



#### d. les études pharmacologiques

La morphométrie conjonctivale se prête enfin à l'évaluation de l'effet des substances vasoactives, largement utilisées chez les diabétiques, sur les paramètres géométriques de la microcirculation, en apportant un aspect quantitatif plus rigoureux à des études pharmacologiques qui ont été longtemps qualitatives et subjectives dans ce domaine. L'étude des effets aigus d'une substance est facilement abordée par cette technique, comme nous avons pu le montrer en confirmant et quantifiant l'effet vasoconstricteur de la phényléphrine, agoniste  $\alpha$ -1 adrénergique (instillation d'une goutte de collyre à 10% et clichés de la conjonctive à T0, T2 et T4 minutes). L'étude des effets thérapeutiques à long terme se heurte à de plus grandes difficultés de reproductibilité et nécessite des protocoles rigoureux.



### 3. Informatisation des mesures morphométriques

Si les études morphométriques manuelles qui viennent d'être présentées offrent des perspectives intéressantes, elles présentent cependant des inconvénients non négligeables. La méthode manuelle est en effet de réalisation longue et fastidieuse, ce qui est un frein à son utilisation routinière en clinique. Le nombre de paramètres accessibles à la mesure est limité et se résume aux longueurs et calibres vasculaires. La méthode reste enfin subjective, sa reproductibilité dépend de l'expérience et de la subjectivité de l'examineur.

Ces inconvénients ont poussé certains auteurs à appliquer les techniques de numérisation de l'image aux mesures morphométriques. L'équipe de Zweifach à San Diego reste en pointe depuis le début des années 1980 dans ce domaine encore confidentiel.

La digitalisation de l'image passe par un balayage horizontal et vertical du négatif photographique (128 lignes et colonnes) à l'aide d'une fenêtre optique de 200 microns carrés quantifiant les variations de densité des structures rencontrées. Il est restitué une image artificielle où les vaisseaux sont représentés par des pixels dont la couleur s'échelonne selon 256 niveaux de gris. La résolution du système permet la détection des vaisseaux de 8 microns et plus (166).

Les paramètres de base accessibles par ce système sont les longueurs vasculaires, les calibres, le nombre de bifurcations et de segments vasculaires, et les distances de diffusion intercapillaire (index d'ischémie tissulaire). À partir de ces données peuvent être calculés d'autres paramètres (distribution des vaisseaux par classe de calibre, nombre de segments veinulaires, estimation du volume sanguin, etc...) permettant de caractériser de façon fine la géométrie du réseau.

La fiabilité d'un tel système a été testée chez 25 témoins sains. On confirme l'absence de différence entre les deux yeux; la reproductibilité est bonne (variation < 0.02% si le même négatif est analysé 3 fois sur une semaine, contre 1.0% pour la méthode manuelle faite par le même examineur) et les résultats fiables (variation < 5% sur 4 séries de photos d'un même patient prises sur une semaine). Enfin la rapidité des mesures est appréciable : 10 minutes pour analyser une zone de 6.7 mm<sup>2</sup>, contre 2 à 3 heures pour obtenir les mêmes résultats par la méthode manuelle. Les inconvénients du système sont liés à la taille de la fenêtre optique, pouvant faire sous-estimer certains paramètres capillaires, et au mode de caractérisation des vaisseaux selon le calibre et non pas selon le type, pouvant amener une confusion entre capillaires et fines artérioles (22).

Les études cliniques appliquant la morphométrie conjonctivale informatisée sont rares.

-Zweifach s'est adressé à 120 sujets, témoins sains ou diabétiques de type 1 âgés de 16 à 40 ans, tentant de les discriminer entre diabétiques et non-diabétiques. Les diabétiques étaient correctement classés dans près de 90 % des cas, grâce à la détection de changements microcirculatoires conjonctivaux subtiles précédant la détection de toute rétinopathie (166). Ce résultat suggère que certains profils morphométriques aient une valeur diagnostique, mais demande à être confirmé.

-Dans une autre étude s'adressant à des diabétiques de type 1 âgés de 18 à 35 ans,il confirme l'existence de deux types de "patterns" microcirculatoires chez les diabétiques,2/3 des patients présentant un réseau pléthorique,avec augmentation de longueur et de largeur des veinules,1/3 présentant des aires d'ischémie et une réduction globale des longueurs vasculaires (167). L'analyse informatique confirme ainsi les données subjectives établies par Ditzel et Davies.

-Un travail plus récent de Chen s'adressant à 85 témoins,70 diabétiques de type 1 et 45 hypertendus essentiels,répartis par classe d'âge, offre des résultats plus intéressants,mais qui n'ont qu'une valeur indicative et préliminaire,l'interprétation statistique n'étant pas précisée (23):

.il confirme l'élévation des densités vasculaires avec l'âge chez les témoins,portant sur toutes les classes de vaisseaux,le ratio V/A restant inférieur à 2.5

.il retrouve une diminution de densité vasculaire chez l'hypertendu,dans toutes les classes d'âge et toutes les classes de vaisseaux,tandis que le ratio V/A s'élève au delà de 4.5

.chez les diabétiques,les résultats sont en contradiction avec les données établies par Fenton,puisque'on note une élévation des densités vasculaires à tous les âges,sur les veinules mais aussi sur les plus petits vaisseaux,le ratio V/A s'élèvent au de là de 3.5.

Ce dernier résultat,qui quantifie la notion de vieillissement vasculaire accéléré déjà avancé par Labram, peut être interprété comme un mode d'adaptation du réseau vasculaire pour compenser une ischémie tissulaire,la raréfaction vasculaire traduisant le débordement de ces mécanismes adaptatifs.Il souligne la nécessité de prise en compte de la durée du diabète dans ces étude morphométriques,non analysée par Fenton ni par Chen,et l'ampleur de la tâche à accomplir dans le domaine de la morphométrie.Les questions à résoudre sont encore nombreuses:

- définition de la population de contrôle et établissement de valeurs normales
- établissement des indices morphométriques les plus appropriés pour caractériser le réseau
- décrire l'influence respective de l'âge et des maladies sur ces indices
- formuler un index de sévérité de microangiopathie diabétique.

Il faut enfin noter que certaines données caractérisant les anomalies conjonctivales du diabétique, comme les tortuosités vasculaires,les microanévrismes et surtout l'agrégation érythrocytaire,ne sont pas prises en compte dans les programmes informatiques développés par Zweifach,mais cela reste du domaine du possible.

L'angioscopie conjonctivale quantitative,par la numérisation d'une image photographique ou vidéo, devrait donc permettre dans un proche avenir la détection routinière de microangiopathie diabétique ou hypertensive à un stade précoce.

### **C.AUTRES PERSPECTIVES**

La conjonctive bulbaire,par son accessibilité aisée,se prête à l'évaluation quantitative d'autres paramètres microcirculatoires,en particulier la mesure de la vitesse érythrocytaire.

Mayrovitz a développé un système vidéo mesurant cette vitesse chez l'homme.Le flux conjonctival est enregistré sur bande vidéo;deux fenêtres optiques sont placés sur le trajet vasculaire et la vitesse du flux est déterminé entre ces deux curseurs par méthode vidéodensitométrique; le couplage à un ordinateur permet de tenir compte des mouvements oculaires spontanés (104).

Un tel système a été utilisé en clinique par Wolf pour évaluer l'efficacité d'une thérapeutique hémorhéologique chez 32 patients atteints de thrombose veineuse rétinienne.Les patients étaient traités par hémodilution isovolémique puis hypervolémique associée à l'administration de pentoxyfylline.Un tel traitement s'accompagnait d'une amélioration significative de la vitesse globulaire,de l'agrégation érythrocytaire in vivo,et des paramètres rhéologiques in vitro (viscosité plasmatique,hématocrite,agrégation érythrocytaire) et l'effet bénéfique persistait 6 semaines après l'arrêt du traitement (160).

Fagrell a mesuré la vitesse globulaire par un système analogue,mais au niveau des capillaires périunguéaux,ce qui techniquement a l'avantage d'éviter l'écueil des mouvements oculaires.Un test dynamique (mesure des vitesses lors d'un test d'hyperhémie réactionnelle à une occlusion artérielle) a été réalisé car plus représentatif que les mesures statiques.Chez 14

diabétiques avec rétinopathie, il constate une vitesse basale identique à celle des témoins, une vitesse maximale ("peak velocity") plus basse mais de façon non significative, et un délai de réponse maximale ("time to peak velocity") significativement prolongé chez les diabétiques avec une température cutanée post-hyperhémie significativement plus basse (51):

La mesure de vitesse érythrocytaire, au niveau conjonctival ou périunguéal, représente donc un autre index potentiellement utile à la détection précoce de MAD et à sa surveillance.

Enfin, un dernier intérêt de la conjonctive bulbaire dans le cadre de l'étude de la MAD est de se prêter facilement à des études histologiques et de permettre des corrélations anatomocliniques. Il a été montré que les modifications optiques ou ultrastructurales de la membrane basale et des cellules endothéliales conjonctivales au cours du diabète sont similaires à celles observées au niveau rétinien, seule manque l'atteinte péricytaire (127).

## ILLUSTRATIONS

## ILLUSTRATIONS

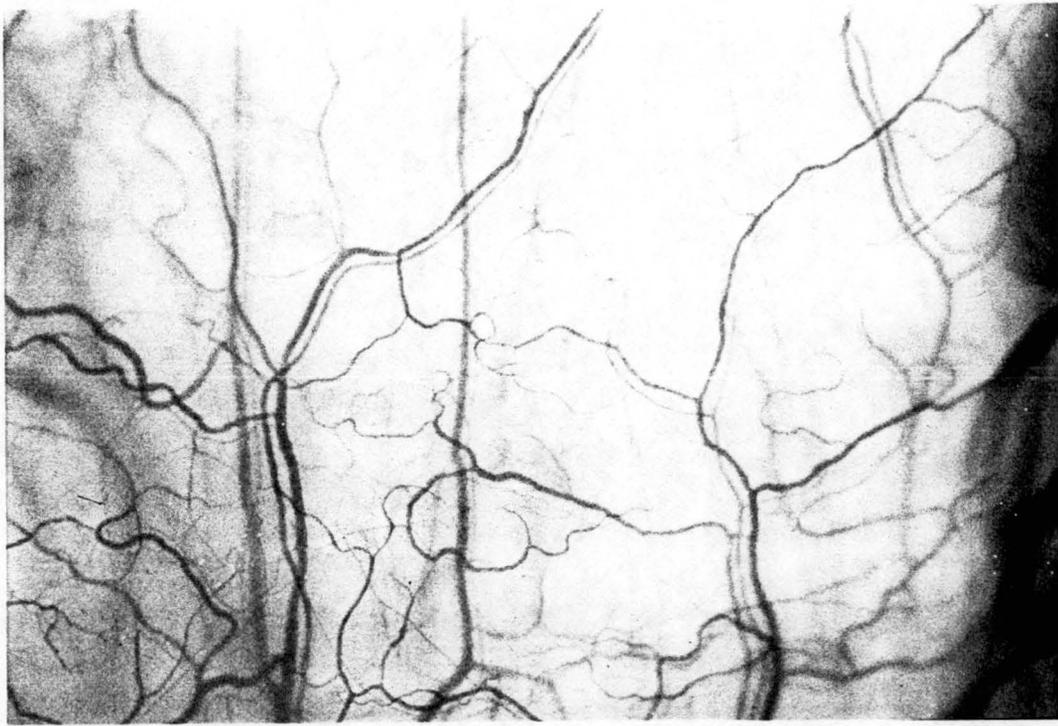


photo n°1 : angioscopie conjonctivale normale : réseau parallèle d'artérioles et de veinules, bien organisé,  $V/A = 2$ , entre lesquelles cheminent les capillaires.

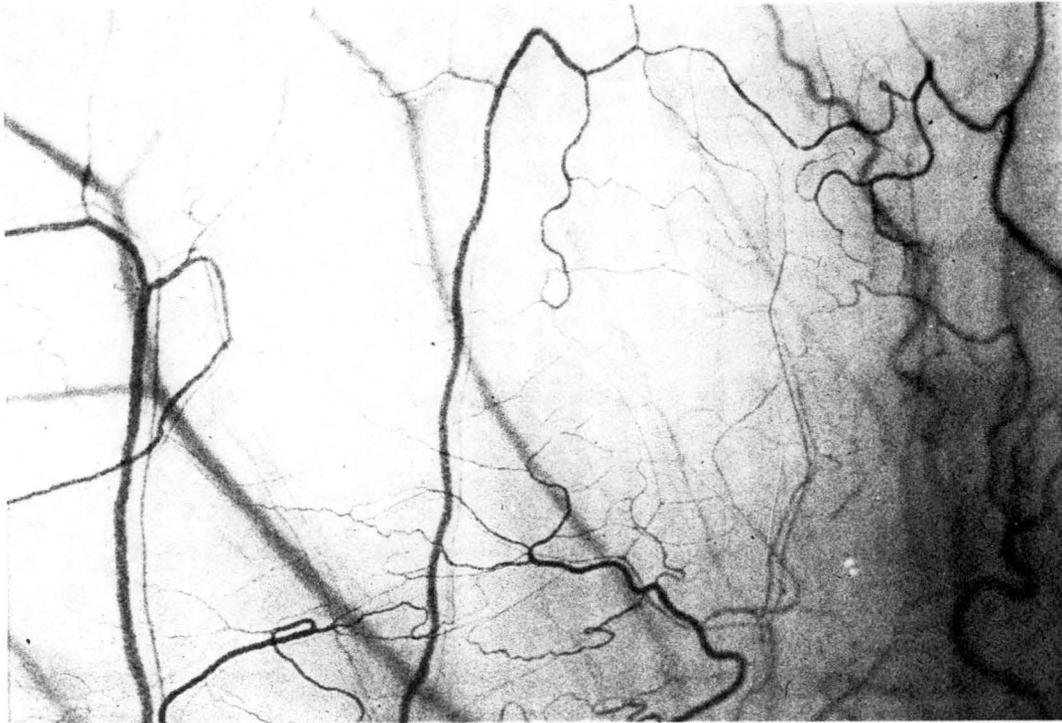


photo n°2 : dilatation veinulaire, sclérose artériolaire,  $V/A=4$ , quelques tortuosités veinulaires, organisation conservée.



photo n°3 : agrégation érythrocytaire grade 2, visible sous forme d'un flux discontinu au niveau des petites veinules, plus granuleux au niveau des grosses veinules ; zones de raréfaction capillaire ; organisation conservée.

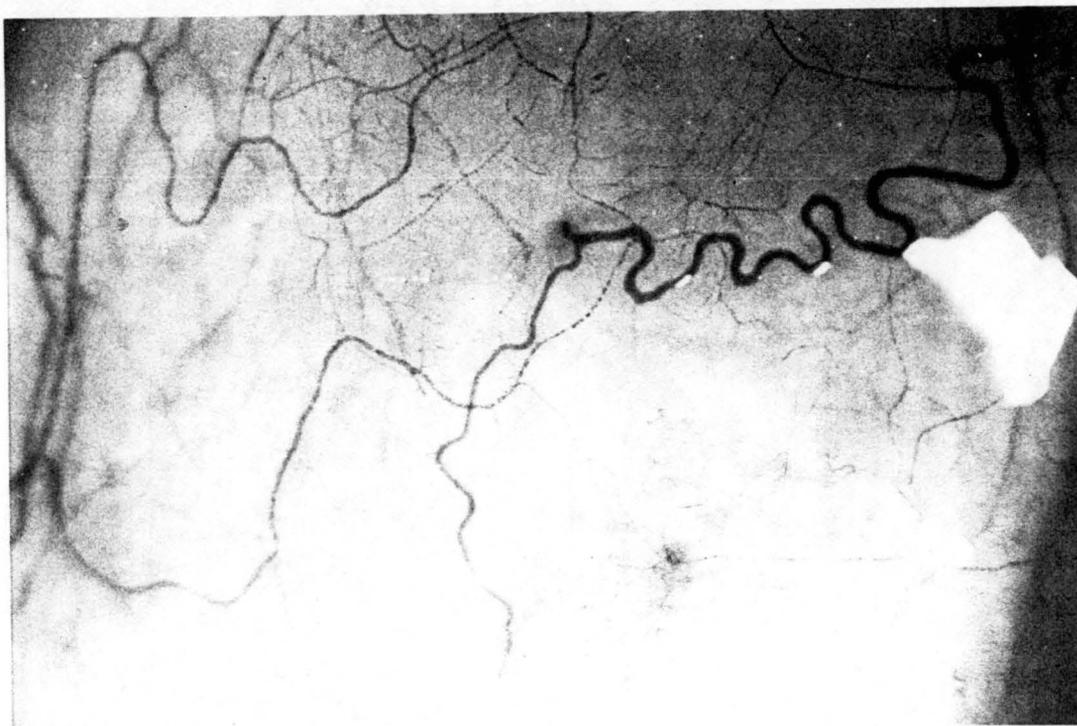


photo n°4 : agrégation érythrocytaire grade 3 (sludge) ; oedème ; importante raréfaction capillaire ; désorganisation.

TROISIEME PARTIE : PROTOCOLE ET RESULTATS

Dans cette troisième partie est abordée notre expérience personnelle de l'angioscopie conjonctivale, présentée dans le cadre d'une étude morphométrique réalisée chez 30 patients diabétiques de type 1.

## I.OBJECTIFS

L'objectif principal de notre étude est de préciser l'apport de l'angioscopie conjonctivale dans l'évaluation de la microangiopathie diabétique et dans son dépistage précoce. Notre travail se distingue des études précédemment réalisées dans la même optique par le souci de quantification des paramètres évalués, conjonctivaux, rétinien ou glomérulaires. Un objectif parallèle est en effet d'étudier l'apport des techniques de morphométrie conjonctivale dans l'exploration de la microangiopathie diabétique. Un dernier objectif est l'étude de la place des facteurs rhéologiques dans cette pathologie.

Le protocole adopté consiste à comparer les données de l'angioscopie conjonctivale (densités vasculaires obtenues par morphométrie manuelle, score semiquantitatif global, score d'agrégation érythrocytaire) aux paramètres rétinien et glomérulaires pris comme référence de microangiopathie : la rétinopathie est définie selon l'angiographie rétinienne fluorescéinique et quantifiée par le comptage des microanévrismes et un score semiquantitatif; la néphropathie est quantifiée par le dosage de la microalbuminurie.

## II.MALADES ET METHODES

### A.LES MALADES

L'étude a porté sur 30 patients diabétiques, recrutés dans les services d'Endocrinologie, Ophthalmologie ou Médecine Interne et Angiologie, entre Août 1986 et Avril 1987, selon les critères d'inclusion suivants:

- diabète connu de type 1,
- indication d'angiographie rétinienne fluorescéinique dans le cadre du bilan dégénératif périodique,
- consentement éclairé.

Les critères d'exclusion regroupent:

- les patients de type 2, en raison des données actuelles sur l'étiopathogénie des types de diabète,
- les patients relevant d'un épisode métabolique aigu (acidocétose ou hypoglycémie sévère),
- les patients atteints d'HTA connue ou traitée (critères OMS),
- les patients atteints d'une pathologie retentissant sur la chambre antérieure de l'oeil ou la conjonctive (conjonctivite, glaucome, sinusite, port de lentilles de contact),
- les patients atteints d'insuffisance cardiaque ou respiratoire susceptible d'induire une stase veineuse conjonctivale,
- les patients atteints d'une pathologie infectieuse ou inflammatoire aiguë ou chronique susceptible de modifier le degré d'agrégation érythrocytaire intravasculaire,
- la grossesse.

Cette population comprend 30 diabétiques de type 1, 18 hommes et 12 femmes. L'âge moyen des patients est de 33.4 ± 11.1 ans, les âges extrêmes vont de 16 à 59 ans. La durée moyenne d'évolution du diabète est de 12.7 ± 8.6 ans, les durées extrêmes vont de 2 à 31 ans. Les fumeurs comprennent 11 patients. Ces données sont regroupées dans le tableau 1.

Les explorations ont été réalisées chez des patients ambulatoires ou dans le cadre d'une hospitalisation courte. L'angioscopie conjonctivale a été pratiquée à heure fixe, 13 h 30, soit 1 à 2 heures après le dernier repas, suivie le même jour de l'angiographie rétinienne fluorescéinique. Les explorations biologiques ont toutes été faites le même jour ou dans un délai de 72 heures après ces examens morphologiques.

**TABLEAU 1 : DONNEES CLINIQUES**

patient n°	âge	sexe	âge diabète	tabac
1	46 ans	M	17 ans	oui
2	24	F	9	non
3	23	F	15	non
4	40	F	15	non
5	35	M	15	oui
6	22	M	8	non
7	20	M	5	non
8	24	F	6	non
9	40	F	26	oui
10	16	F	5	non
-----				
11	39 ans	M	7 ans	non
12	26	M	4	non
13	20	M	6	oui
14	37	F	25	non
15	40	F	28	non
16	40	F	26	oui
17	24	M	6	oui
18	22	F	3	non
19	36	M	5	non
20	36	M	10	non
-----				
21	25 ans	M	22 ans	oui
22	23	M	11	oui
23	32	M	9	non
24	52	M	31	non
25	45	M	22	non
26	44	M	6	oui
27	51	M	2	non
28	37	F	7	oui
29	24	F	9	non
30	59	M	22	oui

## B.LES METHODES

### 1.L'Angioscopie Conjonctivale

\*L'angioscopie conjonctivale est réalisée à l'aide d'une loupe binoculaire Nachet NS 50, au grandissement constant de x30, en lumière froide. Pendant l'examen sont notées les anomalies morphologiques vasculaires et tissulaires telles qu'elles ont été décrites page 35 à 37, et celles-ci sont immédiatement quantifiées de la manière suivante, selon un score de 0 à 10 dérivé de celui proposé par Lagrue et Maurel (103):

**-morphologie artériolocapillaire** : score de 0 à 2 : trois items sont pris en compte:

- .le calibre artériolaire } 1 item perturbé de façon localisée = [0.5]
- .l'organisation générale } 1 item perturbé de façon diffuse = [1]
- .la raréfaction capillaire } 2 items perturbés de façon diffuse = [1.5]
- } tous les items perturbés = [2]

**-morphologie veinulaire** : score de 0 à 2 : trois items sont pris en compte :

- .le rapport V/A (normal  $\leq 3$ ; pathologique  $> 3$ ) } 1 item perturbé de façon localisée = [0.5]
- .les tortuosités veinulaires } 1 item perturbé de façon diffuse = [1]
- .les sacculations veinulaires } 2 items perturbés de façon diffuse = [1.5]
- } tous les items perturbés = [2]

**-microanévrismes**: score de 0 à 2 :

- .absence = [0]
- .moins de 5 microanévrismes = [1]
- .5 ou plus = [2]

**-agrégation érythrocytaire intravasculaire** : score de 0 à 2 selon l'échelle de Ditzel et Davis:

- .grade 0 = [0] .grade 2 = [1.5]
- .grade 1 = [1] .grade 3 = [2]

**-anomalies tissulaires** : score de 0 à 2 : trois items sont pris en compte :

- .hémorragies = [0] (absence) ou [0.5] (présence)
- .dépôts = [0] (absence) ou [0.5] (présence)
- .oedème = [0] (absence) ou [1] (présence).

L'attribution du score est faite sans connaissance des données cliniques ou paracliniques, par un seul examinateur.

\*Des clichés de la conjonctive sont pris, au nombre de 4 au minimum, au niveau des champs temporaux et nasaux, en dehors de la pinguecula. On utilise un appareil reflex 24x36 Olympus\* OM2N, avec flash électronique asservi à la cellule de l'appareil, et un film inversible Ektachrome\* 100 ASA. Ces clichés sont destinés à l'analyse morphométrique, qui est réalisée manuellement selon la technique décrite page 49. Deux clichés pour chaque patient sont retenus pour la mesure, choisis selon la qualité de la mise au point et selon leur représentativité si la densité vasculaire paraît très hétérogène. Les mesures sont effectuées à l'aide d'un lecteur de diapositives de table à écran de 35 cm<sup>2</sup> Osram\* modèle Diastar 350 dont le grandissement est de x40. Chaque vaisseau est décalqué sur un même transparent avec un stylo de couleur (rouge=artériole, bleu=veinule, vert=capillaire) dans l'ordre suivant : artérioles puis veinules puis capillaires. La mesure est effectuée sur le transparent. Les paramètres ainsi déterminés sont les densités artériolaire (La), veinulaire (Lv), capillaire (Lc) et vasculaire totale (Lt) exprimées en mm/mm<sup>2</sup>, ainsi que les surfaces des zones de mesure (S).

L'ensemble des clichés a été préalablement codé afin d'être mesuré sans connaissance des données cliniques et de l'angiographie rétinienne. Les mesures ont été réalisées par un seul examinateur. Il n'a été possible de réaliser l'ensemble des 30 lectures au cours d'une même période, ce qui aurait été souhaitable pour homogénéiser les conditions de mesure. Les lectures ont donc été regroupées sur deux périodes de une semaine chacune, séparées de un an, la première période concernant les patients n°1 à 18 et la seconde période les patients n°19 à 30.

## 2.L'Angiographie Rétinienne

\*L'angiographie rétinienne a été réalisée selon une technique habituelle par injection intraveineuse en bolus au pli du coude de 10 ml de fluorescéine disodique à 10%, dans un délai de 1 à 2 heures suivant l'angioscopie conjonctivale. L'examen est fait après dilatation pupillaire maximale, sur l'oeil qui présente les lésions les plus sévères. Les clichés destinés au comptage des microanévrismes sont réalisés aux temps précoces, centrés sur la macula avec un angle de 30°; les autres clichés sont réalisés à 45°. La quantification des données fait appel d'une part à un score semiquantitatif, d'autre part au comptage des microanévrismes rétiens. Chaque angiographie a fait l'objet d'une seule lecture réalisée simultanément par deux ophtalmologistes qui portaient le score; la numération des microanévrismes a par contre été répartie au hasard entre ces deux examinateurs.

\*Le score angiographique utilisé est inspiré de la classification suivante proposée par la Clinique Ophtalmologique Universitaire de Créteil (Pr.Coscas) ( 33,57) :

**-0 : pas de rétinopathie diabétique [0]**

**-I : rétinopathie diabétique non proliférante :**

- .a: minime: limitée à quelques microanévrismes laissant/ne laissant pas diffuser le colorant [1];
- .b: minime: quelques microanévrismes, quelques microhémorragies [1.33];
- .c: modérée: quelques microanévrismes, quelques exsudats, quelques micro-territoires de non perfusion, diffusions modérées de colorant sans oedème maculaire, bonne perfusion périphérique [1.66].

**-II : rétinopathie diabétique non proliférante :**

- .a: modérée: avec quelques exsudats, avec oedème maculaire diffus, avec oedème maculaire cystoïde partiel, petits territoires de non perfusion, mais bonne perfusion des capillaires maculaires [2];
- .b: avec maculopathie oedémateuse sévère : exsudats, hémorragies, oedème maculaire cystoïde complet/partiel/avec/ou sans logette centrale menaçant la fonction visuelle [2.5].

**-III : rétinopathie pré proliférante :**

- .a: avec nodules cotonneux, hémorragies rétiennes [3];
- .b: A.M.I.R. dilatation veineuse et vastes territoires de non perfusion en moyenne périphérie faisant craindre une prolifération néovasculaire [3.33];
- .c: + Maculopathie [3.66].

**-IV : rétinopathie diabétique proliférante :**

- .a: néovaisseaux préretiens isolés [4];
- .b: prolifération multiple de néovaisseaux préretiens avec/sans gliose [4.25];
- .c: néovaisseaux prépapillaires avec/sans gliose associés/ou non à néovascularisation préretiennne [4.5];
- .d: vaste prolifération vasculogliale prépapillorétinienne [4.75].

**-V : rétinopathie diabétique proliférante :**

- .a: avec hémorragies préretiennes [5];
- .b: avec hémorragies intravitréennes masquant une partie plus ou moins importante du FO [5.25];
- .c: avec DR par traction localisé/étendu ou non à la macula [5.5];
- .d: avec rubéose irienne [5.75].

\*Le comptage des microanévrismes rétiens est effectué au niveau du pôle postérieur par projection du négatif sur un lecteur de microfilms à l'aide d'une grille sectorisée. Cette technique a été développée par les équipes de Coscas et Kohner; si les microanévrismes ne sont pas la lésion la plus importante de la rétinopathie diabétique, ils sont la structure la plus facilement quantifiable; ils sont un trait de la rétinopathie précoce et leur nombre reflète la sévérité de celle-ci. Une étude d'Eva Kohner menée chez 55 diabétiques de type 1 révèle une

corrélation significative entre le nombre de microanévrismes et la sévérité de la rétinopathie à sa phase précoce (78). Une autre étude portant sur 108 angiographies montre la facilité de mise en oeuvre et d'acquisition de cette technique et sa bonne reproductibilité inter- et intra-observateur (8). La justification du choix du pôle postérieur comme site de mesure par ces auteurs tient d'une part à des raisons techniques de reproductibilité, d'autre part au développement préférentiel initial des anévrismes dans cette zone, les aires de non-perfusion se développant ultérieurement et prédominant, elles, en périphérie. Cependant cette conception de l'évolution de la rétinopathie a été contestée par d'autres auteurs. Les écueils de cette technique de comptage des microanévrismes tiennent:

- d'une part à la technique de l'angiographie rétinienne et à la difficulté parfois rencontrée d'avoir de bons clichés sériés visualisant les détails des capillaires;
- d'autre part à l'identification correcte des microanévrismes, parfois confondus avec des druses ou des lésions de l'épithélium pigmentaire, et à la résolution des angiographies, les microanévrismes inférieurs à  $30\ \mu\text{m}$  pouvant être méconnus;
- enfin à l'évolution dans le temps des microanévrismes qui peuvent régresser, sans que cela corresponde d'ailleurs toujours à une amélioration de la rétinopathie, et à la signification elle-même des microanévrismes qui caractérisent une phase relativement précoce dans l'évolution de la rétinopathie.

### 3. Les explorations rénales

La recherche d'une atteinte microangiopathique glomérulaire a fait appel au dosage de la microalbuminurie nocturne en clinostatisme par méthode immunoenzymatique trois nuits consécutives, la moyenne des trois débits et le débit maximal étant retenus pour l'étude, et à la mesure de la clearance de la créatinine (N hommes =  $2 \pm 0.25$  ml/s, N femmes =  $1.83 \pm 0.25$  ml/s, jusqu'à 30 ans, puis diminution de 0.17 ml/s par tranche d'âge de 10 ans). Ces recherches n'ont pu être réalisées chez 4 patients ambulatoires, on s'est assuré de l'absence d'insuffisance rénale patente par un dosage de la créatininémie chez 1 d'entre eux (N =  $86 \pm 22$   $\mu\text{mol/l}$ ).

### 4. Les explorations rhéologiques

Les paramètres standards suivants ont été mesurés : vitesse de sédimentation à la première heure, hématoците, hémoglobémie, fibrinogénémie, albuminémie, dosage des alpha 2 et gamma globulines.

La déformabilité érythrocytaire a été mesurée chez 12 patients par méthode de filtration selon la technique de Reid et Dormandy à l'aide d'un Erythromètre SEFAM\* (128) sur suspension d'érythrocytes avec filtre Nuclepore de  $3\ \mu\text{m}$ . Les mesures ont été effectuées dans les 30 minutes suivant le prélèvement sanguin. Les témoins ont été mesurés avec le même lot de filtres. Les résultats sont exprimés sous forme d'un indice de filtration érythrocytaire IFE d'autant plus élevé que la rigidité globulaire est forte et pathologique (valeurs normales 3 à 8).

### 5. Le statut métabolique

Les paramètres suivants ont été déterminés :

- hémoglobine glycosylée HbA1c (chromatographie sur microcolonnes; N =  $4.83 \pm 0.44$  %);
- cholestérolémie totale et triglycéridémie (méthode colorimétrique);
- cholestérolémie HDL (précipitation par acide phosphotungstique; N hommes =  $0.40$ - $0.60$ ; N femmes =  $0.45$ - $0.70$  g/l);
- dosage des apoprotéines A1 et B (méthode immunoturbidimétrique; N hommes A1 =  $1.2$ - $1.9$ ; B =  $0.9$ - $1.3$ ; N femmes A1 =  $1.4$ - $2$ ; B =  $0.8$ - $1.2$  g/l).

## 6. Les autres explorations

Cette étude a été réalisée parallèlement à un autre travail mené par J. Péronnet visant à préciser la place des anomalies tensionnelles dans la MAD (Thèse Médecine Grenoble 1987). Nous avons retenu pour notre étude le paramètre tensionnel qui ressortait comme le plus intéressant à la suite de cette thèse, à savoir la charge tensionnelle diastolique nocturne.

Celle-ci est déterminée de manière ambulatoire grâce à un appareil portable (système Space -Labs) mesurant la tension artérielle et la fréquence cardiaque toutes les demi-heures la nuit (0.00 h - 5.59 h).

Dans notre étude, 22 patients ont pu bénéficier de cette mesure, qui a été réalisée chez tous à l'hôpital.

## 7. L'analyse statistique

Les tests statistiques utilisés ont comporté :

- dans un premier temps les tests classiques de Student d'études de corrélations, d'analyse de variance avec recherche de linéarité pour les variables discontinues, et le test de  $\chi^2$  avec correction de Yates pour la comparaison des variables discontinues entre elles;
- dans un second temps les techniques d'analyse multifactorielle (régressions multiples effectuées pas à pas et analyse discriminante à une ou deux fonctions) guidées au préalable par une analyse factorielle en composantes principales avec méthode de rotation;
- une méthode de classification hiérarchique a été utilisée pour l'analyse des paramètres du score conjonctif.

Les résultats sont rapportés de la manière suivante :

- pour les analyses de variance avec recherche de linéarité, le calcul établit d'abord la significativité  $s$  des corrélations inter-groupes; si celle-ci est suffisante, il exprime la linéarité  $l$  de la corrélation et le coefficient de corrélation  $r$ ;

- pour les analyses discriminantes, les résultats sont exprimés selon la corrélation de chaque variable avec la fonction discriminante et selon sa significativité, sous forme d'un graphe; les coefficients standardisés de la fonction discriminante sont également rapportés;

- pour les régressions multiples pas à pas, les résultats sont exprimés selon le coefficient  $\beta$  standardisé de l'équation et selon sa significativité, sous forme d'un graphe.

Cette étude a été réalisée à l'aide du logiciel informatique SPSS\* sur ordinateur IBM modèle XT 286.

### III. RESULTATS

#### A. DONNEES CLINIQUES

L'ensemble des résultats individuels est présenté en annexe dans les tableaux 2 à 7. Il est nécessaire à l'interprétation correcte de l'étude de tenir compte des faits suivants :

-l'*équilibre métabolique* de notre population ne peut être qualifié de médiocre : l'HbA1c moyenne est de 8.07 %  $\pm$  1.6 %. Ce fait tient au mode de recrutement ( patients pour la plupart ambulatoires) et aux critères de sélection (exclusion des déséquilibres métaboliques très récents);

-la *rétinopathie* se distribue de la façon suivante :

.rétinopathie absente : 8 cas (stade 0)

.rétinopathie de fond : 15 cas (stades 1 et 2)

.rétinopathie proliférante et pré-proliférante : 7 cas (stades 3,4 et 5);

-la *néphropathie* définie par l'albuminurie est ainsi répartie :

.microalbuminurie < 14  $\mu$ g/min : 20 cas

.microalbuminurie  $\geq$  14  $\mu$ g/min : 6 cas dont 1 seul dépassant 40  $\mu$ g/min

compte tenu des possibilités de réversibilité de la microalbuminurie à ces taux, ce paramètre peut aussi être considéré comme un marqueur de MAD fonctionnelle. Il faut cependant noter que ces 6 patients ont une ancienneté respective de diabète de 15,15,26,26,31 et 6 ans, ce dernier étant celui dépassant 40  $\mu$ g/min, et qu'une ancienneté de plus de 15 ans est compatible avec le début d'une néphropathie clinique.

#### B. DONNEES STATISTIQUES PRELIMINAIRES

De l'ensemble des histogrammes de distribution des 41 variables recueillies, on retient une distribution normale pour les principaux paramètres nous intéressant ici, sauf pour le score ophtalmologique, le nombre d'anévrysmes rétiniens et la micro- albuminurie moyenne et maximale. La prise en compte de ces trois paramètres se fera, pour l'analyse statistique classique après transformation logarithmique, pour l'analyse de variance avec recherche de linéarité après simplification du score ophtalmologique en 6 classes (0,1,2,3,4,5) , et pour les tests de  $\chi^2$  et l'analyse multivariée après redistribution en groupes de la manière suivante :

-pour le score ophtalmologique, on définit le groupe rét.0 (stade 0), rét.1 (stades 1,2) et rét.2 (stades 3,4,5);

-pour la microalbuminurie moyenne, on définit le groupe néph.O (<14  $\mu$ g/min) et néph.1 ( $\geq$ 14  $\mu$ g/min).

La multiplicité des paramètres analysés et leur interdépendance nous a fait réaliser préalablement à l'analyse multivariée, une analyse factorielle en composantes principales, qui permet schématiquement de se représenter comment les différentes variables s'articulent entre elles et de déterminer ainsi le choix des meilleures variables à prendre en compte dans l'analyse. Cette analyse factorielle, illustrée par le graphe suivant, nous permet de retenir 9 paramètres définissant 2 directions:

-une direction que l'on pourrait appeler "MAD fonctionnelle" représentée par HbA1c et microalbuminurie,

-une direction que l'on pourrait appeler "MAD organique" représentée par les paramètres suivants : ancienneté du diabète ; score ophtalmologique ; hémoglobémie ; agrégation érythrocytaire RBCA ; densité totale et artériolaire ; TADN.

1. RBCA (.799,.216)		54	
2. Hémoglobine (-.721,.109)			
3. Score ophtalmologique (.855,.159)			9
4. Microalbuminurie (.077,.762)			
5. HbA1c (-.090,.890)	8-2		1-3
6. Ancienneté diabète (.835,-.218)			
7. Densité totale (-.642,-.140)	7		
8. Densité artériolaire (-.756,.071)			6
9. TADN (.624,.458)			

### C.DONNEES DE L'ANALYSE STATISTIQUE CLASSIQUE

Les tests statistiques classiques de Student,d'analyse de variance avec recherche de linéarité et d'étude de corrélations permettent de dégager dans un premier temps les constatations suivantes résumées dans les tableaux 8 et 9 (pages 67 et 68):

#### 1. Les déterminants des troubles rhéologiques in vivo

*L'agrégation érythrocytaire* telle qu'elle est observée in vivo à la conjonctive (RBCA) apparaît significativement liée

- à l'âge et à l'ancienneté du diabète
- à l'hémoglobinémie et à l'hématocrite,ainsi qu'au taux des plaquettes sanguines
- il n'y a par contre pas de liaison avec les autres paramètres rhéologiques habituels que sont la VS,la fibrinogénémie,l'albuminémie et le taux plasmatique des alpha2 et gamma-globulines, ni avec le taux des triglycérides et des autres paramètres lipidiques,ni avec l'indice de filtration érythrocytaire (IFE).

*L'indice de filtration érythrocytaire (IFE)* déterminé in vitro n'apparaît lié qu'à la VS,au taux de leucocytes et à la cholestérolémie totale,mais on note que seuls 12 patients ont pu bénéficier de cette mesure d'IFE.

#### 2. Les facteurs de risque de microangiopathie diabétique

*Le score angiographique rétinien* apparaît lié aux facteurs suivants :

- l'agrégation érythrocytaire,
- le score angioscopique conjonctival,
- la densité vasculaire totale et artériolaire déterminée par morphométrie conjonctivale,
- la tension artérielle diastolique nocturne,
- l'âge et l'ancienneté du diabète,
- l'hémoglobinémie,l'hématocrite.

Si on ne tient compte que de la transformation logarithmique de ce score,ce qui améliore la normalité de la distribution mais nous fait perdre en effectif les patients ayant un score de 0,on retrouve la liaison avec l'agrégation érythrocytaire,l'ancienneté du diabète et l'hématocrite.

*Le compte d'anévrysmes réiniens* apparaît lié aux facteurs suivants :

- la densité veinulaire,
- la tension artérielle diastolique nocturne,
- l'ancienneté du diabète.

Si on ne tient compte que de la transformation logarithmique de ce compte, on note une liaison avec le score angioscopique conjonctival et la densité capillaire.

La microalbuminurie moyenne et maximale n'apparaissent liées qu'à l'hémoglobine glycosylée HbA1c. La prise en compte de leurs transformation logarithmique fait apparaître également une liaison avec la tension artérielle diastolique nocturne et avec le score angiographique rétinien.

La clearance de la créatinine n'est guère corrélée de façon négative qu'aux taux des alpha 2 et gamma-globulines.

On remarque enfin que la tension artérielle diastolique nocturne est corrélée positivement avec l'agrégation érythrocytaire et négativement avec la densité artériolaire.

### 3. Les liens entre les troubles rhéologiques et les perturbations géométriques conjonctivales

L'agrégation érythrocytaire, l'albuminémie et le taux des alpha2-globulines ont une corrélation négative avec les densités artériolaire et vasculaire totale.

L'agrégation érythrocytaire est de plus liée à la densité capillaire.

La fibrinogénémie intervient dans la densité totale et veineuse; l'albuminémie dans la densité veineuse, artériolaire et totale; l'hématocrite dans la densité artériolaire.

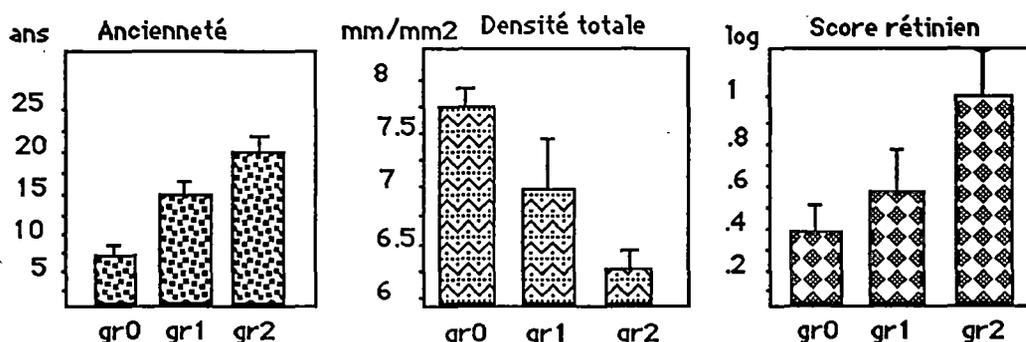
On note enfin qu'il existe une corrélation négative entre ancienneté du diabète et densités artériolaire et totale.

### 4. Les déterminants du score conjonctival et ses correspondances morphométriques

Le score angioscopique conjonctival apparaît corrélé de manière négative aux densités totale et capillaire.

Il est également lié à l'âge, l'ancienneté du diabète et à l'hématocrite.

On note enfin un lien entre sclérose artériolaire et densités artériolaire, capillaire et totale.



ANALYSE DE VARIANCE : AGREGATION ERYTHROCYTAIRE (cf tableau 9)

**TABLEAU 8 : MATRICE DES CORRELATIONS**

	ancienneté	âge	Hb	Hte	leucocytes	RBCA	score conjonctival	
{ r	.7355	.4401	-.5795	-.6138	-.4166	.6805	.5874	
score rétine {n	30	30	29	28	29	30	30	
{p	.000	.014	.000	.000	.024	.000	.000	
	ancienneté		Hb	Hte	leucocytes	RBCA		
log score rét.	.6226		-.5819	-.5919	-.5851	.5079		
	22		21	21	21	22		
	.002		.006	.004	.006	.016		
	ancienneté		densité veinules		TADN	score rétine		cholest.
anévr.rét.	.3574		-.4504		.5060	.4150		-.3998
	29		29		21	29		26
	.058		.014		.020	.026		.042
	densité cap.		score conjonctive		HDL	apo A1		cholest.
log anévr.	.4398		-.5501		-.5374	-.6818		-.6678
	20		20		16	16		17
	.052		.012		.032	.004		.004
	HbA1c				HbA1c			
µalbuminurie	.4301				.4381			
	26		µalb.max.		24			
	.028				.032			
	HbA1c	score rétine		TADN	chol.tot/HDL			
log µalb.	.4559	.4806		.5268	.4290			
	26	26		22	26			
	.020	.012		.012	.028			
	HbA1c	score rétine		TADN	chol.tot/HDL			
log alb.max.	.4648	.4738		.4830	.4438			
	24	24		22	24			
	.022	.020		.022	.030			
	alpha2	gamma-glob.		HDL	chol.tot/HDL			
clear.creat.	-.4265	-.4389		-.4924	.4070			
	25	25		26	26			
	.034	.028		.010	.040			
	ancienneté	Hb	Hte	albumine	alpha2	RBCA	score rét.	TADN
densité art.	-.5015	.3923	.5207	.5161	-.3856	-.3961	-.5486	-.5533
	30	29	28	28	28	30	30	22
	.004	.036	.004	.004	.042	.030	.002	.008
			fibrinogène	albumine			anévr.rét.	
densité veinules			-.3649	.4717			-.4504	
			28	28			29	
			.056	.012			.014	
		score conjonctival				RBCA	log anév.rét.	
densité capil.		-.5065				-.4338	.4398	
		30				30	20	
		.004				.016	.052	

### MATRICE DES CORRELATIONS (suite)

	ancienneté	score conj.	fibrin.	albumine	alpha2	RBCA	score rét.	
densité totale	-.4017	-.4961	-.4608	.4225	-.3896	-.5843	-.3578	
	30	30	28	28	28	30	30	
	.028	.006	.014	.026	.040	.000	.052	
	ancienneté	âge	Hb	Hte	plaquettes	RBCA	score rét	log anév.
score conj.	.6626	.4786	-.3750	-.3817	-.7878	.8758	.5874	-.5501
	30	30	29	28	8	30	30	20
	.000	.008	.046	.046	.020	.000	.000	.012
	ancienneté	âge	Hb	Hte	plaquettes	TADN		
RBCA	.6558	.4946	-.5308	-.5430	-.8483	.4215		
	30	30	29	28	8	22		
	.000	.006	.004	.002	.008	.050		
	log $\mu$ alb	log albmax	Hb	Hte	plaquettes	RBCA	score rét	anév.rét
TADN	.5268	.4830	-.4220	-.4659	-.8906	.4215	.5771	.5060
	22	22	22	21	5	22	22	21
	.012	.022	.050	.034	.042	.050	.004	.020
	leucocytes		VS	cholestérol				
I.F.E.	.8555		.8370	-.6547				
	10		7	10				
	.002		.018	.040				

#### LEGENDE:

{r : coefficient de corrélation

{n : nombre de patients

{p : significativité (2-tailed significance ; seules les corrélations où  $p < 0.05$  sont présentées ici)

### TABLEAU 9 : ANALYSES DE VARIANCE

	ancienneté	âge	Hb	Hte	Plaquettes	Lart	Lcap	Ltot	score rétine
s	.0005	.0162	.0027	.0016	.0281	.0709	.0362	.0036	.0002
RBCA l	.0001	.0058	.0022	.0017	.0117	.0314	.0168	.0009	.0000
r	.6558	.4946	-.5308	-.5430	-.8483	-.3961	-.4338	-.5843	.6805
	ancienneté	âge	Hb	Hte	Leucocytes	Lart	Ltot	$\mu$ alb.	TADN
score rétine simplifié	.0005	.0669	.0174	.0089	.0185	.0306	.0492	.0000	.0605
	.0000	.0207	.0012	.0006	.0078	.0036	.0590	.0000	.0105
	.7169	.4173	-.5882	-.6197	-.4673	-.5240	-.3294	.2765	.5424

#### LEGENDE :

s : significativité

l : linéarité

r : coefficient de corrélation

Lart : densité artériolaire

Lcap : densité capillaire

Ltot : densité totale

Hb : hémoglobininémie

Hte : hématocrite

$\mu$ alb: microalbuminurie

## D.DONNEES DE L'ANALYSE MULTIFACTORIELLE

Ces premières données permettent de dégager certains paramètres intéressants dans le cadre de la MAD, notamment l'agrégation érythrocytaire, les densités artériolaire et totale, et le score angioscopique conjonctival, dont on va tenter de préciser les déterminants et le poids dans les facteurs de risque de MAD. On va utiliser pour cela les méthodes de régressions multiples effectuées pas à pas et les analyses discriminantes à 1 ou 2 fonctions.

### 1. Etude de l'agrégation érythrocytaire

#### a. Les déterminants de l'agrégation érythrocytaire du diabétique

L'agrégation érythrocytaire in vivo, définie selon une échelle en 4 grades, représente une variable discontinue pour laquelle on applique une analyse discriminante visant à mettre en évidence les facteurs ayant le poids le plus déterminant dans son apparition. Afin de clarifier l'analyse, on décide de simplifier la variable en 1 seule fonction : agrégation absente (grade 0) ou présente (grade 1,2,3). Les résultats sont exprimés et classés selon la corrélation avec la fonction discriminante; le coefficient standardisé de la fonction discriminante est également rapporté pour chaque variable.

-si dans un premier temps on étudie l'influence des paramètres habituellement connus pour jouer sur l'agrégation, à savoir "hémoglobine, fibrinogène, albumine, triglycérides, leucocytes", on constate que le poids déterminant revient, par ordre décroissant et de façon significative, à **hémoglobine, triglycérides et fibrinogène** (fig. 1a); l'équation déterminée par l'analyse à partir de ces variables ne permet de prédire correctement l'agrégation érythrocytaire que chez 70 % des patients;

-si dans un second temps on étudie, outre ces cinq variables biologiques, le poids de l'ancienneté du diabète, l'analyse prédit l'agrégation à l'aide des deux variables que sont l'ancienneté et l'hémoglobine, par ordre décroissant, chez 80 % des patients (fig. 1b);

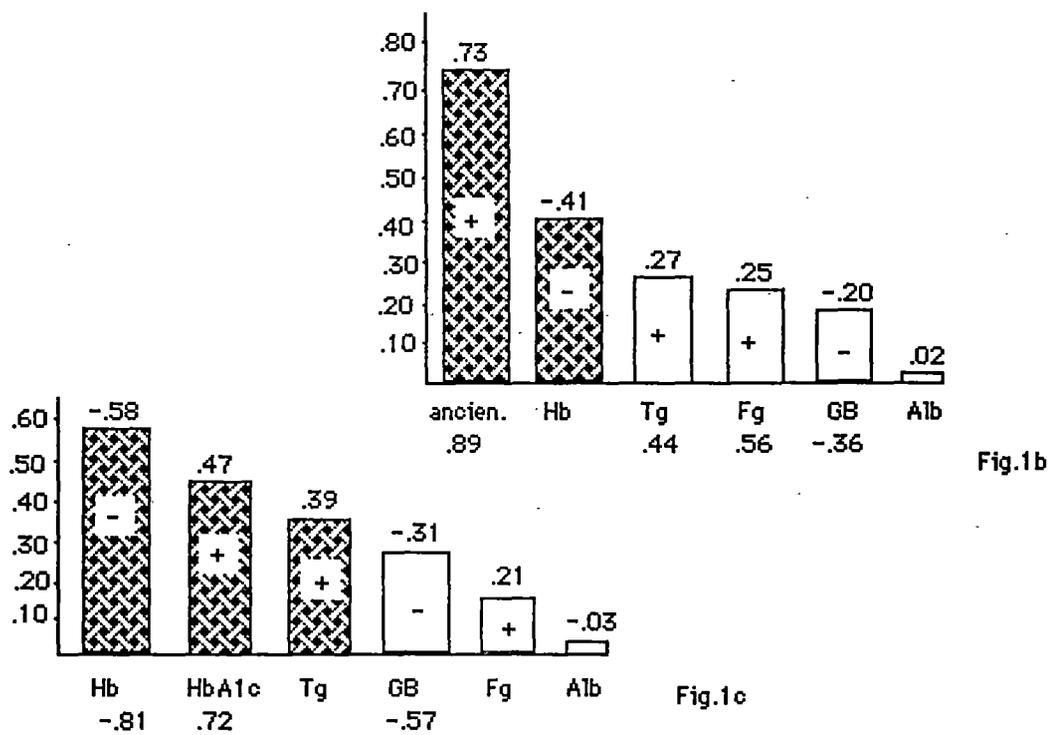
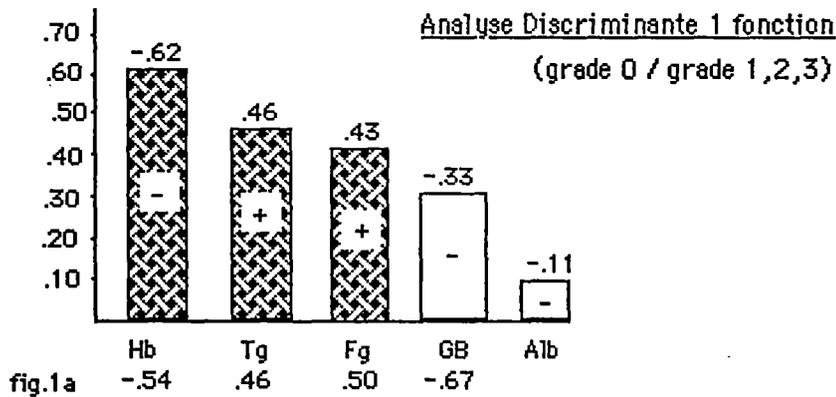
-si dans un troisième temps on étudie, avec les variables biologiques, l'influence de l'équilibre métabolique, le classement des variables déterminantes et significatives s'établit ainsi : **hémoglobine, HbA1c, triglycérides**, et l'analyse permet de prédire le niveau d'agrégation de 72 % des patients;

-si dans un dernier temps on cherche à utiliser pour notre analyse les cinq variables biologiques, l'ancienneté du diabète et l'HbA1c, le poids déterminant revient à l'ancienneté, puis de façon non significative au taux de **triglycérides**, à l'**HbA1c** et à l'**hémoglobinémie** (fig. 1d), l'analyse classant correctement 90 % des patients.

L'agrégation érythrocytaire dans cette population diabétique se distingue donc de celle des patients non diabétiques en faisant intervenir dans sa détermination, en plus des facteurs biologiques habituels, les deux paramètres que sont l'ancienneté du diabète et l'équilibre métabolique.

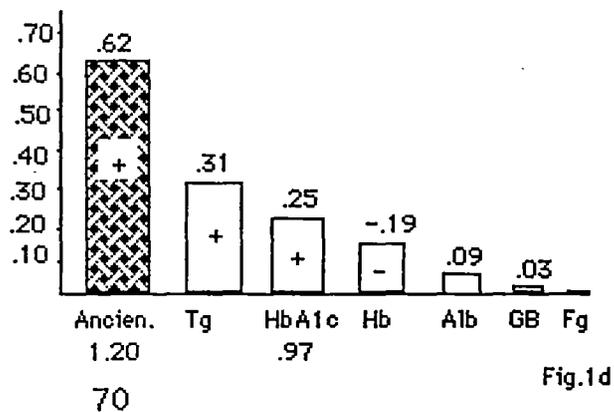
Nous avons parallèlement cherché à analyser les variations du facteur **hémoglobine**, en déterminant le poids des paramètres suivants : ancienneté, sexe, âge, HbA1c, fibrinogène et albumine. L'analyse de régression multiple n'a retenu que le facteur **ancienneté du diabète** ( $\beta = -.52$ ) comme pouvant influencer significativement sur l'hémoglobinémie.

## Agrégation Erythrocytaire In Vivo



Ancien.=ancienneté du diabète  
Tg=triglycérides  
Hb=hémoglobine  
Alb=albumine  
GB=globules blancs  
Fg=fibrinogène

+ = corrélation positive  
- = corrélation négative



b. Les liens entre agrégation érythrocytaire et MAD

L'excellente corrélation entre agrégation érythrocytaire et score ophtalmologique (analyse de variance :  $p=.0002$ ;  $r=.68$ ) nous a fait réaliser des tests de  $\chi^2$ , mieux adaptés aux comparaisons entre variables qualitatives, entre agrégation érythrocytaire d'une part, indice de rétinopathie puis de néphropathie tels qu'ils ont été définis plus haut page 64 d'après le score ophtalmologique et la microalbuminurie d'autre part. En fait, l'interprétation du  $\chi^2$  n'est possible que lorsque on compare indice de rétinopathie et indice d'agrégation simplifié en 2 niveaux en raison du faible effectif, dans les autres cas on se fierà l'indice de Pearson pour exprimer la corrélation des rangs. Les résultats sont illustrés dans les tableaux suivants :

\*Agrégation érythrocytaire et rétinopathie :

RBCA	grade 0	grade 1	grade 2				
rétinopathie				<i>indice de Pearson R = .64</i> <i>significativité .0001</i>			
0	8						
1	7	6	2				
2	1	2	4	sensib.=sensibilité spécif.=spécificité v.préd.+ =valeur prédictive positive v.préd.- =valeur prédictive négative			

RBCA	absente (gr.0)	présente (gr.1,2)	sensib.	spécif.	v.préd.+	v.préd.-
rétinopathie						
0	8					
1	7	8	{ 63 %	100 %	100 %	50 %
2	1	6	{ 85 %	65 %	42 %	93 %

$\chi^2 = 11.55$       *significativité .0031*

On retient d'une part qu'il existe une très bonne corrélation de rang entre niveau d'agrégation érythrocytaire et degré de rétinopathie, d'autre part que la constatation d'une agrégation érythrocytaire pathologique permet de détecter avec une excellente spécificité mais avec une sensibilité médiocre la présence d'une rétinopathie, qu'elle soit ou non proliférante et de détecter avec une meilleure sensibilité mais une moins bonne spécificité la présence d'une rétinopathie proliférante.

\*Agrégation érythrocytaire et néphropathie :

Rbca	grade 0	grade 1	grade 2	sensib.	spécif.	v.préd.+	v.préd.-
néphropathie				{			
0 ( $\mu\text{alb} < 14$ )	13	5	2	{ 83%	65%	41%	92%
1 ( $> 14 \mu\text{g}$ )	1	2	3	{			

*indice de Pearson R = .47*      *significativité = .007*

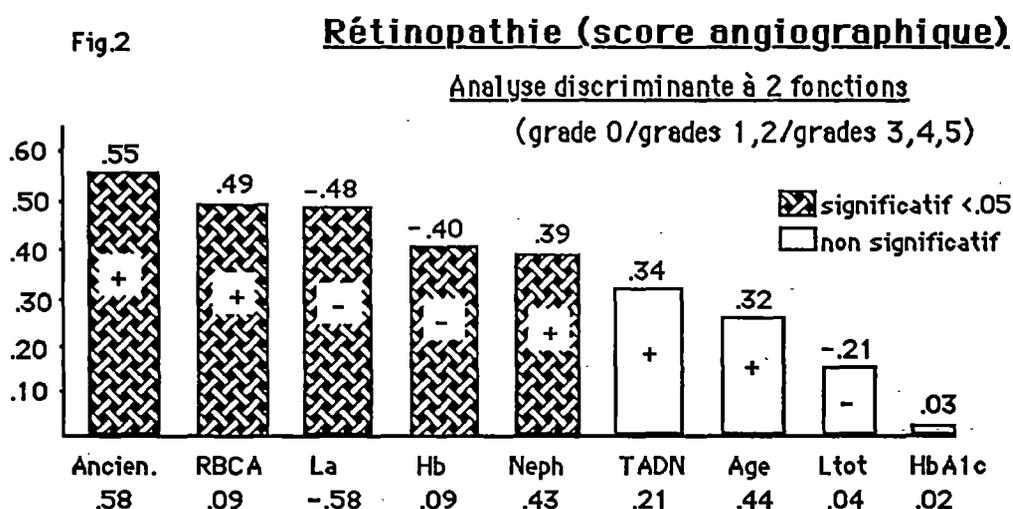
On retient là encore une bonne corrélation de rang entre agrégation érythrocytaire et degré d'atteinte fonctionnelle rénale.

## 2. Etude des Déterminants de la Microangiopathie Diabétique

### a. La rétinopathie

Parmi les paramètres retenus par l'analyse factorielle (cf page 62), on va chercher à définir lesquels ont le poids le plus déterminant dans la rétinopathie. Cette dernière sera définie selon le score ophtalmologique en 3 niveaux (0=absente=grade 0 ; 1=rétinopathie de fond = grades 1,2 ; 2=rétinopathie proliférante=grades 3,4,5). On utilise pour cette variable discontinuée une analyse discriminante à 2 fonctions. Les résultats sont exprimés selon le coefficient de corrélation avec la fonction discriminante dominante, le coefficient standardisé de la variable dans la fonction discriminante est également rapporté.

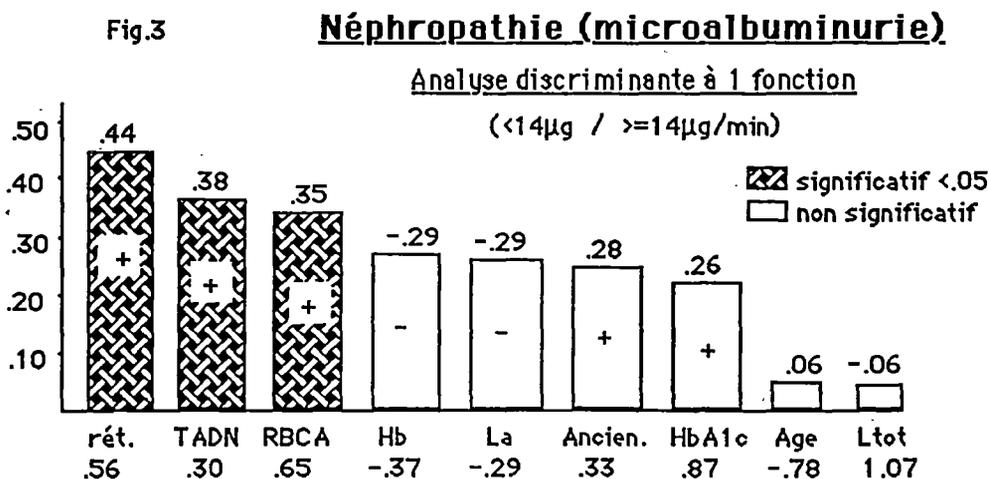
On retient que les facteurs de discrimination de la rétinopathie les plus significatifs sont par ordre décroissant : **ancienneté du diabète, RBCA, densité artériolaire, hémoglobine, néphropathie** (fig.2). L'HbA1c a un poids très faible ici. Le classement des observations en fonction de cette analyse discriminante est bon chez 95 % des patients. Si on ne retient pas la TADN pour l'analyse afin d'augmenter l'effectif, on obtient une fonction discriminante très voisine.



### b. La néphropathie

La néphropathie est définie selon la microalbuminurie en 2 niveaux (0=microalbuminurie <math>< 14 \mu\text{g}/\text{min}</math> ; 1=microalbuminurie  $\geq 14 \mu\text{g}/\text{min}</math>).$

Les trois variables retenues pour discriminer la néphropathie sont par ordre décroissant : **rétinopathie, TADN, RBCA**. Viennent ensuite : hémoglobine, densité artériolaire, ancienneté du diabète et HbA1c (fig.3). Cette analyse permet de bien classer 100 % des patients. Si on ne retient pas la TADN pour l'analyse, la fonction discriminante est similaire.

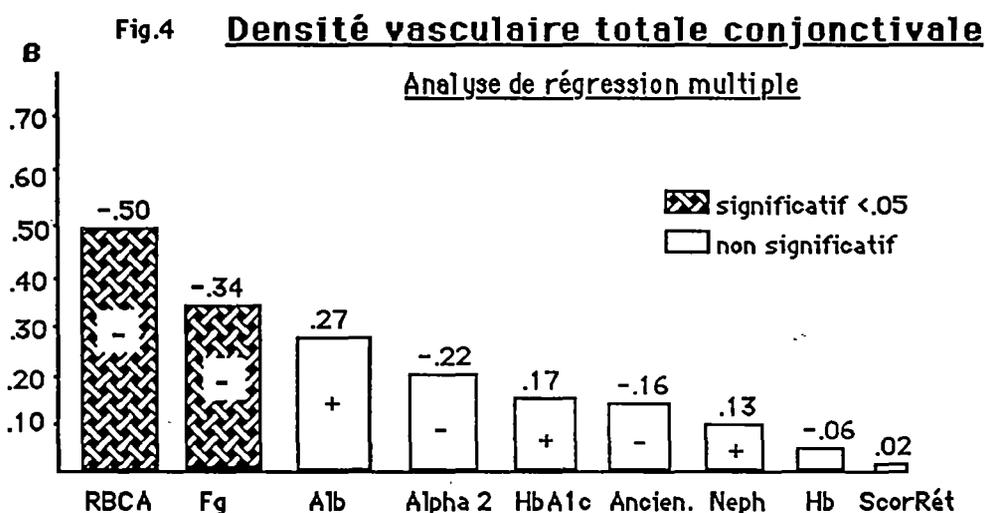


### 3. Etude des Déterminants de la Microangiopathie Conjonctivale

#### a. La densité vasculaire totale

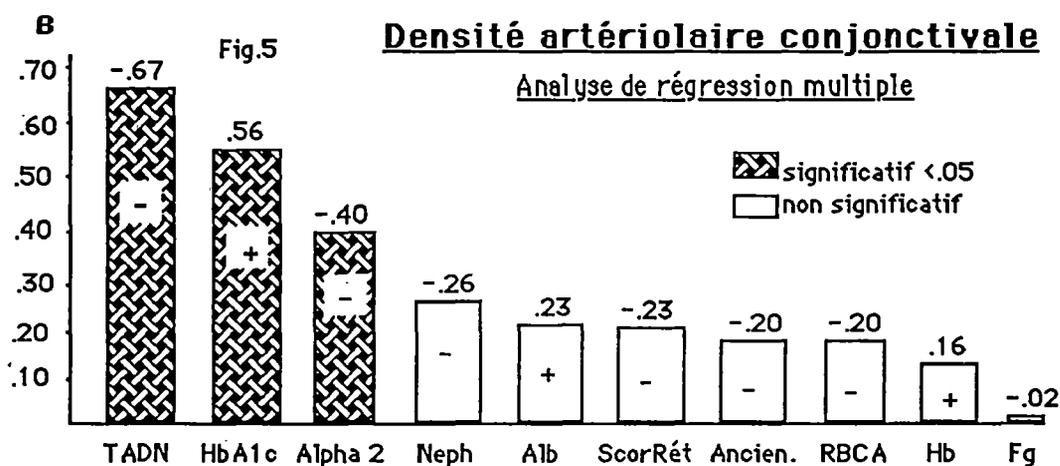
On s'intéresse ici aux déterminants régissant la densité vasculaire mesurée par morphométrie conjonctivale. S'agissant d'une variable continue, l'analyse utilisée ici est une étude des régressions multiples effectuées pas à pas. Les résultats sont représentés par le coefficient  $\beta$  qui exprime le poids de la variable sur le paramètre analysé. Le choix des variables prises en compte dans l'analyse est fait en fonction des conclusions de l'analyse factorielle (cf page 64) et de la matrice des corrélations (cf page 67).

Il ressort que les deux déterminants de la densité vasculaire totale retenus par l'analyse sont l'agrégation érythrocytaire et la fibrinogénémie, les facteurs suivants n'étant pas retenus : albumine, alpha 2 globulines, HbA1c, ancienneté, néphropathie, hémoglobine, score ophtalmologique (fig.4).



#### b. La densité artériolaire

L'analyse de régression multiple retient les trois facteurs suivants : la TADN, l'HbA1c et le taux des alpha 2 globulines, et écarte les facteurs suivants : la néphropathie, l'albumine, le score rétinien, l'ancienneté, l'agrégation érythrocytaire, l'hémoglobine et le fibrinogène (fig.5).



#### c. La tension artérielle diastolique nocturne

L'étude des régressions multiples montre que ce facteur peut être prédit par une équation à 2 variables : la néphropathie ( $\beta = 0.44$ ) et la densité artériolaire ( $\beta = -0.39$ ).

#### 4.L'Analyse du Score Conjonctival

##### a.Mise au point d'un nouveau score

Le score conjonctival que nous avons utilisé,proposé par Lagrue et Maurel,prend en compte 11 items différents (3 items artériolocapillaires,3 items veinulaires,3 items tissulaires,les microanévrismes et l'agrégation érythrocytaire) et permet de coter l'examen de 0 à 10.

Nous avons cherché à partir de nos 30 observations à redéfinir un score optimal.Pour cela,nous avons réalisé une classification hiérarchique des items,le calcul informatique permettant de dégager ceux des items qui suffisent à classer tous les patients.

Cette classification hiérarchique a abouti à la sélection des 4 items morphologiques suivants permettant la définition d'un nouveau score coté de 0 à 6 :

- l'hétérogénéité du réseau capillaire avec zones de raréfaction (0,1),
- la désorganisation d'ensemble du réseau circulatoire conjonctival (0,1),
- les microanévrismes (0,1,2),
- les tortuosités veinulaires (0,1,2).

##### b.Validation du nouveau score

Nous avons cherché dans un deuxième temps à valider ce nouveau score par rapport aux deux paramètres de référence de MAD que sont la rétinopathie et la néphropathie, et à étudier ses relations avec l'agrégation érythrocytaire,à l'aide de tests de  $\chi^2$ .La même étude a été réalisée pour le score initial de Lagrue et Maurel,dont nous ne donnerons que l'indice de Pearson et la significativité à titre de comparaison.

\*Nouveau score conjonctival et rétinopathie :

nouveau score	s0	s1	s2	s3	s4	s5	s6
rét. 0	1	2	2	3			
rét. 1		2	4	4	5		
rét. 2			2	1	2	1	1

Indice de Pearson R =.49 ( score Lagrue R =.58)  
significativité s = .0026 ( score Lagrue s =.0004)

\*Nouveau score conjonctival et néphropathie :

nouveau score	s0	s1	s2	s3	s4	s5	s6
néph. 0	1	3	7	7	2		
néph. 1			1		3	1	1

Indice de Pearson R =.59 ( score Lagrue R =.51)  
significativité s=.0006 ( score Lagrue s =.0035)

\*Nouveau score conjonctival et agrégation érythrocytaire :

nouveau score	s0	s1	s2	s3	s4	s5	s6
RBCA 0	1	4	6	4	1		
RBCA 1			2	2	4		
RBCA 2				2	2	1	1

Indice de Pearson R =.66 ( score Lagrue : non autorisé puisque RBCA entre dans la significativité s=.0000  
détermination de ce score)

\*Synthèse :

On constate que le nouveau score présente une corrélation de rang satisfaisante et significative avec les index de rétinopathie et de néphropathie. La corrélation avec RBCA est également forte. Les corrélations de ce nouveau score avec les index de MAD sont superposables avec celles du précédent score, bien que le nouveau score paraisse mieux lié à la néphropathie et l'ancien score à la rétinopathie.

Il apparaît également au vu des tableaux croisés qu'il est possible de simplifier ce nouveau score en 3 classes : cl0 "normale" (s0 + s1), cl1 "intermédiaire" (s2), cl2 "pathologique" (s3 + s4 + s5 + s6). Un tel score permet de détecter une MAD rétinienne (toutes formes confondues ou formes proliférantes seulement) et rénale avec une très bonne sensibilité au prix d'une très médiocre spécificité, ce en quoi il est tout à fait superposable au score de Lagrue et Maurel.

score simplifié	cl0	cl1	cl2	sensib.	spécif.	v.préd.+	v.préd.-
rét. 0	3	2	3				
rét. 1	2	4	9	91 %	37 %	80 %	60 %
rét. 2		2	5	100%	21 %	28 %	100%
néph. 0	4	7	9				
néph. 1		1	5	100%	20 %	27 %	100%
RBCA 0	5	6	5				
RBCA 1		2	6				
RBCA 2			6				

c. Analyse de variance du nouveau score

L'analyse de variance de ce score par rapport à l'ensemble des variables continues de notre étude ne retrouve qu'une liaison avec l'ancienneté du diabète ( $s=.04$ ,  $l=.0018$ ,  $r=.56$ ) et ne montre en particulier pas de liaison avec les paramètres morphométriques.

## IV. DISCUSSION

### A. INTERET DE L'AGREGATION ERYTHROCYTAIRE

L'intérêt essentiel dégagé par cette étude est de contribuer à la compréhension de l'agrégation érythrocytaire chez le diabétique, de ses déterminants physiopathologiques et de ses implications cliniques. A ce stade, il est important de souligner que notre population est jeune (âge 33.4 ± 11.1 ans) et peu déséquilibrée sur le plan glycémique (HbA1c = 8.06% ± 1.6).

#### 1. Les aspects physiopathologiques

\*Les données de la littérature sur les déterminants de l'agrégation érythrocytaire in vivo sont représentées essentiellement par les trois études suivantes :

-Ditzel a montré chez 145 diabétiques de type 1 une corrélation entre RBCA, albumine (corrélation négative) et globulines alpha<sub>1,2</sub> et β (corrélation positive), l'influence de l'ancienneté du diabète et de l'équilibre métabolique n'étant pas précisée (41);

-Isogai a illustré chez 63 diabétiques de type 2 l'évolution parallèle du grade de RBCA, des paramètres rhéologiques in vitro (VS, fibrinogène, viscosité plasmatique et sanguine) et du niveau glycémique ponctuel (cf schéma page 46) mais la significativité des corrélations n'était pas précisée, ni l'influence de l'ancienneté du diabète et de l'HbA1c (65);

-Carpentier a montré dans un groupe de 19 patients de médecine interne, par étude statistique multifactorielle, que les facteurs principaux influençant l'agrégation in vivo chez les non-diabétiques sont la fibrinogénémie et l'albuminémie, et que l'influence de l'hématocrite est plus importante in vitro sur la VS que sur l'agrégation in vivo, la prise en compte de l'hématocrite permettant d'améliorer la corrélation entre VS et RBCA (18);

-on cite enfin les travaux anciens de Labram observant un sludge conjonctival au cours d'acidocétose diabétique et sa régression en quelques semaines (83).

\*Notre étude permet de suggérer certaines particularités de l'agrégation érythrocytaire chez le diabétique par rapport au non-diabétique, dégagées grâce à l'analyse multifactorielle :

-l'influence prépondérante de l'ancienneté du diabète et de l'HbA1c dans la fonction discriminante optimale, par rapport aux facteurs protéiques, est une notion nouvelle à notre connaissance. Elle peut suggérer que l'hématie du diabétique, en plus des perturbations de l'environnement plasmatique, est sensible à des modifications intrinsèques : glycosylations des structures érythrocytaires favorisant l'agrégation ? altérations mécaniques des hématies traversant un réseau circulatoire atteint de microangiopathie ? On rappelle que Wautier note une adhésivité érythrocytaire accrue chez le diabétique qui paraît indépendante d'un facteur plasmatique (155). Des données récentes semblent établir qu'à niveau de fibrinogénémie égal, les hématies de diabétiques s'agrègent plus facilement (J.F. Stoltz, communication personnelle). Il faut remarquer que le taux moyen de fibrinogène (3.07 g/l ± 0.6) et d'albumine (35.7 g/l ± 4.75) est normal. Cependant l'influence de l'HbA1c peut refléter le rôle des glycosylations des protéines plasmatiques, puisqu'on a montré que l'albumine glycosylée inhibait moins fortement l'agrégation érythrocytaire.

-l'influence des triglycérides est difficile à analyser ici. Elle peut refléter d'une part un effet indirect puisqu'on sait les triglycérides corrélés avec l'équilibre glycémique et l'HbA1c; de fait la part des triglycérides de la première fonction discriminante (fig.1a) est affaiblie dans la troisième fonction discriminante qui prend en compte l'HbA1c (fig.1c). Elle peut refléter d'autre part un effet propre des triglycérides, et Del Guercio a montré qu'un régime hyperlipidique accentuait l'agrégation érythrocytaire in vivo (38). Notre population n'était pas hypertriglycéridémique (moyenne = 1.14 g/l ± 0.55), l'examen était réalisé à heure identique pour tous les patients (13h30, 1 à 2 heures après le repas).

-l'analyse des seuls déterminants biologiques habituels de l'agrégation ne montre pas la prédominance de l'albumine et du fibrinogène retrouvée chez les non-diabétiques, mais dégage le rôle essentiel de l'hémoglobininémie (corrélation négative). La diminution de son taux joue ici un rôle important sur l'agrégation in vivo, comme cela a été montré in vitro sur la VS (18). En premier lieu, on peut se demander si cette baisse exerce un rôle réel in vivo, ou si tout comme

l'anémie accélère la VS, elle ne majore pas artificiellement le score de RBCA dont l'évaluation précise entre grade 0 ou 1 est parfois difficile. En second lieu, l'effet de cette diminution est-il propre à l'hémoglobine ou passe-t-il par l'ancienneté du diabète qui lui est corrélée négativement ( $r = -.52; p = .002$ )? L'affaiblissement de l'hémoglobine dans la seconde équation discriminante (fig. 1b) évoque plutôt un effet indirect. En troisième lieu, pour expliquer la diminution de l'hémoglobine du diabétique, on peut citer la réduction de demi-vie des hématies marquées au chrome 51 correctible par le contrôle glycémique mise en évidence par Peterson (123 bis) ou évoquer une altération des hématies consécutive à la MAD elle-même. Dans notre étude, la régression multiple montre un rôle prédominant de l'ancienneté alors que l'HbA1c n'a aucun poids. Enfin l'effet propre de l'hémoglobine sur RBCA reste mal connu; notre étude contredit certaines données in vitro suggérant un effet proagrégant de l'hématocrite, ainsi que les données cliniques montrant l'effet thérapeutique bénéfique des hémodilutions.

-l'analyse discriminante des déterminants de RBCA met également en évidence un poids modeste des leucocytes (corrélation négative). On ne retrouve pas dans la littérature de travaux sur l'évolution du taux des globules blancs et sur leur rôle microcirculatoire chez le diabétique. L'influence connue du stress sur le taux des leucocytes circulants rend d'ailleurs aléatoires les travaux sur cette question. Il est permis de supposer que les interactions des leucocytes et des hématies inhibent l'agrégation érythrocytaire. Cependant les travaux hémorhéologiques récents suggèrent plutôt que les leucocytes exercent un effet néfaste sur la microcirculation. Tout comme les travaux sur la déformabilité érythrocytaire ont amené à étudier actuellement la filtrabilité et l'adhésivité leucocytaire, il est probable que l'on s'intéressera aussi à l'influence des leucocytes sur l'agrégation érythrocytaire. Par ailleurs, notre étude a permis de relever une corrélation linéaire très nette entre le taux des plaquettes et RBCA ( $s = .02, l = .01, r = -.84$ ), cependant le faible effectif (8 cas ici) nécessite des études complémentaires sur ces interactions plaquettes-hématies que les travaux de Juhan sur l'agrégation plaquettaire ont déjà contribué à éclairer (72).

-cette étude enfin ne retrouve pas de corrélation entre vitesse de sédimentation et agrégation in vivo. On connaît les nombreuses discordances entre ces deux méthodes déjà décrites dans la littérature (cf page 47) et ce travail est une illustration supplémentaire de la complémentarité de ces deux examens qui ont des déterminants biologiques et une signification clinique différents.

\*Ces résultats doivent aussi être interprétés à la lumière des travaux réalisés sur la physiopathologie de l'agrégation érythrocytaire in vitro, bien qu'il n'existe pas d'étude comparant les données sur l'agrégation in vivo et in vitro :

-Shu Chien avait le premier montré le rôle antagoniste de l'albumine et du fibrinogène sur l'agrégation in vitro (24);

-Schmid-Schonbein avait lui constaté chez 77 diabétiques de type 1 ou 2 une hyperagrégation indépendante des facteurs âge, ancienneté, état métabolique, rétinopathie, mais accrue en cas d'infection et dépendante de facteurs plasmatiques puisque non retrouvée sur hématies suspendues dans du plasma témoin (132);

-Satoh a par contre observé chez 28 diabétiques de type 1 une corrélation entre la vélocité d'agrégation et le taux d'HbA1c, d'alpha2 globulines, de fibrinogène et le rapport  $a2+fg/alb$ , et une agrégation significativement accrue dans le groupe avec rétinopathie proliférante (130);

-Le Devehat montre enfin que l'agrégation in vitro est perturbée même chez les patients bien équilibrés et qu'elle s'aggrave chez les patients mal contrôlés et surtout chez ceux porteurs d'une angiopathie (Diabetes, soumis pour publication).

\*Sur un plan physiopathologique, il apparaît nécessaire de compléter l'ensemble de ces travaux par au moins deux types d'études :

-une étude cherchant à valider les données obtenues in vitro sur l'agrégation érythrocytaire par une étude simultanée de l'agrégation au niveau conjonctival qui, à notre sens, doit actuellement être prise comme référence;

-une étude cherchant à préciser l'influence de l'équilibre glycémique sur l'agrégation, in vivo et in vitro, à court terme par pancréas artificiel, et à moyen terme chez des patients très déséquilibrés ou en acidocétose après équilibration glycémique conventionnelle.

## 2. Les aspects cliniques

Un des résultats les plus remarquables de cette étude est de mettre en évidence le poids important de l'agrégation érythrocytaire comme facteur prédictif de microangiopathie diabétique organique ou fonctionnelle.

Ce fait est particulièrement net pour la rétinopathie, pour laquelle l'analyse de variance montre une forte corrélation linéaire avec RBCA ( $s=.0002; l=.0000; r=.68$ ), tandis que l'analyse discriminante place RBCA parmi les facteurs les plus puissants avec l'ancienneté du diabète. L'existence d'une agrégation pathologique permet de détecter une rétinopathie avec une sensibilité de 63% et une spécificité de 100%, et une rétinopathie proliférante avec une sensibilité de 85% et une spécificité de 65%. Le test de  $\chi^2$  montre une très bonne corrélation de rang entre grade d'agrégation et degré de rétinopathie. Parmi les autres facteurs les plus déterminants de la rétinopathie, on note la place prépondérante de l'ancienneté du diabète, ce qui est en accord avec les principales données de la littérature associant clairement ancienneté du diabète et prévalence de la MAD (155 bis). Le très faible poids de l'HbA1c dans la rétinopathie conforte le caractère organique de cette affection telle qu'elle est évaluée par angiographie, ainsi que l'effet controversé souvent décevant de l'équilibration glycémique sur son évolution.

L'étude de la néphropathie montre également une bonne corrélation de rang entre grade d'agrégation et degré d'atteinte fonctionnelle rénale évaluée d'après la microalbuminurie. L'analyse discriminante de la néphropathie retient là encore RBCA parmi les facteurs les plus déterminants, les deux autres facteurs étant le degré de rétinopathie et la TADN, ce qui n'infirmes pas les faits déjà établis montrant les liens entre rétinopathie et excrétion urinaire d'albumine (Marre 99 ter) et entre microalbuminurie et chiffres tensionnels (112). L'HbA1c a ici un poids non négligeable argumentant l'aspect fonctionnel de cette fuite.

Les données de la littérature sur la place de RBCA et des facteurs rhéologiques dans la MAD vont dans le même sens et ont été développées dans les deux premières parties :

-Ditzel dans son étude de 145 diabétiques de type 1 notait déjà que l'incidence d'un sludge est d'autant plus importante que les complications de MAD sont plus sévères (cf schéma page 45); il constate par ailleurs que si une agrégation de grade 1 ou 2 peut se rencontrer chez les témoins non diabétiques (7 et 3 cas sur 70), le grade 3 de sludge est toujours pathologique (0/70); enfin il remarque que 20% des diabétiques ont un sludge en dehors de toute MAD et suggère que le sludge pourrait précéder la MAD (41). On note que dans notre étude, aucun des diabétiques de type 1 ne présente de sludge véritable et qu'aucun des patients présentant une agrégation pathologique n'est indemne de rétinopathie.

-Isogai notait également chez 63 diabétiques de type 2 que l'agrégation conjonctivale de grade 2 ou 3 est associée à une rétinopathie plus sévère et à une ancienneté de diabète plus grande (cf tableau page 46)(65).

-les données des mesures in vitro de l'agrégation établies par Satoh et Le Devehat sont elles aussi compatibles avec nos résultats en montrant un indice d'agrégation plus élevé chez les patients atteints de MAD sévère (130).

-les travaux sur les facteurs rhéologiques de la néphropathie et en particulier sur la place de l'agrégation érythrocytaire sont par contre très pauvres. On dispose pourtant, avec la mesure conjonctivale de RBCA et le dosage de la microalbuminurie, de deux méthodes simples d'évaluer la MAD dans ses aspects fonctionnels et physiopathologiques.

Sur un plan physiopathologique, il n'est pas possible à partir d'une étude de caractère transversal de tirer de conclusion formelle. Deux conceptions opposées peuvent être avancées:

-le sludge participant à l'hyperviscosité sanguine est un facteur d'hémodétournement et d'hypoperfusion tissulaire impliqué dans la genèse de la MAD. On a constaté une hyperviscosité sanguine significative dans des populations indemnes de MAD (93), plus marquée en cas de MAD sévère (5) et sensible au contrôle glycémique à court terme (137) ou à moyen terme (120). Notre travail peut argumenter cette hypothèse en montrant une corrélation linéaire négative entre RBCA et densité vasculaire fonctionnelle totale (analyse de variance ;  $s=.0036; r=-.58$ ), artériolaire ( $s=.07; r=-.39$ ) et capillaire ( $s=.03; r=-.43$ ). Par analogie aux travaux qui ont

montré une relation négative entre TcPO<sub>2</sub> et viscosité sanguine et plasmatique (90,99), une hyperviscosité sanguine et une hypoxie tissulaire avant même l'apparition d'une MAD (90,93,99), il peut être facilement envisagé dans un but physiopathologique d'étudier les relations entre TcPO<sub>2</sub> et RBCA conjonctivale et les variations de ce dernier paramètre lors des traitements par oxygénothérapie hyperbare de certaines gangrènes diabétiques.

-l'hyperagrégation érythrocytaire est une conséquence des lésions endothéliales de la microcirculation qui modifieraient les propriétés intrinsèques d'agrégation des hématies. La forte corrélation linéaire entre RBCA et ancienneté du diabète (analyse de variance ;  $r=.65$  ;  $s=.0005$ ) pourrait aller dans ce sens.

Il est nécessaire pour conclure cette question de l'envisager sous un angle prospectif et de suivre en particulier le devenir des patients présentant une agrégation pathologique et indemnes de MAD par rapport aux patients à agrégation normale. Le seul travail prospectif sur rhéologie et diabète à notre connaissance est celui de Barnes mené sur 3 ans établissant la bonne valeur prédictive de la viscosité sanguine sur le devenir d'une rétinopathie (6).

### 3. Les aspects méthodologiques

Sur un plan clinique, la mesure de l'agrégation érythrocytaire *in vivo* peut donc être considérée comme un outil supplémentaire utile à la détection de patients à risque de MAD. Les limites de cette mesure tiennent à trois facteurs :

-la difficulté de l'évaluation de RBCA selon l'échelle en 4 niveaux de Ditzel est relativement faible. Si la reconnaissance d'un grade 0 ou d'un grade 3 ne pose en général pas de difficulté même à un oeil non averti, la distinction entre grade 1 et 2 nécessite un minimum d'expérience de l'angioscopie conjonctivale. La mesure de RBCA est certainement améliorée lorsque la luminosité du système optique est supérieure (suppression du zoom) et lorsque le facteur-éblouissement est maîtrisé (utilisation d'une lampe à fente). Il n'y a pas eu à notre connaissance d'étude de reproductibilité évaluant le facteur-observateur (expérience) et le facteur-conditions d'examen (rôle du stress, de la température). L'influence de l'alimentation a déjà été précisée (38). Davis a insisté sur la nécessité d'observer un sludge à 2 examens successifs avant de pouvoir le retenir (35).

-la spécificité de l'origine diabétique d'une hyperagrégation érythrocytaire conjonctivale peut être également discutée. Hormis les pathologies ophtalmologiques ou ORL de voisinage (rôle des sinusites chroniques et des infections dentaires subaigues si fréquentes sur ce terrain ?), tout syndrome inflammatoire, infectieux ou néoplasique peut donner lieu à une hyperagrégation érythrocytaire de caractère réversible. Dans notre étude, ce type de pathologie était compris dans nos critères d'exclusion et il s'agissait par ailleurs d'une population jeune. Enfin les déséquilibres métaboliques aigus récents étaient également exclus. Cependant une infection ou une néoplasie latentes ne peuvent être formellement éliminées.

-l'échelle mise au point par Ditzel, outre son caractère subjectif, peut enfin paraître insuffisamment quantitative et discriminative. Il faut souligner toutefois qu'elle reste la seule et la plus unanimement utilisée. D'un point de vue clinique, on voit mal comment cette échelle pourrait être perfectionnée. Cependant nos résultats nous incitent à chercher à améliorer le rendement apporté par la mesure de l'agrégation *in vivo* : couplage à des mesures de vitesse circulatoire conjonctivale ? mesure par analyse d'image informatique de la taille et du nombre des agrégats et des gaps plasmatiques ? réalisation d'un indice intégrant RBCA et densité capillaire fonctionnelle ?

Sur un plan méthodologique enfin, on observe que le paramètre rétinien que nous avons utilisé pour l'analyse multifactorielle est le score angiographique. Il existe certes une corrélation attendue avec le nombre de microanévrismes rétinien, en accord avec les données établies (8,78), mais cette corrélation est imparfaite ( $r=.41$  ;  $p=.026$ ). Ce fait peut tenir d'une part à une sous-estimation de la rétinopathie par le comptage des anévrismes dans les formes sévères, inversement d'autre part à une sous-estimation des formes très précoces qui pour certains se manifesteraient en moyenne périphérie et non pas au pôle postérieur, enfin à une résolution insuffisante méconnaissant les plus petits anévrismes.

## B.Intérêt de la Morphométrie Conjonctivale

### 1.Les aspects méthodologiques

La technique de morphométrie manuelle que nous avons utilisée permet l'accès aux quatre paramètres que sont les densités artériolaire,veinulaire,capillaire et totale.En fait,la densité totale et artériolaire doivent être considérées comme les paramètres les plus précis ici : la reconnaissance précise du type de vaisseau peut être rendue délicate si le réseau est très désorganisé;dans ce cas les artérioles sont souvent les mieux individualisées;de plus la résolution de notre système optique a pu faire sous-estimer la densité capillaire.

La méthode manuelle reste une méthode subjective dont la reproductibilité dépend de l'expérience et de la subjectivité de l'examineur.Ainsi Chen a constaté une variabilité de 10% si le même document est analysé 3 fois sur une semaine par le même observateur (22).La reproductibilité inter-examineur n'a pas encore été évaluée.Dans notre étude,toutes les mesures ont été réalisées par un seul examineur,sur des clichés préalablement codés et donc lus sans connaissance de la clinique.Il aurait été préférable d'effectuer toutes les lectures sur une même période de temps,en fait les mesures ont concernées les patients de 1 à 18 puis de 19 à 30,les deux périodes étant séparées d'un an,ce qui est critiquable.

La qualité de la mesure nécessite une bonne qualité technique du cliché,qui faisait partie des critères de choix de la zone de mesure.Un autre critère de choix était la représentativité : ainsi en cas d'hétérogénéité de perfusion,une zone apparemment normo- ou hyperhémique et une zone hypohémique était choisie.Les conditions d'éclairage ambiant sont importantes pour une bonne visualisation des capillaires et sont restées identiques pour toutes les lectures.

La surface de mesure minimale jugée représentative par Zweifach est de  $10 \text{ mm}^2$  (21); cependant nous avons délibérément exclu la région de la pinguecula des sites de mesure en raison de la désorganisation et de l'hétérogénéité de cette zone,aussi notre surface moyenne de  $7.13 \pm 1.12 \text{ mm}^2$  nous paraît suffisante.

L'écueil principal de la morphométrie manuelle reste la lenteur des mesures : ici environ 1h30 par patient,10 jours pour l'ensemble des 35 mesures,ce qui réserve cette méthode à des applications de recherche uniquement.

Il faut enfin rappeler que la mesure porte sur des vaisseaux fonctionnels,et non pas sur les vaisseaux structurellement présents mais non perfusés.La présence d'un oedème peut gêner la visualisation correcte des capillaires voire influencer sur leur remplissage mais dans notre étude l'oedème n'a été constaté que dans 1 cas.

### 2.Les aspects physiopathologiques

\*La principale information que l'on tire de l'analyse de régression multiple portant sur la densité vasculaire totale est que ce paramètre est essentiellement influencé par l'agrégation érythrocytaire (fig.4).L'analyse de variance montre également l'importance significative de RBCA sur les densités totale ( $s=.003;r=-.58$ ),capillaire ( $s=.03;r=-.43$ ) et artériolaire ( $s=.07;r=-.39$ ).

Ce résultat,qui confirme une précédente étude morphométrique réalisée par Carpentier portant sur 15 sujets non-diabétiques montrant une diminution significative des densités totale et capillaire chez les patients présentant un sludge (18),argumente un probable effet pathogène de l'hyperagrégation érythrocytaire sur la circulation nutritionnelle.On souligne qu'aucun des patients ne présentait de sludge véritable (grade 3).

Le poids important dans l'analyse de régression de la fibrinogénémie (fig.4) ,dont on sait qu'elle influence peu RBCA ici,peut refléter le rôle de la viscosité plasmatique sur la perfusion capillaire (96).

\*La densité artériolaire apparaît principalement influencée par la TADN (fig.5). Sullivan avait déjà noté une réduction des densités vasculaires chez des hypertendus "borderline" (142) et Harper notait une diminution de densité artériolaire chez des hypertendus avérés (62). Cette diminution paraît d'origine probablement structurale; elle est corrélée ici à la sclérose artériolaire telle que celle-ci a été appréciée subjectivement en angioscopie conjonctivale; une origine fonctionnelle vasomotrice ne peut cependant être exclue.

L'influence positive de HbA1c sur la densité artériolaire peut être interprétée comme une manifestation de l'hyperhémie liée aux déséquilibres métaboliques, dont on sait qu'elle s'accompagne d'une vasodilatation.

### 3. Les aspects cliniques

Si le principal intérêt de la mesure de densité totale est qu'elle représente une cible fonctionnelle de l'agrégation érythrocytaire, la densité artériolaire peut se présenter comme un marqueur du retentissement structural microcirculatoire d'une HTA débutante ou limite.

Les autres applications cliniques de la mesure des densités vasculaires conjonctivales sont décevantes:

- on note une corrélation négative entre la densité totale et le score conjonctival de Lagrue et Maurel (test de Student:  $r = -0.49$ ;  $p = 0.006$ ), ce qui pourrait faire proposer ce paramètre comme un indice quantitatif de la microangiopathie conjonctivale, à des fins de recherche clinique;

- seule la densité artériolaire est retenue dans l'analyse discriminante de la rétinopathie et, à un poids plus faible, de la néphropathie (corrélation négative). Sur le plan anatomique, on connaît la dégénérescence endothéliale du versant artériolaire dans la rétinopathie avancée (34). Fenton avait rapporté une diminution de densité des vaisseaux de moins de  $30\mu$  chez les diabétiques à âge égal par rapport aux témoins (52) mais la MAD n'était pas prise en compte. Cependant Chen a contredit récemment ce résultat dans une étude morphométrique informatisée en observant une élévation des densités à tous les âges (23).

En fait, il est probable que la mesure des densités vasculaires ne soit pas un indice suffisamment représentatif de la microangiopathie diabétique, hormis dans les cas très avancés où on note alors une raréfaction vasculaire prononcée. Le nouveau score conjonctival que nous proposons met d'ailleurs l'accent sur l'hétérogénéité de la perfusion chez le diabétique, ce qui souligne la difficulté de l'interprétation de la mesure des densités.

Les études morphométriques devraient donc à l'avenir tenir compte d'autres critères que les longueurs vasculaires, et on remarque que les items retenus dans notre nouveau score (désordre, tortuosités, hétérogénéité) sont accessibles à une quantification morphométrique. Celle-ci passe cependant nécessairement par des techniques informatiques.

### C. Intérêt du Score Conjonctival

Si le score de Lagrue et Maurel s'est révélé avoir ici une bonne corrélation de rang avec la rétinopathie et la néphropathie, une très bonne sensibilité dans le diagnostic de MAD avec toutefois une mauvaise spécificité, le nouveau score que nous proposons présente des caractéristiques similaires.

L'établissement d'un score sur 30 patients seulement ne peut bien sûr n'avoir qu'une valeur indicative et nécessite une confirmation à plus large échelle. On souligne que 3 des 4 items (anévrismes, désordre, tortuosités) de ce score établi chez des sujets jeunes perdent de leur spécificité avec l'âge et sont fréquents au cours de l'HTA et chez les athéromateux. Il est remarquable de constater que ce score n'a été calculé qu'à partir de paramètres morphologiques, et peut ainsi constituer avec les facteurs fonctionnels que sont l'agrégation érythrocytaire et la dilatation veineuse une représentation précise de la microangiopathie.

## CONCLUSIONS

## CONCLUSION

La recherche d'outils utiles à la compréhension et à la détection précoce de la microangiopathie diabétique nous a conduit à évaluer la place de l'angioscopie conjonctivale, technique simple et non invasive, dans cette pathologie chez 30 patients diabétiques de type 1.

Cette étude réalisée à l'aide de méthodes statistiques multifactorielles permet de dégager la place importante de l'agrégation érythrocytaire in vivo comme facteur discriminant de la rétinopathie et de la néphropathie. Ce phénomène rhéologique présente ici la particularité par rapport aux non-diabétiques d'être sous la dépendance essentielle de l'ancienneté du diabète et de l'équilibre glycémique, plutôt que des facteurs plasmatiques habituels que sont le fibrinogène et l'albumine. Il nous paraît important de mieux évaluer l'intérêt clinique de ce marqueur à partir de protocoles prospectifs, et de préciser ses relations avec l'état métabolique. La quantification de l'agrégation érythrocytaire in vivo doit pouvoir enfin être affinée par des techniques d'analyse d'images, et bénéficier d'études comparatives utilisant les nouvelles méthodes de mesure in vitro de l'agrégation érythrocytaire.

La quantification des anomalies morphologiques de la microcirculation conjonctivale sous forme d'un score permet d'obtenir une bonne sensibilité diagnostique dans la microangiopathie diabétique. L'analyse nous fait proposer un score simplifié d'intérêt clinique similaire prenant en compte les quatre critères suivants : désorganisation du réseau vasculaire, hétérogénéité du lit capillaire, tortuosités veinulaires et microanévrismes. Ce score morphologique, qui complète les informations rhéologiques fonctionnelles fournies par l'angioscopie conjonctivale, reste à évaluer à plus large échelle.

Les applications cliniques de la mesure morphométrique manuelle des densités vasculaires sont plus décevantes. Cette approche permet certes de confirmer la raréfaction vasculaire fonctionnelle liée à l'hyperagrégation érythrocytaire, et la raréfaction artériolaire au cours de l'HTA infra-clinique. Il est probable cependant que les mesures morphométriques devront à l'avenir prendre en compte d'autres paramètres géométriques microcirculatoires, notamment ceux du score morphologique, en passant par une informatisation.

(Conclusions et titre obligatoirement tapés à la machine)

THESE soutenue par Mr BENHAMOU Pierre-Yves

T I T R E : APPORT DE L'ANGIOSCOPIE CONJONCTIVALE QUANTITATIVE  
DANS L'EVALUATION DE LA MICROANGIOPATHIE DIABETIQUE

C O N C L U S I O N S

La revue des travaux physiopathologiques sur la microangiopathie diabétique nous amène à rappeler la place cruciale de la phase fonctionnelle de cette affection, car les effets thérapeutiques y sont les plus satisfaisants. Il apparaît ainsi primordial de disposer de marqueurs précoces et fiables de ce stade.

Les anomalies rhéologiques décrites au cours du diabète représentent un domaine d'investigation relativement neuf, dont l'exploration devrait très prochainement pouvoir être réalisée de manière standardisée et routinière, et mettre à notre disposition des indices répondant à l'objectif fixé.

Ces troubles fonctionnels coexistent avec des anomalies structurales de la microcirculation, et les quelques travaux préliminaires quantifiant les variations géométriques du lit microvasculaire par des techniques d'analyse d'image, suggèrent l'existence de modifications discrètes précédant les manifestations cliniques de la microangiopathie diabétique.

L'angioscopie conjonctivale est une méthode simple et atraumatique dont le double intérêt est de permettre la visualisation in vivo de ces anomalies rhéologiques et morphologiques.

.../...

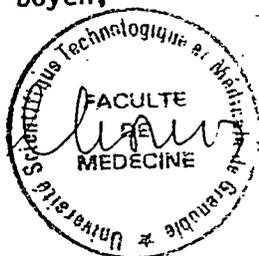
## CONCLUSIONS (suite)

Le but de notre étude est d'illustrer les possibilités de dépistage et de quantification de la microangiopathie diabétique offertes par cette méthode. Les paramètres analysés sont les densités artériolaire, veinulaire et capillaire estimées par méthode morphométrique, l'agrégation érythrocytaire quantifiée selon l'échelle de Ditzel en 4 grades, et un score morphologique semi-quantitatif en 10 points. La microangiopathie rétinienne est prise comme référence, elle est quantifiée sur l'angiographie rétinienne fluoresceinique par la numération des microanévrismes et par un score semi-quantitatif. La microangiopathie rénale est également prise en compte par le dosage de la microalbuminurie. Les résultats ainsi obtenus chez 30 sujets diabétiques sont analysés et également interprétés à la lumière de tests rhéologiques in vitro.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER

GRENOBLE, le 22 février 1988

Le Doyen,



Le Président de thèse.

Professeur P. AMBLARD

A handwritten signature in blue ink, corresponding to the name P. AMBLARD mentioned in the text above.

## BIBLIOGRAPHIE

## BIBLIOGRAPHIE

- (1) Almer L.O., Pandolfi M. : Fibrinolysis and diabetic retinopathy - *Diabetes* 1976; 25, (suppl.2): 807-810.
- (2) Ashton I.K., Dornan T.L., Pocock A.E., Turner R.C., Bron A.J. : Plasma somatomedin activity and diabetic retinopathy - *Clinical Endocrinology* 1983 ; 19 : 105-110.
- (3) Ashton N. : Diabetic retinopathy. A new approach - *Lancet* 1959; ii : 625-630.
- (4) Bareford D., Jennings P.E., Stone P.C.W., Baar S., Barnett A.H., Stuart J. : Effects of hyperglycaemia and sorbitol accumulation on erythrocyte deformability in diabetes mellitus - *J.Clin.Pathol.* 1986; 39 :722-727.
- (5) Barnes A.J., Locke P., Scudder P.R., Dormandy T.L., Dormandy J.A., Slack J. : Is hyperviscosity a treatable component of diabetic microcirculatory disease ? - *Lancet* 1977; ii:789-791.
- (6) Barnes A.J. : communication à la 5ème conférence européenne d'hémorhéologie clinique-Bordeaux, juin 1987-in *Act.Méd.Int.-Angiologie* 1987;4,(60):1664-1671.
- (7) Barnett A.H., Dallinger K., Jennings P., Fletcher J., Odugbesan O. : Microalbuminuria and diabetic retinopathy - *Lancet* 1985; j : 53-54.
- (8) Baudoin C., Maneschi F., Quentel G., Soubrane G., Hayes T., Jones G., Coscas G., Kohner E.M. : Quantitative evaluation of fluorescein angiograms : microaneurysm counts - *Diabetes* 1983; 32, (suppl.2): 8-13.
- (9) Bech K., Hansen E., Lorentzen S.E., Lundbaek K. : The V/A ratio of the smaller vessels of the bulbar conjunctiva in diabetes mellitus - *Diabetes* 1960 ; 9,(6) : 441-6.
- (10) Bjork V.O., Intonti F., Nordlund S. : Correlation between sludge in the bulbar conjunctiva and the mesentery - *Ann.Surg.* 1964 ; 159,(3) : 428-31.
- (11) Bohlen H.G. : Pathological expression in the microcirculation : hypertension and diabetes - *Physiologist* 1982 ; 25 : 391-5.
- (12) Bohlen H.G., Hankins K.D. : Early arteriolar and capillary changes in streptozotocin-induced diabetic rats and intraperitoneal hyperglycaemic rats - *Diabetologia* 1982 ; 22 : 344-348.
- (13) Boisseau M.R., Freyburger G., Lorient-Roudaut M.F. : Conséquences microcirculatoires des perturbations hémorhéologiques - *J.Mal.Vasc.*1987;12 :127-130.
- (14) Bollinger A., Frey J., Jager K., Furrer J., Seglias J., Siegenthaler W. : Patterns of diffusion through skin capillaries in patients with long-term diabetes - *N.Engl.J.Med.* 1982; 307:1305-1310.
- (15) Bouissou H., Pieraggi M.T., Julian M. : Lésions anatomo-pathologiques des vaisseaux du diabétique - *Vie Méd.* 1975; 3 :101-10.
- (16) Carpentier P., Franco A. : L'angioscopie conjonctivale.Monographie.Lab.Lafon - Deltacom Ed.,Paris,1985.

- (17) Carpentier P.,Franco A. : La microcirculation,un monde qui naît à la clinique - *Méd.et Hyg.* 1985; 43 :170-7.
- (18) Carpentier P.,Aguilaniu F.,Sarrot-Reynauld F.,Devant O.,Rousset J.Y.,Diamand J.M., Massot C.,Franco A. : L'agrégation érythrocytaire et son retentissement sur la microcirculation conjonctivale chez l'homme.Etude morphométrique et corrélations biologiques - *J.Mal.Vasc.* 1986;11 : 219-23.
- (19) Carpentier P.,Meyer U.,Magne J.L.,Sarrot-Reynauld F.,Franco A.,Intaglietta M. : Evaluation directe in vivo des effets inotropes et bathmotropes des substances médicamenteuses sur la vasomotricité artériolaire - Communication au Congrès National Français de Microcirculation,Tours,7 novembre 1986.
- (20) Chazan B.I. : Microaneurysms in diabetes mellitus - *Acta diabet.lat.* 1972; 9 : 337-49.
- (21) Chen P.C.Y.,Kovalcheck S.W.,Hansen P.,Zweifach B.W. : Determining adequate sampling size and homogeneity index on the bulbar conjunctiva - *Int.J.Microcirc.* 1984; 3, (3-4): 529.
- (22) Chen P.C.Y.,Kovalcheck S.W.,Zweifach B.W. : Analysis of microvascular network in bulbar conjunctiva by image processing - *Int.J.Microcirc.Clin.Exp.*1987; 6:245-255.
- (23) Chen P.C.Y.,Zweifach B.W. : Network reorganization - Human bulbar conjunctiva in aging and disease - 4ème Congrès Mondial Microcirculation -Tokyo 1987 -*Excerpta Medica ICS 755*:569-572.
- (24) Chien S.,Usami S.,Dellenback R.J.,Gregersen M.I. : Shear dependent interaction of plasma proteins with erythrocytes in blood rheology - *Am.J.Physiol.*1970;219:143-153.
- (25) Christiansen J.S.,Frandsen M.,Parving H.H. : Effect of intravenous glucose infusion on renal function in normal man and in insulin-dependent diabetics - *Diabetologia* 1981; 21 : 368-373.
- (26) Christiansen J.S.,Gammelgaard J.,Frandsen M.,Orskov H.,Parving H.H. : Kidney function and size in type 1 diabetic patients before and during growth hormone administration for one week - *Diabetologia* 1982; 22 :333-337.
- (27) Christlieb A.R. : Renin angiotensin aldosterone system in diabetes mellitus - *Diabetes* 1976; 25,(suppl.2):820-825.
- (28) Coget J.M.,Wattel F.,Mathieu D.,Aquilanti M. : Red blood cell deformability and hyperbaric oxygen therapy - 4ème Congrès Mondial Microcirculation - Tokyo 1987- *Excerpta Medica ICS 755*:497-498.
- (29) Colwell J.A.,Halushka P.V.,Sarji K.,Levine J.,Sagel J.,Nair R.M.G. : Altered platelet function in diabetes mellitus - *Diabetes* 1976; 25,(suppl.2):826-831.
- (30) Colwell J.A.,Halushka P.V.,Sarji K.E.,Lopes-Virella M.F.,Sagel J. : Vascular disease in diabetes.Pathophysiological mechanisms and therapy - *Arch.Intern.Med.* 1979; 139 : 225-30.
- (31) Colwell J.A.,Winocour P.D.,Halushka P.V. : Do platelets have anything to do with diabetic microvascular disease ? - *Diabetes* 1983; 32,(suppl.2):14-19.

(32) Copley A.L. : Film endo-endothélial de fibrine et coagulation du fibrinogène sans participation de la thrombine. Signification chez le sujet sain et le sujet malade - *Gaz. Med. Fr.* 1978; suppl. :17-32.

(33) Coscas G. : Evaluation quantitative de la rétinopathie diabétique : pourquoi? comment? In: Symposium international sur la rétinopathie diabétique, Créteil, oct. 1984, *Revue Chibret d'Ophtalmologie* 1985; 105:131-5.

(34) Cunha-Vaz J.G. : Studies on the pathophysiology of diabetic retinopathy. The blood-retinal barrier in diabetes - *Diabetes* 1983; 32, (suppl.2):20-27.

(35) Davis E., Chazan B.I., Landau J., Ivry M. : Clinically significant intravascular red cell aggregation - *Angiology* 1963; 14:430-4. à

(36) Davis E., Landau J., Chazan B.I. : The incidence and significance of conjunctival micropools - *Bibl. Anat.* 1965; 7:543-6.

(37) Davis E., Herman J.B. : The small blood vessels in chemical diabetes - *Bibl. Anat.* 1973; 11 : 468-72.

(38) Del Guercio R., Conti G., Pinto R., Valva M., Palumbo E., Giancaspro V. : Intravascular erythrocyte aggregation and some diurnal biohumoral constants after standard meals in patients with various diseases - *Bibl. Anat.* 1967; 9 :535-9.

(39) Dexel T., Boehme H., Schmidt P., Halsbeck M., Mehnert H. : Investigation of conjunctival vessels in diabetics with and without retinopathy by means of a microcirculation index - *Bibl. Anat.* 1977; 16:442-4.

(40) Ditzel J., Moinat P. : The responses of the smaller blood vessels and the serum proteins in pregnant diabetic subjects - *Diabetes* 1957; 6 :307-323.

(41) Ditzel J., Moinat P. : Changes in serum proteins, lipoproteins and protein-bound carbohydrates in relation to pathologic alterations in the microcirculation of diabetic subjects - *J. Lab. Clin. Med.* 1959 ;54 : 843-859.

(42) Ditzel J., Beaven D.W., Renold A.E. : Early vascular changes in diabetes mellitus - *Metabolism* 1960; 9:400-407.

(43) Ditzel J. : Conjunctival vascular changes in relation to retinopathy and nephropathy of diabetes mellitus - *Acta Med. Scand.* 1967; 182, (2):213-8.

(44) Ditzel J., Heuer H.E. : Caliber changes in the cutaneous microvessels as related to changes in basal metabolism in diabetics - *Bibl. Anat.* 1975; 13 :219-221.

(45) Ditzel J. : Oxygen transport impairment in diabetes - *Diabetes* 1976; 25, (suppl.2) : 832-8.

(46) Ditzel J. : Affinity hypoxia as a pathogenetic factor of microangiopathy with particular reference to diabetic retinopathy - *Acta Endocrinol. (Kbh)* 1980; 94, (suppl.238):39-55.

(47) Ditzel J., Brochner-Mortensen J. : Tubular reabsorption rates as related to elevated glomerular filtration in diabetic children - *Diabetes* 1983; 32, (suppl.2):28-33.

(48) Dormandy J.A., Hoare E., Khattab A.H., Arrowsmith D.E., Dormandy T.L. : Prognostic significance of rheological and biochemical findings in patients with intermittent claudication -

*Br.Med.J.* 1973;4 :581-583.

(49) Drouin P.,Louis J.,Voisin P.,Pointel J.P.,Kolopp M.,Stoltz J.F.,Debry G. : Le syndrome d'hyperviscosité du diabétique.In : *Journées de diabétologie de l'Hôtel-Dieu* - Ed.Flammarion Médecine Sciences,Paris 1983:199-209.

(50) Faglia E.,Baroni G.C.,Favales F.,Ballerio G. : Traitement de la gangrène diabétique par l'oxygénothérapie hyperbare.In:*Journées de diabétologie de l'Hôtel-Dieu*, Ed.Flammarion Médecine Sciences,Paris 1987:209-216.

(51) Fagrell B.,Hermansson I.L.,Karlander S.G.,Osregren J. : Vital capillary microscopy for assessment of skin viability and microangiopathy in patients with diabetes mellitus - *Acta Med.Scand.*1984; suppl.687:25-28.

(52) Fenton B.M.,Zweifach B.W.,Worthen D.M. : Quantitative morphometry of conjunctival microcirculation in diabetes mellitus - *Microvasc.Res.*1979;18 :153-66.

(53) Franco A.,Massot C.,Halimi S.,Mazare Y.,Sarrazin R.,Piquard J.F.,Lebas J.F. : Aspects de l'irrigation périphérique chez le diabétique.Utilisation d'une nouvelle méthode rhéographique - *Lyon Méd.* 1977;237,(5) : 391-394.

(54) Friedman S.,Jones H.W.,Golbetz H.V.,Lee J.A.,Little H.L.,Myers B.D. : Mechanisms of proteinuria in diabetic nephropathy II.A study of the size selective glomerular filtration barrier - *Diabetes* 1983;32,(suppl.2):40-46.

(55) Gabbay K.H. : Les bases biochimiques des complications du diabète.In : *Journées de diabétologie de l'Hôtel-Dieu*, Ed.Flammarion Médecine Sciences,Paris 1984:307-321.

(56) Gambhir K.K.,Archer J.A.,Bradley C.J. : Characteristics of human erythrocyte insulin receptors - *Diabetes* 1978;27 :701-708.

(57) Gaudric A.,Coscas G. : Les classifications de la rétinopathie diabétique.In:Symposium international sur la rétinopathie diabétique,Créteil,oct.1984, *Revue Chibret d'Ophthalmologie* 1985; 105 :109-117.

(58) Grimaldi A. : Physiopathologie de la microangiopathie diabétique - *Ann.Méd.Int.* 1982; 133 ,(2):114-27.

(59) Grimaldi A.,Bosquet F. : Microangiopathie diabétique fonctionnelle - *Rev.Méd.Interne* 1985; 6 :127-141.

(60) Groth C.G.,Lofstrom B. : Conjunctival microscopy and erythrocyte sedimentation rate as methods for examining erythrocyte aggregation.An experimental study in man - *Bibl.Anat.* 1964; 4 :179-83.

(61) Gundersen H.J.G. : Peripheral blood flow and metabolic control in juvenile diabetes - *Diabetologia* 1974;10 : 225-31.

(62) Harper R.N.,Moore M.A.,Marr M.C.,Watts L.E.,Hutchins P. : Arteriolar rarefaction in the conjunctiva of human essential hypertensives - *Microvasc.Res.*1978;16:369-72.

(63) Hutchins P.M. : Arteriolar rarefaction in hypertension - *Bibl.Anat.* 1979;18:166-8.

(64) Ishibashi T.,Tanaka K.,Taniguchi Y. : Platelet aggregation and coagulation in the pathogenesis of diabetic retinopathy in rats - *Diabetes* 1981; 30 :601-606.

- (65) Isogai Y., Mochizuki K., Yokose T., Okabe H., Ashikaga M., Akiyama M., Abe M. : Intravascular erythrocyte aggregation and hemorheological abnormalities in diabetes - *Bibl.Anat.* 1981; 20 :161-165.
- (66) Isogai Y., Shimada T., Yokose T., Saito N. : Clinical picture of diabetic microangiopathy with special reference to hemorheological factors - 4ème Congrès Mondial Microcirculation - Tokyo 1987 - *Excerpta Medica ICS 755* :591-594.
- (67) Janka H.U., Standl E., Schramm W., Mehnert H. : Platelet enzyme activities in diabetes mellitus in relation to endothelial damage - *Diabetes* 1983; 32, (suppl.2):47-51.
- (68) Jialal I., Crettaz M., Hachiya H.L., Kahn C.R., Moses A.C., Buzney S.M., King G.L. : Characterization of the receptors for insulin and the insulin like growth factors on micro and macrovascular tissues - *Endocrinology* 1985; 117 :1222-1229.
- (69) Jones D.B., Davis T.M.E., Bown E., Carter R.D., Mann J.I., Prescott R.J. : Determinants of ADP induced platelet aggregation in diabetes mellitus - *Diabetologia* 1986; 29 :291-294.
- (70) Juhan I., Buonocore M., Vovan L., Durand F., Calas M.F., Moulin J.P., Vague P. : Filtrabilité des hématies chez les diabétiques. Influence de la glycémie et variations après connection à un pancréas artificiel. - *Nouv.Presse Med.* 1979; 8 :4083-4085.
- (71) Juhan I., Vague P., Buonocore M., Moulin J.P., Calas M.F., Vialettes B., Verdote J.J. : Effects of insulin on erythrocyte deformability in diabetics. Relationship between erythrocyte deformability and platelet aggregation - *Scand.J.Clin.Lab.Invest.* 1981; 41, (suppl.156) : 159-164.
- (72) Juhan I., Vague P., Buonocore M., Moulin J.P., Jouve R., Vialettes B. : Abnormalities of erythrocyte deformability and platelet aggregation in insulin-dependent diabetics corrected by insulin in vivo and in vitro - *Lancet* 1982; i :535-7.
- (73) Kastrup J., Norgaard T., Parving H.H., Henriksen O., Lassen N.A. : Impaired autoregulation of blood flow in subcutaneous tissue of long term type 1 diabetic patients with microangiopathy: an index of arteriolar dysfunction - *Diabetologia* 1985; 28 :711-717.
- (74) Kaul D.K., Shamoon H., Nagel R.L. : Increased adhesion of diabetic erythrocyte to the venular endothelium in shear flow condition - 4ème Congrès Mondial Microcirculation - Tokyo 1987 - *Excerpta Medica ICS 755* : 613-614.
- (75) Keen H., Jarrett R.J. : Hyperglycemia, microvascular disease and "true diabetes" - *Diabète et métabolisme* 1979; 5 : 89-91.
- (76) Knisely M.H. : The settling of sludge during life. First observations, evidences and significances. A contribution to the biophysics of disease - *Bibl.Anat.* 1961; 1, (suppl.):7-64.
- (77) Kohner E.M. : The problems of retinal blood flow in diabetes - *Diabetes* 1976; 25, (suppl.2): 839-44.
- (78) Kohner E.M., Sleightholm M., The Kroc collaborative study group : Does microaneurysm count reflect severity of early diabetic retinopathy ? - *Ophthalmology* 1986; 93, (5):586-9.
- (79) Kovalcheck S.W., Chen P., Zweifach B.W. : Microvasculature changes with age in bulbar conjunctiva - *Int.J.Microcirc.* 1984; 3, (3-4):530.

- (80) Labram C. : Intérêt de l'examen au biomicroscope des vaisseaux conjonctivaux au cours du diabète sucré - *Diabète* 1960;8 :247-53.
- (81) Labram C.,Lestradet H. : Rapports entre la vitesse de sédimentation globulaire et l'agrégation "in vivo" des hématies observée au niveau des vaisseaux de la conjonctive bulbaire - *Rev.Fr.Etud.Clin.Biol.*1961;6 :937-9.
- (82) Labram C.,Lestradet H. : Renseignements fournis par l'étude des vaisseaux de la conjonctive bulbaire au cours du diabète sucré infantile - *Arch.F.Pediatr.*1963; 20 : 567-81.
- (83) Labram C.,Lestradet H. : Le rôle du mauvais contrôle de la maladie et de la cétose dans l'importance et l'évolution des modifications des vaisseaux de la conjonctive bulbaire au cours du diabète sucré infantile - *Bibl.Anat.*1964;4 :571-80.
- (84) Lagrue G.,Kamalodine T.,Berge G.,Amadeo Cattaneo A.,Grouberman D. : La biomicroscopie conjonctivale:son intérêt pour l'étude de la microangiopathie diabétique - *Rev.F.Endoc.Clin.*1979;20,(1):29-33.
- (85) Lagrue G.,Robert L.,Pinaudeau Y.,Robert A.M.,Hirbec G. : Confrontation des résultats de la biomicroscopie conjonctivale,des biopsies cutanées et des études isotopiques sur biopsie dans la microangiopathie diabétique - *Rev.F.Endoc.Clin.*1979;20,(1):39-47.
- (86) Lagrue G.,Balanger S.,Cassou-Mounat E.,Maurel A. : La capillaroscopie conjonctivale: intérêt diagnostique et pronostique dans le diabète - *Entretiens de Bichat, Méd.*, 1983, 149-51.
- (87) Lagrue G.,Maurel A. : La microcirculation : nouvelles méthodes d'exploration fonctionnelle - *Presse Méd.* 1986 ; 15 : 1993-1994.
- (88) Larcen A.,Stoltz J.F. : Classification et physiopathologie du syndrome d'hyperviscosité. In: *Journées de diabétologie de l'Hôtel-Dieu*,Ed.Flammarion Médecine Sciences,Paris 1983 : 179-197.
- (89) Larroque P.,Clément R.,Bauduceau B.,Chanudet X.,Celton H.,Garcin J.M.,Gautier D. : Mesure transcutanée de la pression partielle d'oxygène chez le diabétique : un indice précoce de microangiopathie - *J.Mal.Vasc.* 1987 ;12,(suppl.A) :18-19 (abstract).
- (90) Le Devehat C.,Vimeux M.,Bertrand A.,Lemoine A.,Cirette B.,Roux E. : Etude corrélative TcPO2 et paramètres microrhéologiques - Communication au Congrès National Français de Microcirculation, Tours,7 novembre 1986.
- (91) Lestradet H.,Labram C. : La biomicroscopie des vaisseaux de la conjonctive bulbaire chez 100 jeunes diabétiques - *Presse Méd.*1960 ; 68,(4) :107-108.
- (92) Letcher R.L.,Chien S.,Pickering T.G.,Sealey J.E.,Laragh J.H. : Direct relationship between blood pressure and blood viscosity in normal and hypertensive subjects.Role of fibrinogen and concentration - *Am.J.Med.* 1981 ; 70:1195-1202.
- (93) Lowe G.D.O.,Lowe J.M.,Drummond M.M.,Reith S.,Belch J.J.F.,Kesson C.M.,Wylie A.,Foulds W.S.,Forbes C.D.,MacCuish A.C.,Manderson W.G. : Blood viscosity in young male diabetics with and without retinopathy - *Diabetologia* 1980 ; 18 :359-363.
- (94) Lundbaeck K. : Growth hormone's role in diabetic microangiopathy - *Diabetes* 1976 ; 25,(suppl.2) : 845-849.

(95) MacMillan D.E. : Deterioration of the microcirculation in diabetes - *Diabetes* 1975 ; 24,(10) : 944-957.

(96) MacMillan D.E. : Plasma protein changes,blood viscosity,and diabetic microangiopathy - *Diabetes* 1976;25,(suppl.2) :858-864.

(97) MacMillan D.E. : The effect of diabetes on blood flow properties - *Diabetes* 1983 ; 32,(suppl.2):56-63.

(98) MacMillan D.E. : Hemorheologic changes in diabetes and their role in increased atherogenesis.In : Macrovascular disease in diabetes mellitus.Pathogenesis and prevention. International workshop,Garmish,oct.1984.

(99) Maeda T.,Kuchiba K.,Akiyama M.,Ikemoto S.,Yokose T.,Isogai Y. : Transcutaneous oxygen tension and tissue oxygen tension in diabetic microangiopathy - 4ème Congrès Mondial de Microcirculation - Tokyo 1987 - *Excerpta Medica ICS 755* :607-608.

(99 bis) Malgrange D.,Ricard Y.,Brisset M.F.,Clément C. : Hyperirrigabilité globale des membres inférieurs chez les diabétiques insulino-dépendants non compliqués et réversibles sous strict contrôle glycémique - In : Actes de la 3ème réunion européenne de l'Union Internationale d'Angiologie,Tours,10 octobre 1984,133.

(99 ter) Marre M.,Leblanc H.,Bruel D.,Leroy M.,Passa P. : Relation entre excrétion urinaire d'albumine et rétinopathie chez les diabétiques insulino-dépendants - *Presse Méd.* 1986; 15 : 1621-1624.

(100) Martins-Silva J.,Nunes J.,Freitas J.P.,Martins-Silva J. : Relations entre le taux de fibrinogène plasmatique et la sévérité de la rétinopathie diabétique - *Presse Méd.*1984 ;13 : 1517.

(101) Mauer S.M.,Steffes M.W.,Michael A.F.,Brown D.M. : Studies of diabetic nephropathy in animals and man - *Diabetes* 1976 ; 25,(suppl.2) : 850-857.

(102) Mauer S.M.,Steffes M.W.,Goetz C.,Sutherland D.E.R.,Brown D.M. : Diabetic nephropathy. A perspective - *Diabetes* 1983 ;32,(suppl.2):52-55.

(103) Maurel A.,Balanger S.,Geslin P.,Lagrué G. : Les aspects normaux de l'angioscopie conjonctivale.Variations en fonction de l'âge et des facteurs de risque vasculaire - *Artères et Veines* 1986;5,(2) :131-141.

(104) Mayrovitz H.N.,Larnard D.,Duda G. : A video system to measure blood velocity in human conjunctival vessels - *Microvasc.Res.* 1980;20:119.

(105) Merimee T.J.,Zapf J.,Froesch E.R. : Insulin-like growth factors.Studies in diabetics with and without retinopathy -*N.Engl.J.Med.* 1983;309:527-530.

(106) Miller L.L. : Direct effects of glucagon on protein and amino acid metabolism in the isolated perfused rat liver.Interactions with insulin and dexamethasone in net synthesis of albumin and acute-phase proteins - *Diabetes* 1976;25,(suppl.2):865-871.

(107) Mogensen C.E. : Renal function changes in diabetes - *Diabetes* 1976;25,(suppl.2): 872-9.

(108) Mogensen C.E.,Christensen N.J.,Gundersen H.J.G. : The acute effect of insulin on renal haemodynamics and protein excretion in diabetics - *Diabetologia* 1978;15:153-157.

(109) Mogensen C.E.,Christiansen C.K.,Vittinghus E. : The stages in diabetic renal diseases - *Diabetes* 1983;32,(suppl.2):64-78.

(110) Mogensen C.E. : Microalbuminuria predicts clinical proteinuria and early mortality in maturity onset diabetes - *N.Engl.J.Med.* 1984;310:356-360.

(111) Mogensen C.E.,Christiansen C.K. : Predicting diabetic nephropathy in insulin-dependent patients - *N.Engl.J.Med.*1984;311:89-93.

(112) Mogensen C.E. : Microalbuminuria as a predictor of clinical diabetic nephropathy - *Kidney Int.*1987;31 : 673-689.

(113) Molenaar D.M.,Palumbo P.J.,Wilson W.R.,Ritts R.E. : Leukocyte chemotaxis in diabetic patients and their nondiabetic first degree relatives - *Diabetes* 1976;25,(suppl.2) : 880-883.

(114) Murray D.B.,Ditzel J. : The effects of CO<sub>2</sub> inhalation on the conjunctival blood vessels, blood pH,and blood pCO<sub>2</sub> in young diabetic subjects - *J.Lab.Clin.Med.* 1958; 51, (3): 370-380.

(115) Mustard J.F.,Packham M.A. : Platelets and diabetes mellitus - *N.Engl.J.Med.*1984; 311,(10):665-666.

(116) Neetens A.,Janssens M. : Critical evaluation of ocular angiofluorography - *Bibl.Anat.* 1977; 16:242-246.

(117) Orskov H.,Hansen A.A.P.,Christensen S.E.,Christiansen J.S.,Schmitz O.,Lundbaeck K.,Flyvbjerg A. : Hormone de croissance, facteurs de croissance et diabète sucré. In: *Journées de diabétologie de l'Hôtel-Dieu*, Ed. Flammarion Médecine Sciences, Paris 1987,79-90.

(118) Osterby R.,Gundersen H.J.G.,Horlyck A.,Kroustrup J.P.,Nyberg G.,Westberg G. : Diabetic glomerulopathy. Structural characteristics of the early and advanced stages - *Diabetes* 1983;32,(suppl.2):79-82.

(119) Oughton J.,Barnes A.J. : Red cell filterability in diabetes mellitus:its relation to other methods of measuring deformability and to blood viscosity - *Scand.J.Clin.Lab.Invest.* 1981 ; 41,(suppl.156): 151-154.

(120) Paisey R.B.,Harkness J.,Hartog M.,Chadwick T. : The effect of improvement in diabetic control on plasma and whole blood viscosity - *Diabetologia* 1980;19:345-349.

(121) Parving H.H. : Increased microvascular permeability to plasma proteins in short and long term juvenile diabetics - *Diabetes* 1976;25,(suppl.2):884-889.

(122) Parving H.H.,Christiansen J.S.,Noer I.,Tronier B.,Mogensen C.E. : The effect of glucagon infusion on kidney function in short term insulin-dependent juvenile diabetics - *Diabetologia* 1980;19:350-354.

(123) Parving H.H.,Andersen A.R.,Smidt U.M.,Christiansen J.S.,Oxenboll B.,Svendsen P.A. : Diabetic nephropathy and arterial hypertension. The effect of antihypertensive treatment - *Diabetes* 1983;32, (suppl.2):83-87.

- (123 bis) Peterson C.M., Jones R.L., Koenig R.J., Melvin E.T., Lehrman M.L. : Reversible hematologic sequelae of diabetes mellitus - *Ann.Intern.Med.* 1977 ; 86 :425-429.
- (124) Pirart J. : Diabète et complications dégénératives. Présentation d'une étude prospective portant sur 4400 cas observés entre 1947 et 1973 - *Diabète et Métabolisme* 1977; 3 :97-107, 177-182, 245-256.
- (125) Quencez E., Zultak M., Blanc D., Laurent R. : Syndrome du glucagonome - *Méd. et Hyg.* 1987; 45 : 882-890.
- (126) Rand L.I. : Recent advances in diabetic retinopathy - *Am.J.Med.*1981;70:595-602.
- (127) Regnault F., Bregat P., Canivet J., Passa Ph. : Ultrastructure des vaisseaux de la conjonctive au cours du diabète. In: *Journées de diabétologie de l'Hôtel-Dieu*, Ed. Flammarion Médecine Sciences, Paris 1971, 177-183.
- (128) Reid H.L., Barnes A.J., Lock P.J., Dormandy J.A., Dormandy T.L. : A simple method for measuring erythrocyte deformability - *J.Clin.Pathol.*1976;29:855-858.
- (129) Ryder R.E.J., Vora J.P., Atiea J.A., Owens D.R., Hayes T.M., Young S. : Possible new method to improve detection of diabetic retinopathy : Polaroid non mydriatic retinal photography - *Br.Med.J.* 1985;291:1256-1257.
- (130) Satoh M., Imaizumi K., Bessho T., Sluga T. : Increased erythrocyte aggregation in diabetes mellitus and its relationship to glycosylated haemoglobin and retinopathy - *Diabetologia* 1984;27:517-521.
- (131) Schmid-Schonbein G., Zweifach B.W., Kovalcheck S. : The application of stereological principles to morphometry of the microcirculation in different tissues - *Microvasc.Res.* 1977 ;14 : 303-317.
- (132) Schmid-Schonbein H., Volger E. : Red cell aggregation and red cell deformability in diabetes - *Diabetes* 1976;25,(suppl.2):897-902.
- (133) Schmid-Schonbein H. : Microrheology of erythrocytes, blood viscosity and the distribution of blood flow in the microcirculation - *Intern.Rev.Physiol.Cardiovasc.* 1976; 2 , (9):1-62.
- (134) Simonovski A., Coget J.M. : Anatomie de la conjonctive oculaire - *Actual.Angéiol.* 1984 ; 9:7-9.
- (135) Simpson L.O. : Intrinsic stiffening of red blood cells as the fundamental cause of diabetic nephropathy and microangiopathy : a new hypothesis - *Nephron* 1985;39:344-351.
- (136) Spiro R.G. : Investigations into the biochemical basis of diabetic basement membrane alterations - *Diabetes* 1976;25,(suppl.2):909-913.
- (137) Stoltz J.F., Drouin P., Gaillard S., Pointel J.P., Voisin P. : Arteriolar blood flow modifications in diabetics during improved blood glucose control via artificial pancreas. A microcirculatory hypothesis - *Bibl.Anat.*1981;20:725-729.
- (138) Stoltz J.F., Lucius M.: Viscosité sanguine: applications cliniques et pharmacologiques. In: 4ème congrès international de phlébologie, Cannes, mars 1984- *Artères et Veines* 1984; 3,(2):136-148.

- (139) Stoltz J.F. : Déformabilité et agrégabilité des hématies : intérêt en biologie clinique - *Ann.Biol.Clin.*1985;43:485-491.
- (140) Stoltz J.F.,Donner M. : Introduction à l'étude de l'agrégation érythrocytaire.In:6ème congrès international de phlébologie,Deauville,avril 1986- *Artères et Veines* 1986; 5 , (3) : 213-223.
- (141) Stoltz J.F. : Rôle de l'agrégation érythrocytaire en hémorhéologie clinique.In:7ème congrès international de phlébologie,Amsterdam,avril 1987-*Artères et Veines* 1987; 6, (4):311-314.
- (142) Sullivan J.M.,Prewitt R.L.,Josephs J.A. : Attenuation of the microcirculation in young patients with high-output borderline hypertension - *Hypertension* 1983;5,(6):844-851.
- (143) Tchobroutsky G. : Contrôle de la glycémie et complications microvasculaires - Symposium international sur la rétinopathie diabétique,octobre 1984,in: *Revue Chibret d'Ophthalmologie* 1985; n°105 :167-173.
- (144) Tooke J.E. : A capillary pressure disturbance in young diabetics - *Diabetes* 1980; 29 : 815-819.
- (145) Tooke J.E. : Microvascular haemodynamics in diabetes mellitus - *Clin.Science* 1986; 70:119-125.
- (146) Uchimura I.,Watanabe T.,Takagi Y.,Tanaka A.,Maezawa H. : Post-occlusion reactive hyperemia test in diabetics-4ème Congrès Mondial de Microcirculation-Tokyo 1987- *Excerpta Medica ICS 755*:617-618.
- (147) Vague P.,Juhan I. : Red cell deformability,platelet aggregation,and insulin action - *Diabetes* 1983;32,(suppl.2):88-91.
- (148) Valensi P.,Attali J.R.,Behar A.,Sebaoun J. : Isotopic test of capillary permeability to albumin in diabetic patients:Effects of hypertension,microangiopathy,and duration of diabetes - *Metabolism* 1987;36:834-839.
- (149) Viberti G.C.,Pickup J.C.,Phil D.,Jarrett R.J.,Keen H. : Effect of control of blood glucose on urinary excretion of albumin and  $\beta_2$  microglobulin in insulin-dependent diabetes - *N.Engl.J.Med.*1979; 300:638-641.
- (150) Viberti G.C.,Mackintosh D.,Keen H. : Determinants of the penetration of proteins through the glomerular barrier in insulin dependent diabetes mellitus - *Diabetes* 1983; 32, (suppl.2):92-95.
- (151) Viberti G.C. : Increased capillary permeability in diabetes mellitus and its relationship to microvascular angiopathy -*Am.J.Med.*1983;75,(5B):81-84.
- (152) Viberti G.C.,Jarrett R.J.,Wiseman M.J. : Predicting diabetic nephropathy - *N.Engl.J.Med.* 1984 ;311,(19):1256-1257.
- (153) Viberti G.C. : Le point sur la néphropathie diabétique - In: *Diamet;Excerpta Med.* 1986; déc.:1-3.
- (154) Viberti G.C. : Metabolic control and progression of diabetic nephropathy - *Diabetologia* 1987; 30 :481-482.

(155) Wautier J.L., Colin Paton R., Wautier M.P., Pintigny D., Abadie E., Passa Ph., Caen J.P. : Increased adhesion of erythrocytes to endothelial cells in diabetes mellitus and its relation to vascular complications - *N.Engl.J.Med.* 1981;305:237-242.

(155 bis) West K.M., Erdreich L.J., Stober J.A. : A detailed study of risk factors for retinopathy and nephropathy in diabetes - *Diabetes* 1980 ;29 : 501-508.

(156) Westberg N.G. : Biochemical alterations of the human glomerular basement membrane in diabetes - *Diabetes* 1976;25,(suppl.2):920-924.

(157) Williamson J.R., Kilo C. : Basement membrane thickening and diabetic microangiopathy - *Diabetes* 1976;25,(suppl.2):925-927.

(158) Williamson J.R., Kilo C. : Capillary basement membrane in diabetes -*Diabetes* 1983 ; 32,(suppl.2): 96-100.

(159) Williamson J.R., Gardner R.A., Boylan C.W., Carrol G.L., Chang K., Marvel J.S., Gonen B., Kilo C., Tran Son Tay R., Sutera S.P. : Microrheologic investigation of erythrocyte deformability in diabetes mellitus - *Blood* 1985;65:283-288.

(160) Wolf S., Schulte K., Arend O., Reim M. : The effect of hemorheologic therapy on the red blood cell flow velocity in capillaries of bulbar conjunctiva - 4ème Congrès Mondial de Microcirculation - Tokyo 1987- *Excerpta Medica* ICS 755:489-490.

(161) Wu V.Y., Wilson B., Cohen M.P. : Disturbances in glomerular basement membrane glycosaminoglycans in experimental diabetes - *Diabetes* 1987;36 : 679-683.

(162) Yanko L., Davies E. : Conjunctival microangiopathy in diabetic retinopathy - *Microcirculation* 1981;1,(1):55-68.

(163) Yanko L., Davies E. : Conjunctival microangiopathy in diabetic retinopathy with hypertension - *Int.J.Microcirc.*1982;1,(3) :337.

(164) Zatz R., Brenner B.M. : Pathogenesis of diabetic microangiopathy. The hemodynamic view - *Am.J.Med.*1986;80:443-453.

(165) Zweifach B.W. : Microcirculation - *Ann.Rev.Physiol.*1973;35:117-150.

(166) Zweifach B.W., Chen P., Kovalcheck S. : Digital image processing of the microcirculation in diabetic patients - *Bibl.Anat.*1981;20:653-655.

(167) Zweifach B.W., Kovalcheck S., Chen P. : Microvascular changes in the conjunctiva of insulin-dependent diabetics - *Int.J.Microcirc.*1982;1,(3):339.

# ANNEXES

NOM :  
Prénom :  
Date de naissance :  
Adresse :

Date :  
Envoyé par :  
Motif de consultation :  
Diagnostic :

---

**ANGIOSCOPIE CONJONCTIVALE**
**CLINIQUE**

Appareil :  
Visibilité ciliaire :

Nombre de champs explorés :  
Difficulté de l'examen :

**1) VEINULES**

- Densité :
- Tortuosités :
- Sacculations :
- Couleur :
- Veines acqueuses :

**2) ARTERIOLES**

- Densité :
- Tortuosités :
- Calibre irrégulier :
- Couleur :
- Rigidité :

**3) RELATIONS VEINULES - ARTERIOLES**

- Rapport V/A moyen :                      Disparité :
- Organisation-Parallélisme :
- Communications A-V :                      Aspect :

**4) RESEAUX CAPILLAIRES**

- Hyperhémie homogène :                      -Hyperhémie ponctuée :
- Raréfaction homogène :                      -Zones de raréfaction :
- Aspect maillé polygonal :
- Réseau limbique :

**5) ANOMALIES MORPHOLOGIQUES**

- Microanévrismes : \_\_\_\_\_
- | Champ       | Nombre | Types |
|-------------|--------|-------|
| Nasal G.    |        |       |
| Temporal G. |        |       |
| Nasal D.    |        |       |
| Temporal D. |        |       |

-Autres : \_\_\_\_\_

**6) AGREGATION ERYTHROCYTAIRE**

- Grade :    -Retentissement :

**7) ANOMALIES TISSULAIRES**

- Hémorragies :                                      -Pinguécula :
- Dépôts pigmentaires :                      -Gérontoxon :
- Oedème :

**8) CONCLUSION**

**TABLEAU 2 : DONNEES RHEOLOGIQUES**

patient n°	V.S.	Hb	Ht	Fg	Alb	I.F.E.	RBCA	GB	Alpha2
1	3	143	0.412	2.9	43.6	—	1	11.4	4.9
2	7	138	0.423	2.7	37.4	—	0	8	6.4
3	15	140	0.402	3.2	37.5	—	0	5.7	6.9
4	16	139	0.434	3.7	38.5	—	1	9.6	5.4
5	—	121	0.354	3.7	29.7	5.1	2	6.2	5.9
6	10	160	0.472	3.1	41.9	3	0	6.9	6.8
7	7	150	0.445	2.9	39	2.9	0	5.6	5.2
8	—	134	0.391	3.7	33.2	—	0	9.2	7
9	15	139	0.397	2.3	37.7	—	1	4.6	4.8
10	5	151	0.421	2.1	38.6	—	0	5	5
-----									
11	1	161	0.484	2.5	46.9	3.1	0	5.4	5.8
12	2	154	0.450	2.5	38.6	2.6	0	5.5	4.2
13	3	160	0.478	3.3	31.8	—	1	4.6	7.3
14	—	130	0.385	2.7	39.2	—	2	5.1	5.2
15	—	138	0.405	2.7	39.2	—	1	6.9	4.7
16	21	130	0.381	2.5	35.1	—	2	5.1	6.4
17	13	145	—	2.7	37.8	9.7	0	8.2	4.9
18	33	144	0.430	4	34	10.4	0	8.2	5.9
19	—	154	0.442	3.2	36.9	2.5	1	6.6	4.5
20	3	148	0.430	3	31.9	—	0	6.2	5.9
-----									
21	—	157	0.424	2.6	29.3	7.2	0	8.3	7.1
22	13	151	0.419	3.1	27.1	—	2	7	7.7
23	1	156	0.458	2.1	30.2	—	0	6.2	5.1
24	20	—	—	—	—	—	2	3.4	—
25	9	—	—	4.3	36	—	1	4.2	7.5
26	—	—	—	—	—	—	0	—	—
27	4	135	0.393	3.6	31.1	2.9	0	6.2	7
28	11	153	0.451	3.2	27.8	—	1	6.9	9.4
29	30	149	0.433	3.4	33.7	—	0	5.8	7.8
30	5	137	0.400	4.3	35.7	—	2	6.1	7

Hb : hémoglobémie (g/l)

Ht : hématocrite (l/l)

Fg : fibrinogénémie (g/l)

Alb : albuminémie (g/l)

I.F.E. : index de filtration érythrocytaire ( )

RBCA : agrégation érythrocytaire in vivo

GB : globules blancs (G/l)

Alpha2 : alpha 2 globulines (g/l)

**TABLEAU 3 : DONNEES METABOLIQUES**

patient n°	HbA1c	chol.tot.	trigl.	chol.HDL	CT/HDL	apoB	apoA
1	8.3%	1.40	2.25	ND	ND	ND	ND
2	8.6%	1.60	0.40	ND	ND	ND	ND
3	10%	2.40	1.80	0.38	6.3	1.40	1.45
4	8.5%	1.85	1	0.46	4	1.20	1.45
5	10.3%	2.05	1.65	0.53	3.9	1.15	1.40
6	8.3%	2.40	0.7	0.56	4.3	1.15	1.75
7	8.2%	2.25	0.70	ND	ND	1.25	2
8	8.1%	1.65	1.60	0.45	3.7	1.05	1.45
9	7.8%	1.90	1	0.47	4	1.05	1.40
10	6.1%	1.80	0.75	0.44	4.1	1.05	1.30
11	8.7%	1.90	1	0.42	4.5	1.10	1.60
12	5.7%	1.65	0.5	0.53	3.1	1.05	1.55
13	11%	1.80	1.45	0.36	5	1.15	1.35
14	5.7%	2	0.70	0.71	2.8	1.10	1.85
15	5.9%	2	0.60	0.64	3.1	1.05	1.65
16	8%	2.60	2.15	0.61	4.3	1.15	1.90
17	8.7%	1.65	2.35	0.31	5.3	1.10	1.05
18	10.2%	1.50	0.65	0.47	3.2	0.85	1.30
19	10.2%	1.90	0.75	0.39	4.9	1.15	1.25
20	6.8%	1.55	0.55	0.49	3.2	0.90	1.30
21	5.7%	1.55	0.85	0.44	3.5	0.95	1.40
22	9.7%	2.10	1.55	0.41	5.1	1.20	1.25
23	7%	1.83	0.75	0.44	4.2	1	1.21
24	8.2%	1.59	1.40	0.55	2.9	0.87	1.35
25	8.1%	1.55	0.90	0.36	4.3	0.95	1.18
26	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
27	6.6%	1.98	0.86	0.62	3.2	1.01	1.35
28	10.5%	2.03	2.42	0.51	4	1.33	1.59
29	6.5%	1.87	1	0.43	4.3	1.07	1.18
30	6.6%	1.37	1.27	ND	ND	ND	ND

HbA1c : hémoglobine A1c

chol.tot. : cholestérolémie totale (g/l)

trigl. : triglycéridémie (g/l)

chol.HDL : cholestérol HDL (g/l)

CT/HDL : cholestérol total/cholestérol HDL

apo A : apoprotéine A (g/l)

apo B : apoprotéine B (g/l)

**TABLEAU 4 : MICROANGIOPATHIE RETINIENNE ET RENALE**

patient n°	ané.v.rét.	score fluo.	µalb.max.	µalb.moy.	clear.creat.	TADN
1	2	1a	ND	ND	ND	ND
2	60	1c	ND	ND	ND	ND
3	19	3a	34.44	30.36	2.35	87
4	22	1c	5.41	4.26	2.64	76
5	ND	4a	21.60	18.32	3.01	92
6	0	0	3.98	2.82	2.49	61
7	0	0	2.20	1.75	1.93	61
8	0	0	3.70	2.61	1.59	ND
9	20	4a	27.80	21.26	2.25	80
10	0	0	7.80	6.7	2.30	65
11	0	0	3.87	3.36	2.36	68
12	0	0	2.8	2.6	3.07	67
13	7	2a	185	129.83	2.55	71
14	3	4a	1.94	1.58	1.86	63
15	8	1c	6.39	3.99	1.82	72
16	2	4a	24.4	20.16	1.50	67
17	0	0	8.15	4.78	2.81	49
18	0	0	10.19	8.12	1.98	69
19	10	1b	5.9	5.03	4.27	ND
20	20	1a	2.59	2	1.87	58
21	30	1c	ND	6.43	1.88	ND
22	10	1b	ND	6.94	1.95	ND
23	25	1c	12.34	10.77	2.69	77
24	23	3a	25.46	19.79	1.70	82
25	39	3b	6.25	4.10	2.90	72
26	14	1a	ND	ND	ND	ND
27	0	1c	6.67	4.17	1.08	72
28	3	1a	3.01	2.60	1.68	78
29	6	1a	5.83	3.59	2.02	66
30	31	2a	ND	ND	créat 100	ND

ané.v.rét. : compte des microanévrismes rétiniens

score fluo. : score de l'angiographie rétinienne fluorescéinique

µalb.max. : microalbuminurie débit maximal µg/min

µalb.moy. : microalbuminurie moyenne des 3 débits nocturnes µg/min

clear.creat. : clearance créatinine ml/sec.

créat. : créatininémie µmol/l (clearance non déterminée)

TADN : tension artérielle diastolique nocturne mmHg

ND : non déterminé

**TABLEAU 5 : MORPHOMETRIE CONJONCTIVALE**

patient n°	La	Lv	Lc	Lt	S
1	2.030	3.042	2.686	7.759	7.042
2	2.052	2.128	3.947	8.128	5.723
3	1.496	3.030	3.244	7.771	7.042
4	1.534	1.894	2.035	5.464	5.517
5	0.858	1.676	3.069	5.605	6.388
6	1.778	2.355	3.631	7.765	7.042
7	2.021	2.993	3.127	8.143	5.469
8	1.490	2.153	4.281	7.925	7.042
9	1.372	2.492	4.731	8.597	11.265
10	1.746	2.564	4.670	8.980	10.563
-----					
11	2.161	3.408	3.295	8.865	7.235
12	2.103	3.030	2.557	7.692	7.042
13	1.760	2.858	1.742	6.360	7.042
14	1.594	2.944	2.024	6.563	7.042
15	1.508	2.662	1.643	5.815	7.042
16	1.410	2.514	2.705	6.630	7.042
17	1.852	2.790	2.698	7.342	7.042
18	2.195	2.680	2.379	7.207	7.042
19	1.999	2.932	3.888	8.820	7.042
20	1.692	2.919	3.152	7.765	7.042
-----					
21	0.920	2.011	3.876	6.808	7.042
22	1.643	2.195	2.465	6.305	7.042
23	1.686	2.465	3.300	7.452	7.042
24	1.570	2.527	2.944	7.041	7.042
25	1.711	2.600	2.637	6.949	7.042
26	1.919	2.606	3.054	7.581	7.042
27	1.570	2.711	3.594	7.876	7.042
28	1.472	2.582	1.919	5.974	7.042
29	1.214	1.987	3.208	6.410	7.042
30	1.189	1.754	2.330	5.275	7.042

La : densité artériolaire mm/mm<sup>2</sup>

Lv : densité veinulaire mm/mm<sup>2</sup>

Lc : densité capillaire mm/mm<sup>2</sup>

Lt : densité vasculaire totale mm/mm<sup>2</sup>

S : surface de la zone de mesure mm<sup>2</sup>

**TABLEAU 6 : MICROANGIOPATHIE CONJONCTIVALE (1)**

patient n°	sclér.art.	désorg.	ischémie	µanévr.	tr.tissul.
1	+	0	0	10	0/+/0
2	0	0	0	3	0/0/0
3	+	0	0	4	0/0/0
4	+	+	+	2	0/0/0
5	+	+	0	2	0/0/0
6	0	0	0	9	0/0/0
7	0	0	0	5	0/0/0
8	+	0	0	0	0/0/0
9	0	+	0	10	0/0/0
10	0	0	0	5	0/0/0
-----					
11	0	0	0	2	0/+/0
12	0	0	0	6	0/0/0
13	0	0	0	5	0/0/0
14	+	+	0	4	0/0/+
15	+	0	0	7	0/0/0
16	+	+	+	6	+/0/0
17	+	0	0	0	0/0/0
18	0	0	0	0	0/+/0
19	0	0	0	7	0/0/0
20	0	0	0	12	0/0/0
-----					
21	0	0	0	3	0/0/0
22	+	0	0	5	0/0/0
23	+	0	0	3	0/0/0
24	+	0	+	10	0/0/0
25	+	0	0	2	0/0/0
26	0	0	0	5	0/0/0
27	+	0	0	3	0/0/0
28	+	0	0	4	0/0/0
29	+	0	0	2	0/0/0
30	+	0	+	12	0/0/0

sclér.art. : baisse du calibre artériolaire (0,+)

désorg. : désorganisation du réseau vasculaire (0,+)

ischémie : raréfaction du réseau capillaire visible (0,+)

µanévr. : nombre de microanévrismes

tr.tissul. : troubles tissulaires (hémorragie/dépôt pigmentaire/oedème)(0,+)

**TABLEAU 7 : MICROANGIOPATHIE CONJONCTIVALE (2)**

patient n°	V/A	tortuos.	saccul.	RBCA	score
1	3.5	+	++	1	7
2	2.5	O	+	0	2
3	4	+	O	0	3.5
4	2	+	0	1	5
5	4	++	0	2	5.5
6	3	+	++	0	3.5
7	4	+	+	0	4
8	3	0	0	0	1
9	4.5	+	O	1	5
10	3	O	+	0	3
-----					
11	3	+	+	0	3
12	3.5	+	O	0	3.5
13	3.5	++	+	1	5
14	5	+	O	2	6.5
15	3	+	O	1	5
16	4	++	+	2	8
17	5	+	0	0	2.5
18	3.5	+	+	O	2.5
19	3	+	+	1	3.5
20	3.5	++	O	0	3.5
-----					
21	4	+	+	0	2.5
22	5	+	+	2	6.5
23	5	+	O	0	3
24	5	++	O	2	6.5
25	2.5	+	+	1	4.5
26	5	+	+	0	4
27	2.5	O	+	O	2
28	3.5	+	0	1	4.5
29	3	+	O	O	3
30	5	+	O	2	6.5

V/A : rapport veinulo -artériolaire

tortuos. : tortuosités veinulaires (0,+,,)

saccul. : sacculations veinulaires (O,+,,)

RBCA : agrégation érythrocytaire intravasculaire (O,1,2,3)

score : score semiquantitatif de 0 à 10



## SERMENT D'HIPPOCRATE

En présence des Maîtres de cette Faculté, de mes chers condisciples, devant l'effigie d'HIPPOCRATE.

Je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la médecine.

Je donnerai mes soins à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail, je ne participerai à aucun partage clandestin d'honoraires.

Admis dans l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe, ma langue taira les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs, ni à favoriser le crime.

Je ne permettrai pas que des considérations de religion, de nation, de race, de parti ou de classe sociale viennent s'interposer entre mon devoir et mon patient.

Je garderai le respect absolu de la vie humaine.

Même sous la menace, je n'admettrai pas de faire usage de mes connaissances médicales contre les lois de l'humanité.

Respectueux et reconnaissant envers mes Maîtres, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leur père.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.



## RESUME

La recherche d'outils utiles à la compréhension et à la détection précoce de la microangiopathie diabétique nous a conduit à évaluer la place de l'angioscopie conjonctivale, technique simple et non invasive, dans cette pathologie chez 30 patients diabétiques de type 1.

Cette étude réalisée à l'aide de méthodes statistiques multifactorielles permet de dégager la place importante de l'agrégation érythrocytaire in vivo comme facteur discriminant de la rétinopathie et de la néphropathie. Ce phénomène rhéologique présente ici la particularité par rapport aux non-diabétiques d'être sous la dépendance essentielle de l'ancienneté du diabète et de l'équilibre glycémique, plutôt que des facteurs plasmatiques habituels que sont le fibrinogène et l'albumine. Il nous paraît important de mieux évaluer l'intérêt clinique de ce marqueur à partir de protocoles prospectifs, et de préciser ses relations avec l'état métabolique. La quantification de l'agrégation érythrocytaire in vivo doit pouvoir enfin être affinée par des techniques d'analyse d'images, et bénéficier d'études comparatives utilisant les nouvelles méthodes de mesure in vitro de l'agrégation érythrocytaire.

La quantification des anomalies morphologiques de la microcirculation conjonctivale sous forme d'un score permet d'obtenir une bonne sensibilité diagnostique dans la microangiopathie diabétique. L'analyse nous fait proposer un score simplifié d'intérêt clinique similaire prenant en compte les quatre critères suivants : désorganisation du réseau vasculaire, hétérogénéité du lit capillaire, tortuosités veinulaires et microanévrismes. Ce score morphologique, qui complète les informations rhéologiques fonctionnelles fournies par l'angioscopie conjonctivale, reste à évaluer à plus large échelle.

Les applications cliniques de la mesure morphométrique manuelle des densités vasculaires sont plus décevantes. Cette approche permet certes de confirmer la raréfaction vasculaire fonctionnelle liée à l'hyperagrégation érythrocytaire, et la raréfaction artériolaire au cours de l'HTA infra-clinique. Il est probable cependant que les mesures morphométriques devront à l'avenir prendre en compte d'autres paramètres géométriques microcirculatoires, notamment ceux du score morphologique, en passant par une informatisation.

**Mots-clés** : microcirculation - microangiopathie diabétique - angioscopie conjonctivale - hémorhéologie - agrégation érythrocytaire - morphométrie .