Corrélation physiologique entre les globules blancs et rouges du sang

Autor(en): **Seabra, Paulo**

Objekttyp: **Article**

Zeitschrift: **Bulletin der Schweizerischen Akademie der Medizinischen Wissenschaften = Bulletin de l'Académie Suisse des Sciences Medicales = Bollettino dell' Accademia Svizzera delle Scienze Mediche**

Band (Jahr): **4 (1948)**

Heft 5-6

PDF erstellt am: **30.05.2024**

Persistenter Link: https://doi.org/10.5169/seals-306947

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.
Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.
Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Ein Dienst der *ETH-Bibliothek*
ETH Zürich, Rämistrasse 101, 8092 Zürich, Schweiz, www.library.ethz.ch

http://www.e-periodica.ch

C. D. 612.111:612.112

Corrélation physiologique entre les globules blancs et rouges du sang

Par **Paulo Seabra,** Rio de Janeiro

C'est avec la plus grande satisfaction que j'accepte l'invitation que l'Académie Suisse des Sciences Médicales m'a adressée, car depuis longtemps j'admire votre pays non seulement pour sa beauté mais aussi pour sa sagesse: entourée de nations belligérantes durant de longues années, la Suisse, par son attitude ferme et décidée, a donné un bel exemple au monde entier. La science suisse est célèbre par son exactitude et son désintéressement, et je me sens heureux de me trouver ici, parmi vous.

Pour remplir les précieuses minutes que vous m'avez accordées, j'ai choisi le sujet des corrélations physiologiques, créé par *Claude Bernard* (1), et j'ai essayé de l'appliquer expérimentalement aux cellules du sang.

Les principes, pour quiconque désire entreprendere cette étude, se trouvent dans l'ouvrage de *Noël Fiessinger: «Les ferments des leucocytes»*, paru déjà en 1923 (2). Malgré ses belles recherches, il y dit: «Dans l'état actuel de nos connaissances, on ne peut être fixé d'une façon objective sur la puissance globale de l'oxydation leucocytaire ... Il reste encore à découvrir la méthode qui permettra de juger l'état fonctionnel du leucocyte.»

Me rendant entièrement compte de l'étendue du sujet, je m'en suis occupé d'une façon intensive.

L'une des difficultés était l'instabilité des colorations oxydasiques, étant donné que leur aspect se modifiait du jour au lendemain. Ce problème fut résolu d'une manière magistrale par *Loele* (3), qui observa que les unités histologiques contenant de l'oxydase et, par conséquent, oxydant l'alpha-naphtol, le transforment en mordant capable de fixer le violet de gentiane.

En supprimant l'alcool dans les liquides employés par *Loele*, j'ai réussi à obtenir une coloration constante dont l'intensité est proportionnelle à la quantité d'oxydase. Les couleurs ainsi obtenues sont inaltérables, comme j'ai pu l'observer dans mon archive de lames consistant

en plus de 60000 champs marqués, où les leucocytes colorés il y a dix ans conservent toujours la même intensité[1]).

Quand on compare les différents degrés d'intensité suivant une échelle colorimétrique allant de 0 à 6 (pour 100 neutrophiles et éosinophiles), la somme des valeurs notées fournira «l'oxydase leucocytaire». En multipliant celle-ci par le coefficient de 100 leucocytes par millimètre cube (mm^3) de sang, on trouvera l'index d'oxydase. Des recherches, basées sur cet index, que j'ai présenté en 1939 (4), ont été publiées par de nombreux auteurs en divers pays (5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13).

L'examen des lames de sang m'a souvent révélé des images démonstratives d'une effusion du liquide oxydasique provenant des neutrophiles et baignant les hématies les plus proches (fig. 1).

L'interprétation que je donne de ces phénomènes est que les vapeurs de formol servant de fixateur ont un effet constrictif et brisent la membrane enveloppante de quelques-unes des granulations oxydasiques. Ensuite, au moment d'ajouter le mordant, le liquide sort des granulations detruites par le formol. Ce liquide se colle aux hématies les plus proches par suite de sa consistance épaisse et visqueuse, comme on peut le voir par le ménisque qu'il présente (fig. 1). La déduction que ce liquide provient des granulations se justifie par le fait qu'il possède les mêmes propriétés de coloration que celles-ci; il arrive même parfois qu'on puisse découvrir, sous le microscope, l'espace vide laissé par les granulations brisées (fig. 2).

Le neutrophile se présente comme une glande pressée ce qui nous rappelle que *Chauffard* l'avait appelé une «glande monocellulaire» ou encore des «laboratoires ambulants dont chacun sécrétera, au moment et au lieu voulus, des ferments nécessaires» (14).

---

[1]) Le procédé de coloration (appelé «Loele-Seabra» par l'Académie Nationale de Médecine de Rio de Janeiro) est le suivant:

a) exposer à l'air le frottis qui doit être très mince, pendant environ 2 heures, pour le sécher; b) fixer dans une atmosphère de formol pendant 10 minutes en plaçant les lames verticalement dans un verre contenant un petit cristallisoir avec 20 cm^3 de formaline, dissoute dans 40 cm^3 d'eau; c) couvrir de mordant pendant 15 minutes; d) laver le frottis sous un filet d'eau très fin pendant 1 minute; e) le couvrir de gentiane pour 10 minutes; f) laver à nouveau, de la même façon, pendant 5 minutes; g) couvrir de fuchsine basique pour 10 secondes; h) laver, avec le même soin, pendant 5 minutes. – Après chacun de ces lavages, la lame doit être placée verticalement sur du papier filtre pour sécher plus vite.

Solutions: *Violet de gentiane:* dissoudre 0,1 g dans 250 cm^3 d'eau distillée; décanter le lendemain. *Mordant:* carbonate d'ammonium 0,8 g, alpha-naphtol 0,2 g, eau distillée 400 cm^3. Agiter de temps en temps, filtrer le lendemain sur laine de verre. Employer du verre foncé. Ce mordant peut être utilisé du troisième au vingtième ou trentième jour, selon la température, jusqu'à ce qu'il devienne trouble et marron. Il se conserve très longtemps dans la glacière. – *Fuchsine basique:* 0,1 g dans 150 cm^3 d'eau distillée; décanter le lendemain.

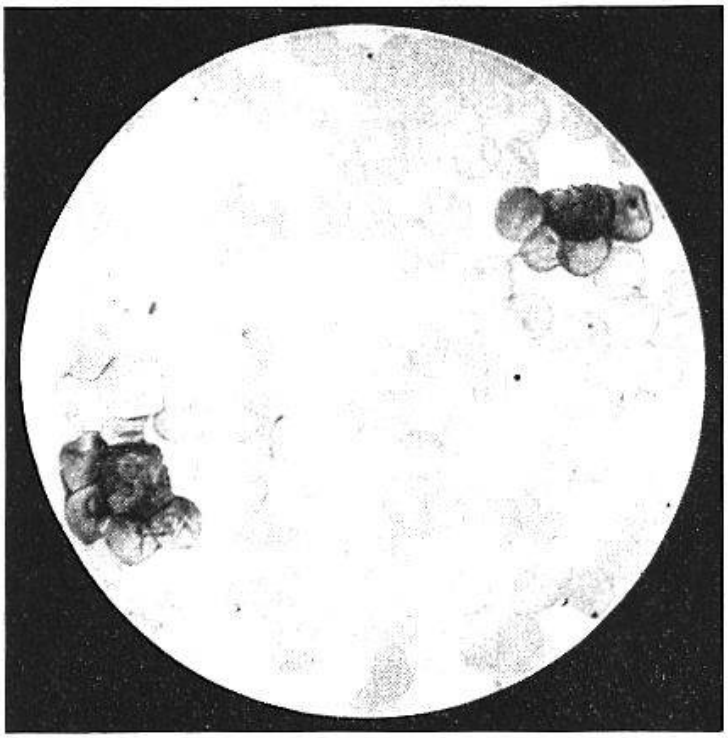

Fig. 1.

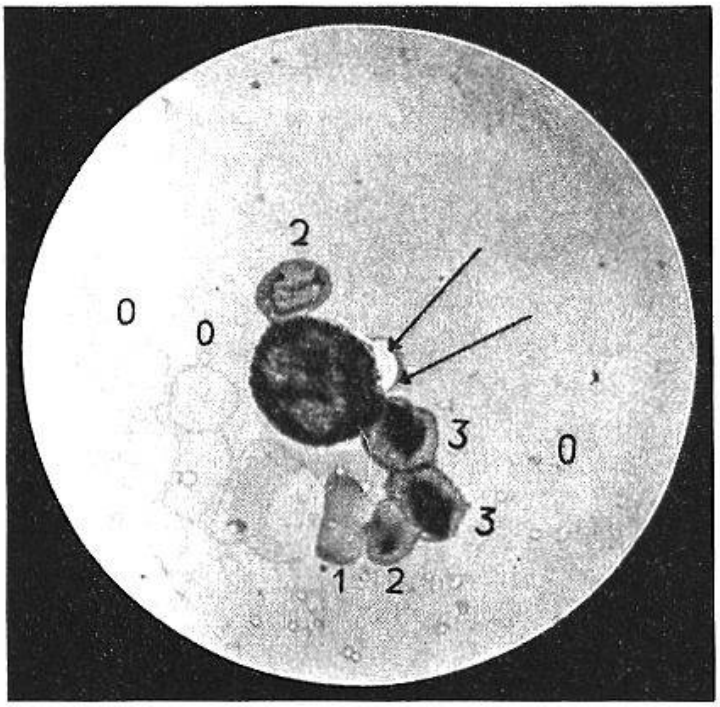

Fig. 2.

Ceci me fait penser que l'effusion d'oxydase observée sur mes lames démontre un phénomène physiologique: l'effusion oxydasique. Cependant, *Fiessinger* dit que «les oxydases leucocytaires ne semblent passer dans les liquides ambiants qu'à l'occasion de la lyse cellulaire. Il ne s'agit pas de sécrétion mais d'une extériorisation autolytique».

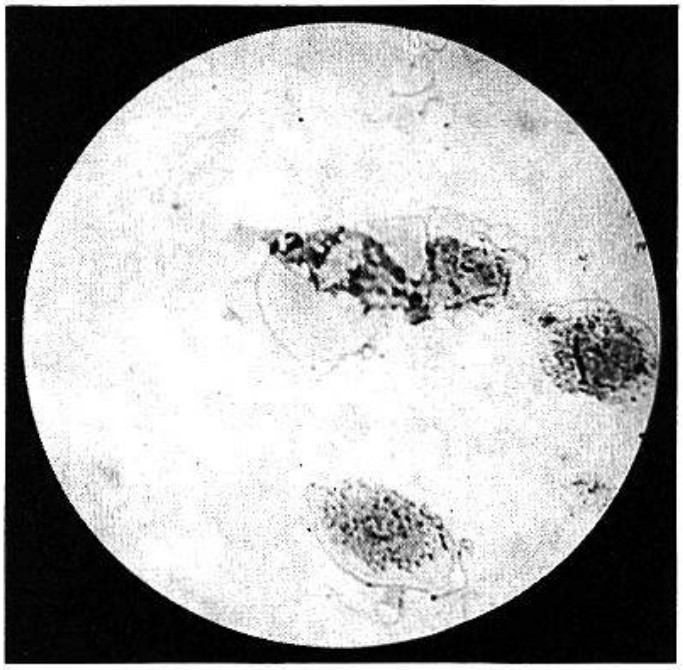

Fig. 3.

L'opinion d'un si grand maître m'a fait étudier à fond ses raisons, et j'étais hanté par la pensée suivante: s'il ne s'agit pas de sécrétion mais seulement d'une extériorisation artificielle, pourquoi n'arrive-t-il pas que toutes les granulations se brisent au lieu de l'une ou l'autre, seulement ?

De la même façon, lorsque nous écrasons intentionnellement le neutrophile en pressant une lame contre une autre, les granulations se dispersent mais quelques-unes seulement se brisent et nous nous trouvons souvent en face d'une granulation tout à fait vide (fig. 3).

Un autre point à considérer est que la rupture de la granulation du neutrophile, à la fixation du frottis, est produite par le formol et ce phénomène est d'autant plus intense que les vapeurs sont plus concentrées ou l'exposition de plus longue durée. D'autre part, si nous soumettons en même temps diverses lames à la fixation, le sang de toutes ces lames ayant été pris en même temps mais à des personnes différentes, le phénomène dont nous parlons est absent des lames de certaines personnes pour se trouver, au contraire, sur toutes les lames de sang provenant d'une autre.

J'ai également constaté que les hématies sont légèrement teintées de bleu dont le degré d'intensité varie selon les individus.

C'est ce qui m'a conduit à l'hypothèse – en ce qui concerne la recherche expérimentale – qu'il existe une effusion physiologique de l'oxydase du neutrophile qui est adsorbée par l'hématie, puisque le ton bleuté que celle-ci a acquis a les mêmes caractéristiques d'intensification par la

chaleur, c'est-à-dire arrivant au maximum à 75° et disparaissant à 100°[2]).

Par conséquent, ce tableau d'effusion d'oxydase signifierait que les membranes des granulations oxydasiques de ces neutrophiles sont plus fragiles que les autres, ce qui causerait une effusion intensifiée d'oxydase; en tous les cas, les échantillons de sang en question présentaient une hypereffusion.

Afin de pouvoir comparer entre eux les différents états d'hypereffusion, il a fallu classifier les résultats de cette expérience de la façon suivante: négatif (—), douteux (±), faible (+), moyen (++), fort (+++) et très fort (++++)[3]).

---

[2]) Permettez-moi de citer quelques passages d'auteurs sur les caractéristiques thermiques des enzymes:

Fiessinger (12): Le chauffage pendant quelques secondes à 100° détruit ces réactions; (0°: il les supprime en quelques minutes). La résistance à l'action de la chaleur se montre enfin plus grande sur lame sèche qu'en milieu humide.

Thomas (15): On admet habituellement que les enzymes en solution aqueuse sont inactivés par chauffage à 100°, et que cette destruction peut être considérée comme un critérium de l'action enzymatique.

Oppenheimer (16): Ein eigentümlicher Fall ist der des Papains, das bei 85° eine äußerst wirksame Aufspaltung von Eiweiß bewirkt, aber dann sehr schnell zugrunde geht. Hier ist wahrscheinlich der momentane Zustand des Substrates (Aufhebung der natürlichen Resistenz durch beginnende Koagulation) das Entscheidende für die rapide Wirkung. – Die «Tötungstemperatur» wird nach *Euler* definiert als diejenige, bei der eine Abnahme um 50% während einer Stunde erfolgt. Sie ist ebenso verschieden wie die «Optimaltemperatur»; während für Trypsin schon bei 30° starke Schädigung angegeben wird, vertragen einige Oxydasen kurze Zeit die Siedetemperatur, ebenso einige Bakterienproteasen.

[3]) Voici la description de l'épreuve d'hypereffusion:

Sur la lame représentée sur fig. 2, on voit une échelle d'hypereffusions où les hématies sans hypereffusion sont considérées comme ayant une hypereffusion «0»; celles représentant une légère hypereffusion sont classées sous «1»; celles dont l'hypereffusion est un peu plus nette, sous «2»; celles teintes nettement de bleu dans leur partie concave ou dans le liquide collé à elles, sont classées sous «3».

On remarquera huit champs sur chaque lame, bien distants les uns des autres, et dont 4 se trouvent en marge et 4 au centre. Chaque champ contient un ou plusieurs neutrophiles. Le champ déjà marqué doit être remplacé par un autre présentant une hypereffusion plus intense, éventuellement trouvé à proximité.

Classification des hypereffusions:

très forte (++++): si tous les champs présentent 3 d'hypereffusion;

forte (+++): pas tous les champs ont 3 d'hypereffusion mais quelques-uns en marge et au centre l'ont;

moyenne (++): l'hypereffusion de l'intensité 3 apparaît soit au centre, soit aux marges, mais pas aux deux; la moindre intensité est 1;

faible (+): aucun champ ne présente 3 d'hypereffusion; on trouve 2 sur plusieurs ou sur tous;

douteuse (±): l'un ou l'autre champs présentent 1 d'hypereffusion;

négative (—): tous les champs ont 0 d'hypereffusion.

Tableau 1.

Preuve d'hypereffusion

Cinquante personnes d'apparence saine et travaillant

Dates	No	Initiales	Résultat				Dates	No	Initiales	Résultat			
1942							1942						
Octobre	1	P.S.				±	Octobre	28	J.M.				+
1							20						
5	2	H.K.				—		29	B.M.			+	+
	3	L.M.				+		30	M.P.				—
8	4	L.C.				±		31	B.S.			+	+
	5	D.S.				±		32	A.S.				+
	6	MR.G.				±	21	33	N.A.				—
	7	J.V.				—		34	N.F.				—
	8	H.P.				+		35	I.M.				+
	9	C.S.				—		36	Y.C.				±
10	10	C.B.				±		37	L.B.				—
	11	V.P.				—		38	M.C.			+	+
	12	N.V.				+		39	D.B.				—
	13	L.O.				—		40	S.S.			+	+
14	14	A.C.				—	27	41	L.N.				—
	15	H.B.				±		42	E.M.		+	+	+
	16	A.P.				—		43	L.R.				—
	17	M.A.				±		44	E.S.	+	+	+	+
	18	V.M.V.				—		45	F.P.		+	+	+
15	19	W.R.				+		46	P.F.M.			+	+
	20	ANL.			+	+		47	I.S.		+	+	+
	21	I.I.				—		48	O.C.				+
	22	I.S.			+	+	29	49	L.C.				+
17	23	A.V.			+	+		50	V.F.		+	+	+
	24	I.M.S.				+							
	25	O.S.		+	+	+							
	26	A.C.			+	+							
	27	L.C.			+	+							

Dans l'intention de faire une enquête sur l'hypereffusion j'ai soumis à l'épreuve toutes les personnes apparemment normales employées dans mon laboratoire, pour vérifier si l'hypereffusion est en rapport direct avec le biotype, la race ou n'importe quelle caractéristique individuelle. J'ai fait chaque jour quelques épreuves et constaté, à ma grande surprise, que les résultats très positifs se présentaient par groupes, en véritables poussées, à certains jours éloignés les uns des autres dans un certain rythme (voir tableau no 1).

Il en résulte qu'il doit y avoir un facteur extérieur dont tout le monde subit l'influence sous forme d'intensification de l'hypereffusion d'oxydase. J'en cherchais en vain la cause dans la luminosité, l'humidité, les décharges électriques, les taches solaires, etc. C'est enfin dans la pression atmosphérique que j'ai constaté un certain rapport.

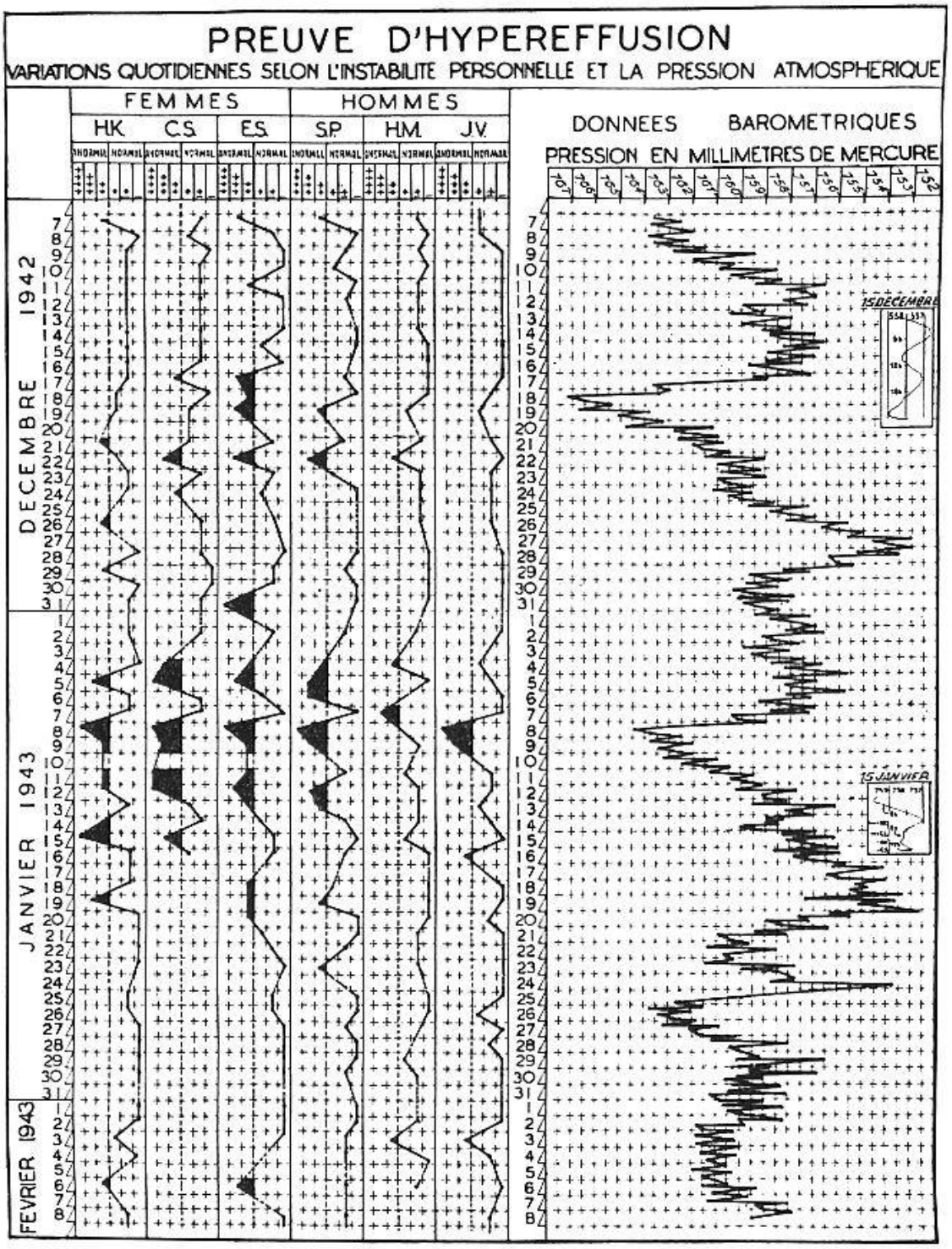

Fig. 4.

Sur la fig. 4 on voit que, abstraction faite de la stabilité ou instabilité de l'individu, l'épreuve d'hypereffusion s'intensifie lorsque la pression barométrique baisse.

Lorsque la pression diminue, l'enveloppe des granulations arrivées à la maturité se brise, ainsi que les minces ballons d'hydrogène éclatent quand ils atteignent les couches élevées de l'atmosphère.

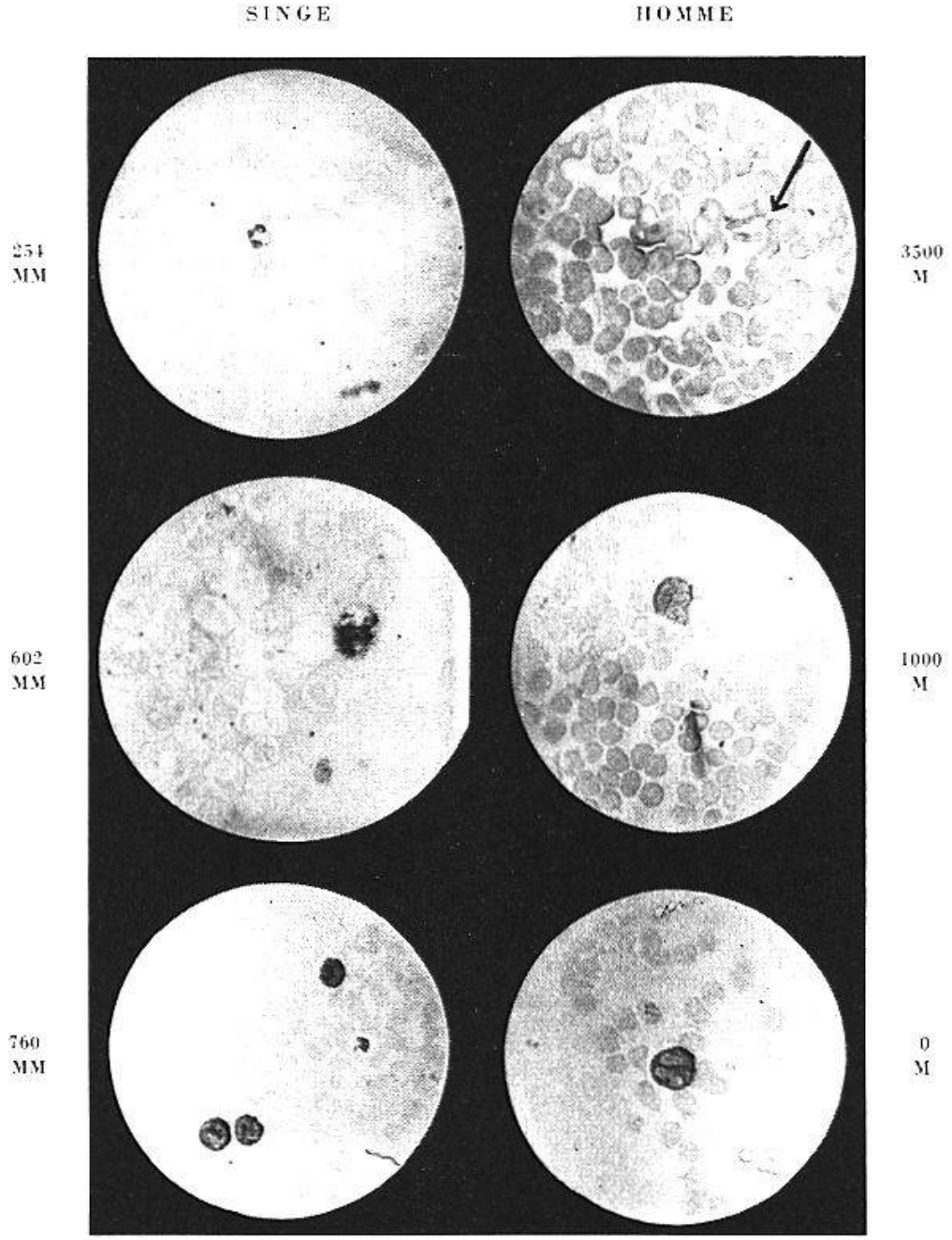

Fig. 5.

Si ce raisonnement est juste, il devrait être possible d'obtenir une hypereffusion intense en plaçant un animal dans un vide relatif. Le résultat obtenu avec le singe, confirmant cette hypothèse, est représenté sur fig. 5 qui montre même une hypereffusion intense, c'est-à-dire complète, laissant le neutrophile démuni d'oxydase (17). Ceci n'est pas vrai pour les oiseaux puisque chez eux l'oxydase se trouve déjà dans les hématies au lieu de se trouver dans les neutrophiles, comme je l'ai démontré dans un travail précédent (18). Cependant, j'ai observé une hypereffusion, identique chez la chauve-souris ainsi que chez l'homme pen-

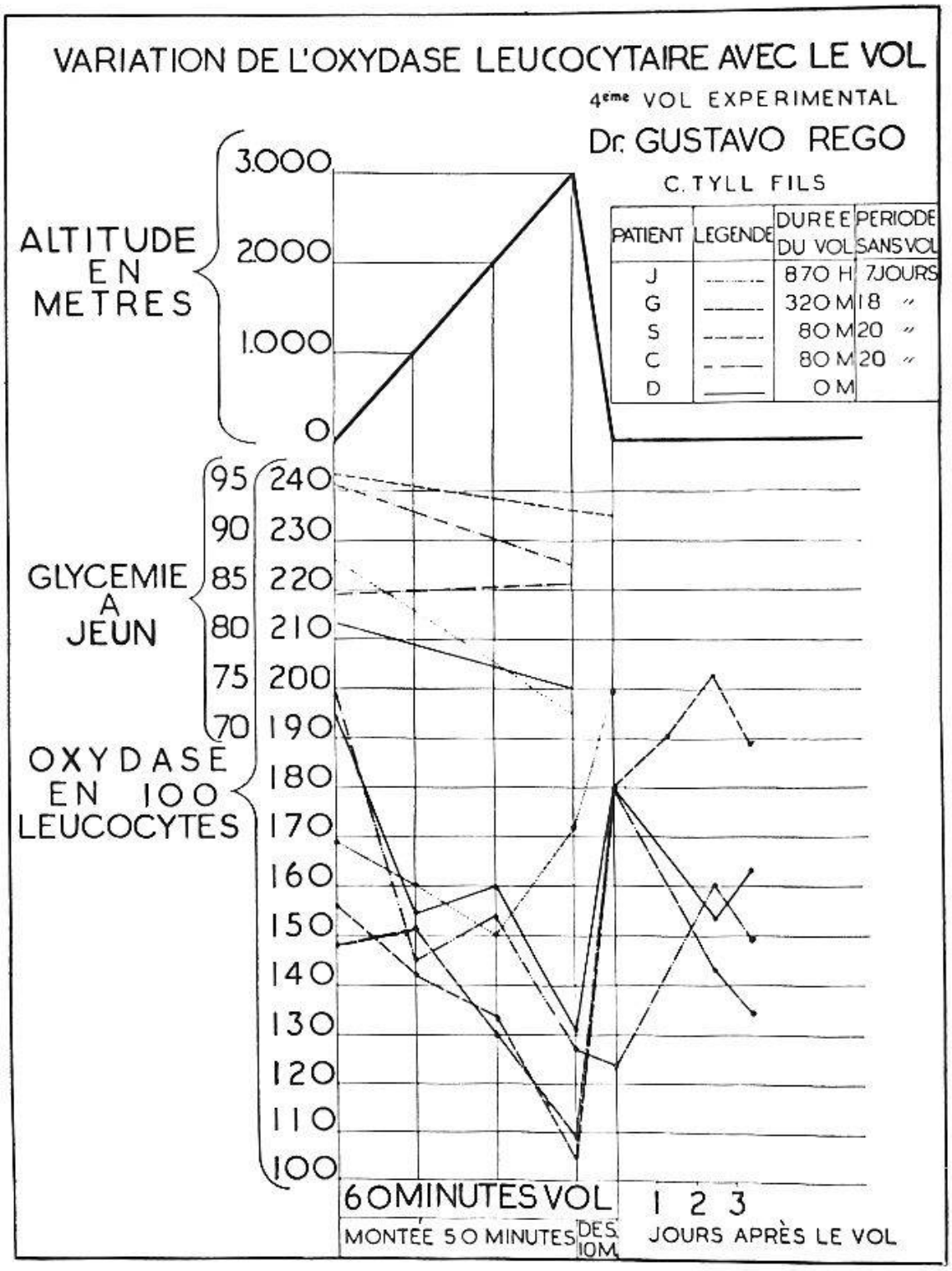

Fig. 6.

dant le vol d'altitude. Le résultat de l'un des vols expérimentaux effectués officiellement par la Force Aérienne du Brésil se trouve sur fig. 6.

Il est connu qu'une glycolyse se produit dans le sang après son extraction. Comparant ce phénomène dans du sang leucémique, lymphoïde et myéloïde, *Sofer* et *Wintrobe* (19) ont tiré la conclusion que les neutrophiles ont leur part à la glycolyse. Donc, si l'action du neutrophile était

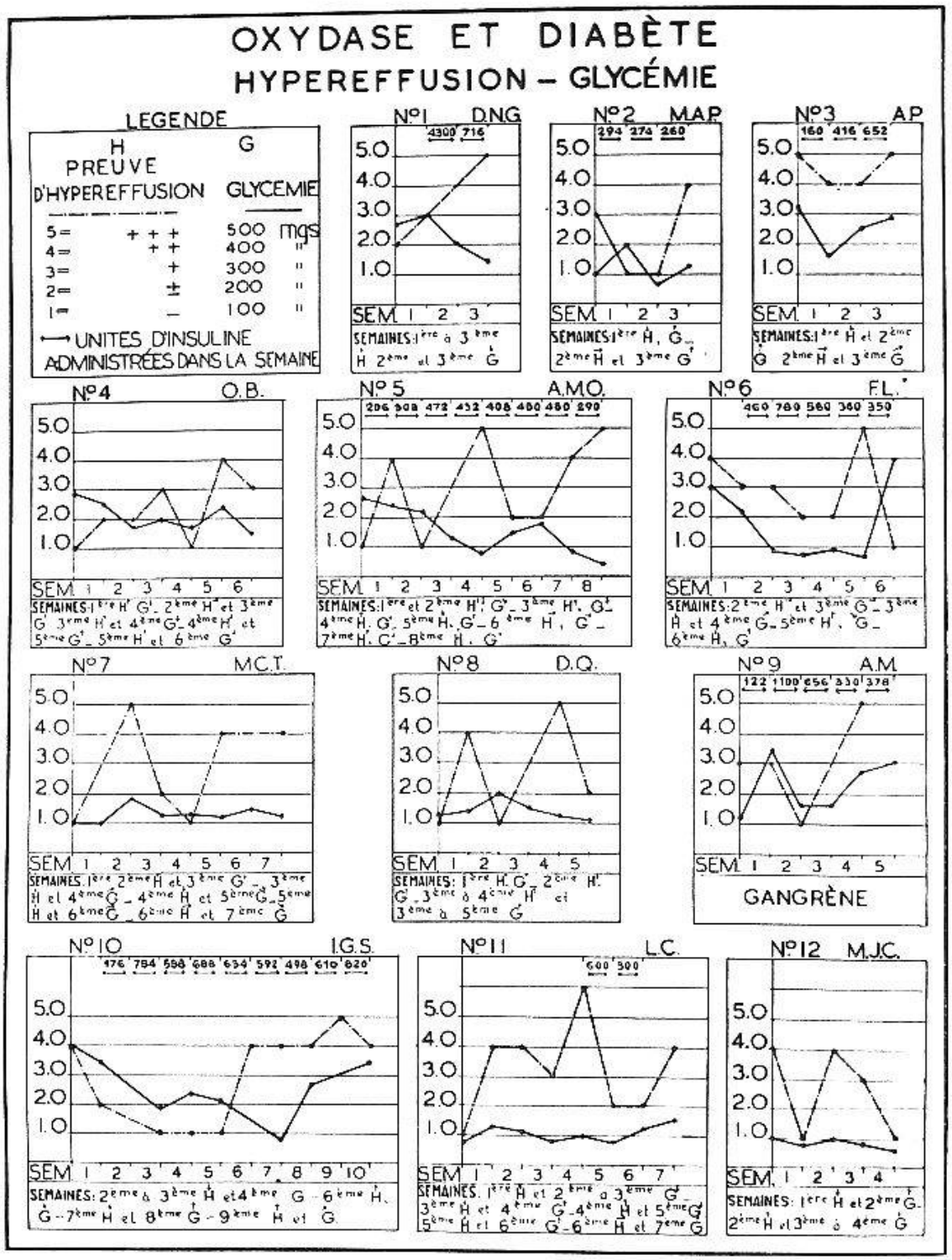

Fig. 7.

causée par l'oxydase, il devrait y avoir une baisse de la glycémie pendant l'hypereffusion. C'est, en effet, ce que confirme la fig. 6, où le seul individu sans baisse d'oxydase leucocytique pendant la première phase du vol est aussi le seul sans baisse de glycose.

Me basant sur ces résultats qui se sont par la suite largement confirmés chez les animaux (18 et 20), j'ai suggéré à la doctoresse *Clotilde Souto*

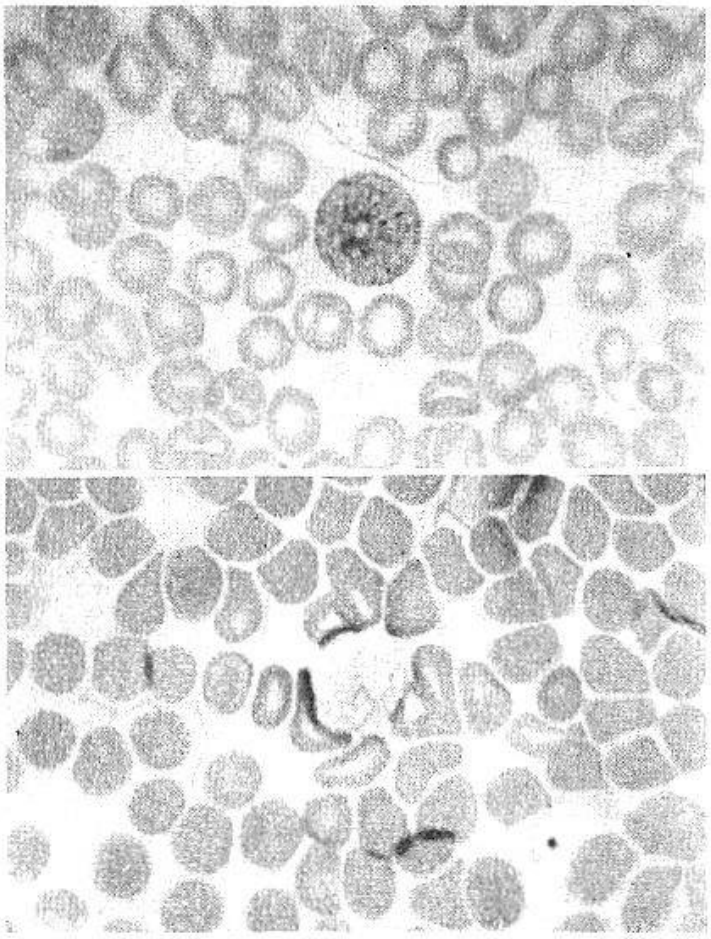

Fig. 8.

Maior de faire la vérification de ce phénomène chez des personnes diabétiques (9). En effet, on verra sur la fig. 7 que hypereffusion et glycémie correspondent en sens inverse, c'est-à-dire que l'hypereffusion augmente lorsque l'hyperglycémie diminue, en même temps ou peu après, et vice-versa.

Par conséquent, j'ai été amené à la conclusion que l'effusion oxydasique est un phénomène soumis à un rythme parfaitement physiologique. D'ailleurs, ce phénomène diminue aux deux moments de la journée présentant un maximum de pression atmosphérique (10 heures et 22 heures) et s'intensifie aux deux moments présentant un minimum de pression (6 heures et 18 heures) (17).

J'arrive maintenant à ce que j'appelle l'oxydase érythrocytique, laquelle, d'accord avec la seconde partie de mon hypothèse, provient du neutrophile et se rencontre à la périphérie de l'érythrocyte.

Le simple examen des lames permet déjà la formation de cette idée. Prenons un des exemples de mon archive (fig. 8) et nous verrons deux rats du même âge: «A» n'a pas subi de décompression, «B» l'à subie 60 fois, à 60 jours consécutifs. Le neutrophile du rat A est rempli d'oxy-

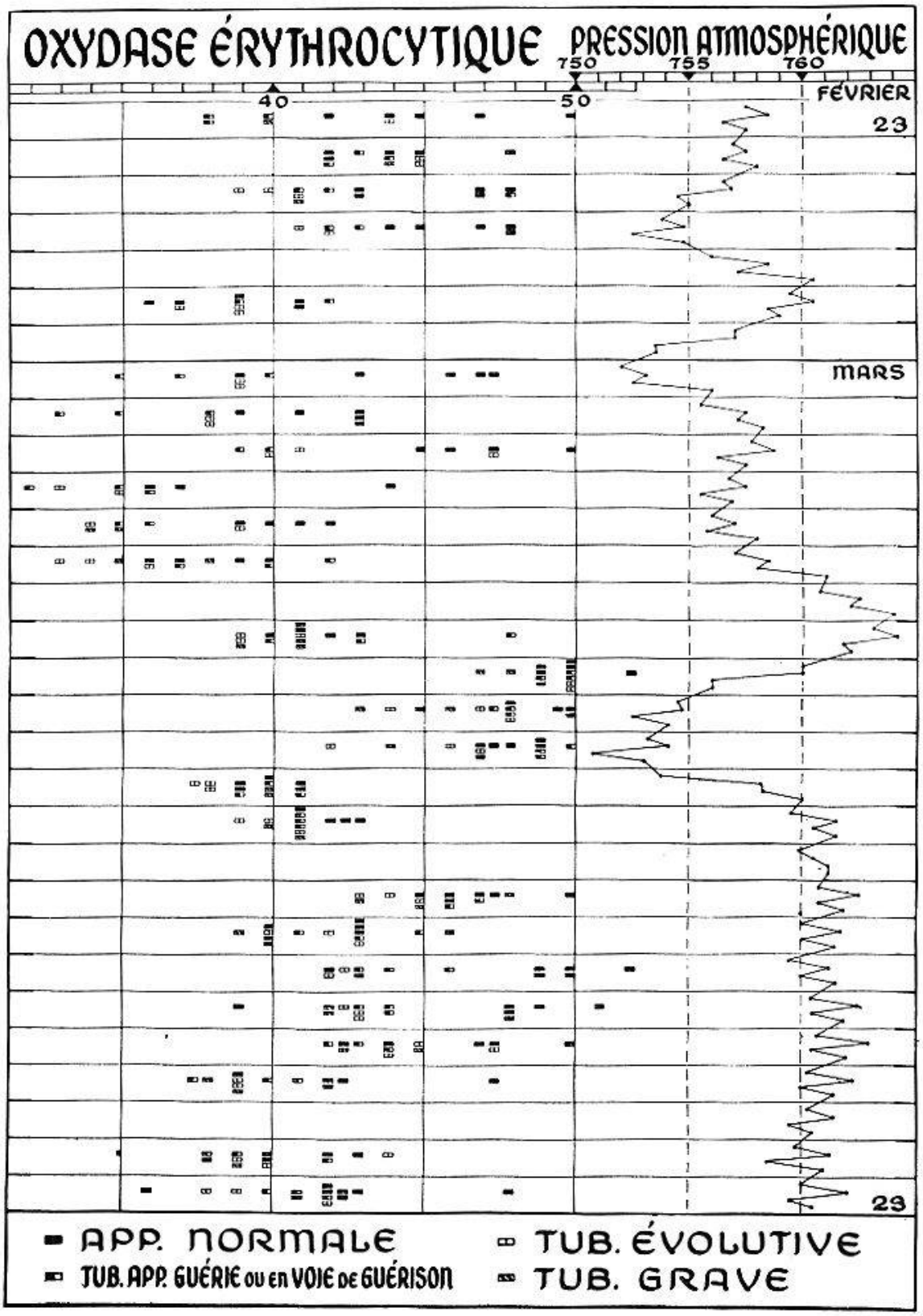

Fig. 9.

dase et ses hématies sont peu colorées, tandis qu'on observe le contraire chez B; le sang des deux rats, cependant, a été pris en même temps, mis sur la même lame et coloré simultanément.

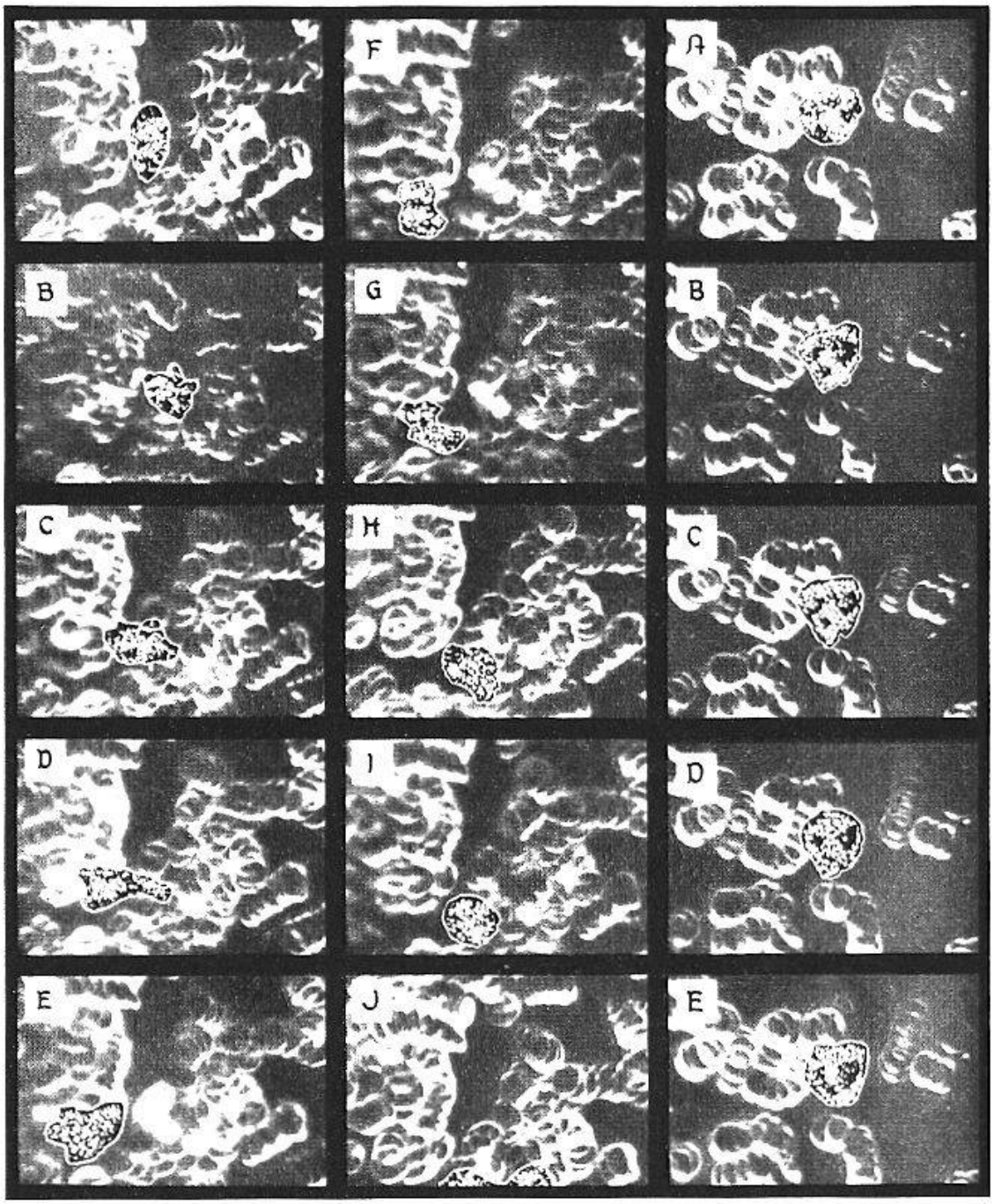

Fig. 11. Fig. 10.

Pour prouver que la baisse en oxydase leucocytique correspond bien à la hausse en oxydase érythrocytique, il fallait, avant tout, établir un système permettant de mesurer aussi celle-ci. Ce système, je l'ai trouvé par la comparaison, à l'aide d'un électro-photomètre, de frottis teints dans les mêmes circonstances. Le résultat obtenu exprime en micro-ampères l'oxydase érythrocytique. La technique de coloration et de mesuration est expliquée dans une annexe à ce travail.

Cette valeur s'obtient sans tenir compte de la richesse en globules rouges ou en hémoglobine, comme je l'ai constaté très souvent, d'ailleurs (17).

En éliminant les neutrophiles par centrifugation, l'on constate que leur oxydase n'a aucune influence sur le résultat, vu leur petit nombre en relation aux masses d'hématies.

Pendant un mois, l'oxydase érythrocytique a été déterminée chez quatre personnes d'apparence normale, tous les jours aux mêmes heures. Résultat: on y découvre les mêmes variations quotidiennes qu'aux hypereffusions, c'est-à-dire que, lorsque la pression atmosphérique diminue,

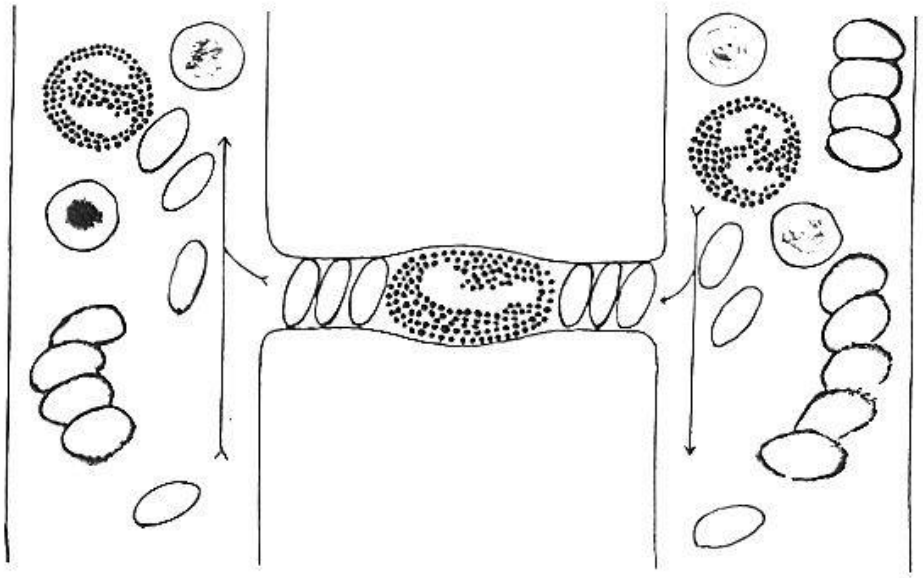

Fig. 12.

l'oxydase érythrocytique augmente. Il est donc logique de dire que l'oxydase provenant du neutrophile se dirige vers l'hématie[4]).

Comme nous sommes habitués à voir les globules de sang uniquement sur des lames sèches complètement séparés et indifférents, cette conclusion nous choque d'abord un peu mais en vérité, cette indifférence n'existe pas. Il suffit d'examiner le sang frais qui se trouve entre lame et lamelle, en champ obscure: le neutrophile, s'il ne peut bouger, lance un pseudopode vers l'hématie et se retire aussitôt (fig. 10), et s'il peut bouger, il ne s'arrête pas dans l'espace vide mais cherche sans cesse les hématies. Quand il en abandonne une, il en cherche d'autres et les entoure d'une couche gélatineuse (fig. 11), les entraînant souvent par son liquide poisseux.

Si nous examinons maintenant, sur fond obscure, le mésentère du rat avec l'objectif d'immersion, nous comprendrons mieux: les capillaires sont plus fins que les hématies et, par là, beaucoup plus fins que le neutrophile qui, prenant la forme d'un cylindre, passe écrasé (fig. 12)

---

[4]) Rappelons que, chez l'homme, la surface adsorbante totale de l'hématie est estimée à 3500 m².

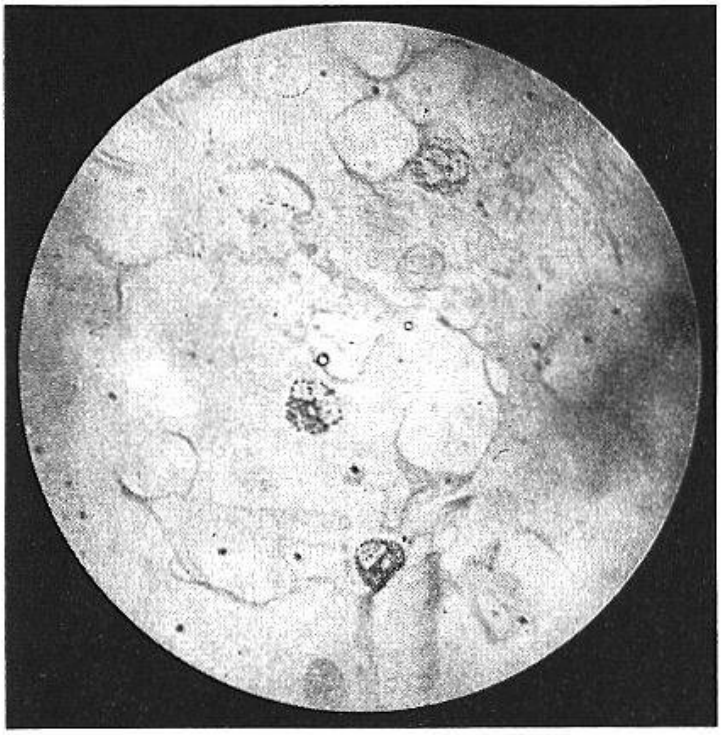

Fig. 13.

en laissant, naturellement, son oxydase dans les hématies qui le poussent[5]).

Nous avons vu (fig. 4) que pour une baisse de pression identique, l'hypereffusion est d'intensité variable selon les individus. D'accord avec ce que j'ai exposé dans un travail précédent, j'en ai conclu que la stabilité est en relation avec le fonctionnement thyroïdien (17). Il fallait encore faire une étude plus approfondie de la cause de la maturation des granulations.

Il nous est connu que les granulations ont dans leur composition des lipides (2). Si nous admettons que ces lipides forment l'enveloppe de la granulation, comme c'est le cas chez les bacilles acido-alcoolo-résistants, nous pouvons supposer qu'ils sont lysés par la lipase que le neutrophile ne produit pas lui-même mais doit recevoir du lymphocyte.

A. P. Seabra m'a suggéré que, dans ce cas, les granulations des neutrophiles devraient également être colorées par la méthode de Ziehl. Il était difficile d'examiner cette suggestion, étant donné que l'acide les détruit. Cependant, avec une petite modification de la technique de Ziehl[6]), il a été possible de démontrer qu'en effet, dans le sang, seules les granulations des neutrophiles sont acido-alcool-résistants (fig. 13).

[5]) C'est peut-être à cause du liquide poisseux que les hématies reçoivent à leur surface, qu'elles s'agglutinent en forme de pile de monnaie.

[6]) Voici comment les lames ont été teintes: Fixer la lame en vapeurs de formol pendant 4 minutes, la tremper ensuite en fuchsine de *Ziehl* et laisser reposer jusqu'au lendemain. La laver alors sous eau courante et décolorer avec de l'alcool absolu additionné de 0,5% d'acide nitrique 1,40.

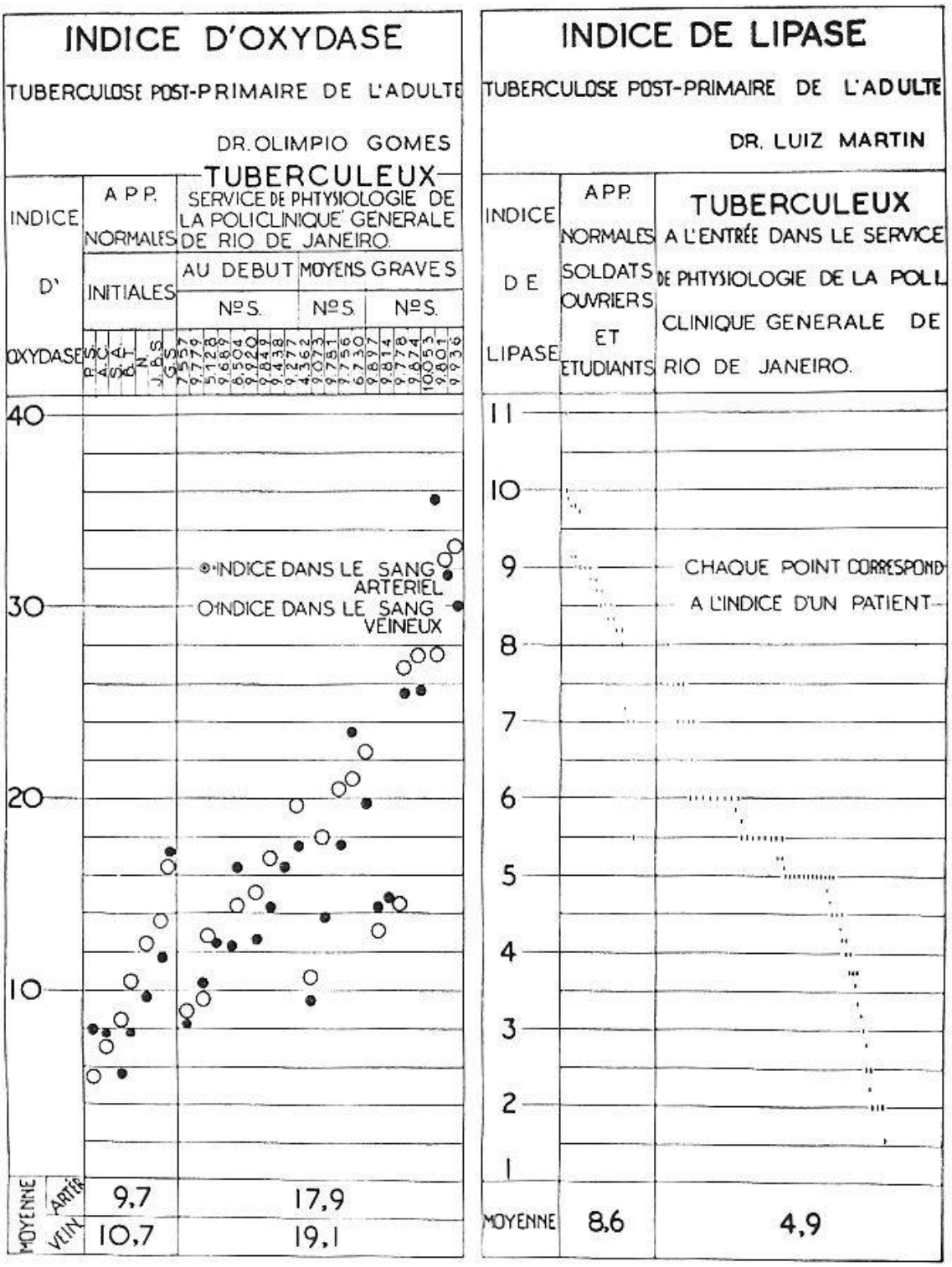

Fig. 14.

Déjà *Calmette* pensait que les bacilles de la tuberculose produisent une substance qui détruit la lipase du lymphocyte et il appelait «anti-lécitinase» (21) ce qui actuellement est appelé «facteur P» (22). C'est pourquoi le sang du tuberculeux est pauvre en lipase. Cette observation est mentionnée dans une littérature abondante et peut être constaté également sur la fig. 14 de ce travail.

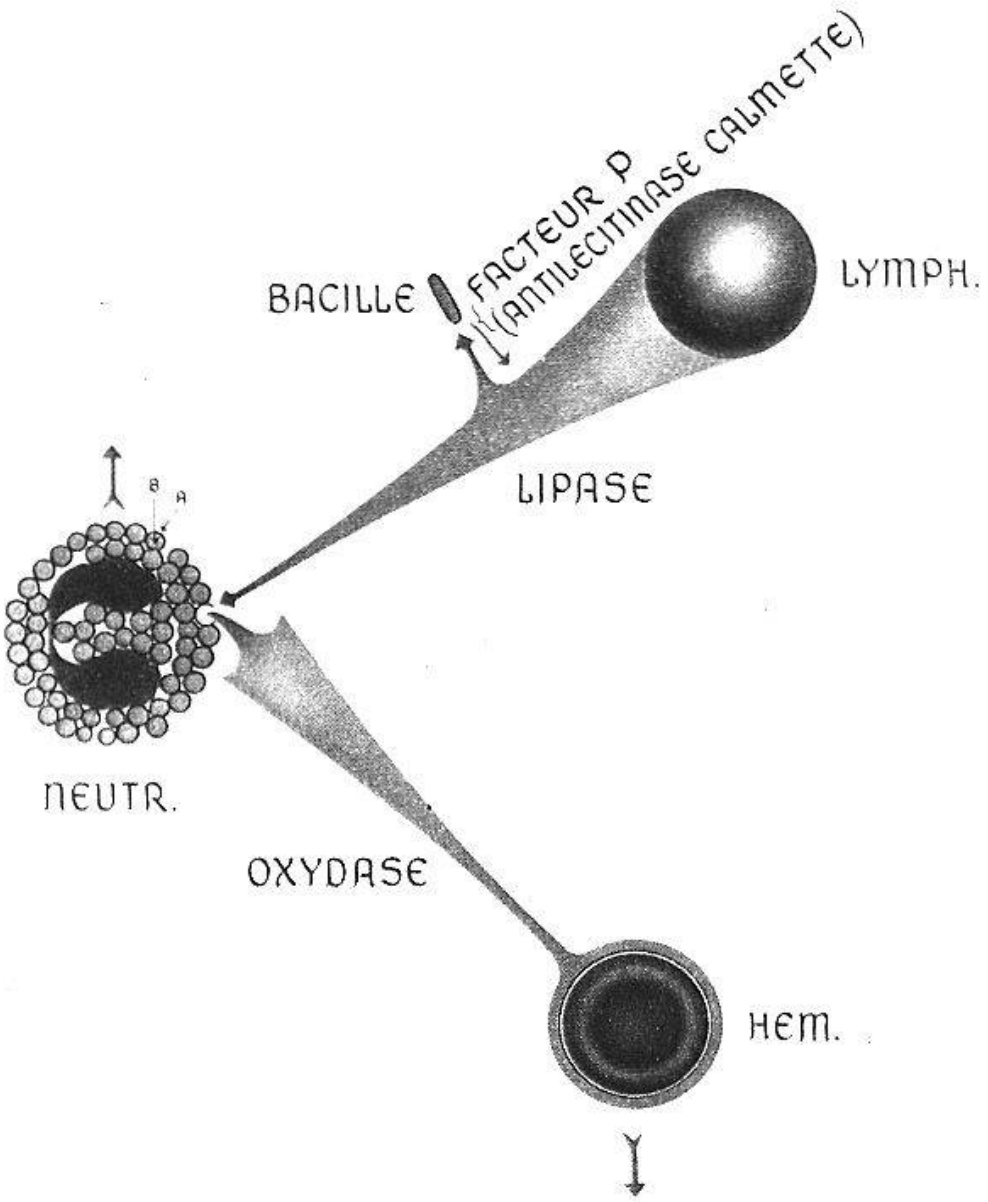

Fig. 15.

S'il est vrai que la lipase lymphocytique est un facteur de maturation pour les granulations du neutrophile, celles-ci devraient moins facilement se briser chez les tuberculeux qui, par conséquent, devraient conserver davantage d'oxydase dans les neutrophiles. C'est exactement ce que démontre la fig. 14.

En conséquence, le sang du tuberculeux est pauvre en oxydase érythrocytique. La fig. 9 nous donne l'impression qu'il est d'autant plus pauvre que la maladie est plus avancée. Je possède d'autres graphiques renforçant cette impression.

Afin de me rendre compte si la baisse en oxydase dans le globule rouge du sang du tuberculeux est en rapport avec des phénomènes respiratoires

ou avec la nature du bacille, j'ai fait des tests pendant la crise anoxémique de malades asthmatiques non tuberculeux et avec des malades porteur d'un autre bacille acido-alcool-résistant: le bacille de Hansen. Chez les asthmatiques, l'oxydase érythrocytique trouvée était plus élevée que la normale, tandis que chez les lépreux, elle était aussi basse que chez les tuberculeux. Ici reposent sans doute des possibilités de diagnostique très importantes mais pas encore complètement exploitées (23, 24).

La comparaison de ces phénomènes chez le tuberculeux, ainsi que chez l'aviateur, confirme, en effet, l'hypothèse physiologique (fig. 15).

Pour terminer, je rappellerai ce mot de *Claude Bernard:* «Le désir ardent de la connaissance est l'unique mobile qui attire et soutient l'investigateur ... qui devient à la fois son seul tourment et son seul bonheur» (25).

Dans mon cas, le bonheur est particulier, car je pense qu'il m'a été donné de confirmer expérimentalement l'hypothèse de *Claude Bernard* qui a étendu au sang les bases des corrélations physiologiques. Il dit: «On peut en dire autant des éléments sanguins ... Les divers éléments vivants jouent ainsi le rôle d'excitants les uns par rapport aux autres» (1).

En effet, je crois pouvoir affirmer aujourd'hui que *le neutrophile transmet son oxydase à l'hématie et qu'il a besoin pour cela de la lipase du lymphocyte.*

Détermination de la valeur de l'oxydase érythrocytique (avril 1948)

Les détails pratiques de la méthode pour la détermination de la valeur de l'oxydase érythrocytique tels qu'ils ont été présentés à México (le 23 juillet 1946) n'étaient plus les mêmes que ceux présentés à San Francisco (12 juin 1946). Actuellement, les modifications sont beaucoup plus nombreuses et la technique n'est pas encore définitive, étant donné que je la simplifie sans cesse, cherchant à éliminer les sources d'erreurs et à augmenter la différence numérique entre le sang normal et le sang pathologique.

Les lames destinées à recevoir le frottis doivent être rigoureusement propres [7]).

Le frottis doit commencer plutôt épais pour s'amincir ensuite jusqu'à

[7]) Les lames doivent être frottées au moyen d'un chiffon mouillé avec de la lessive «Bon-Ami», lavées à l'eau courante et laissées un jour dans un mélange sulfo-chromique. Le lendemain, elles sont lavées à l'eau courante, à l'eau distillée et ensuite essuyées avec un chiffon lavé au savon de Marseille.

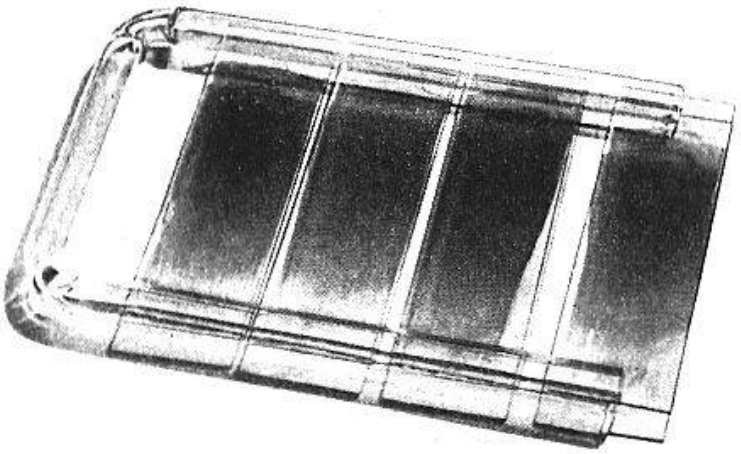

Fig. 16.

ne plus exister par manque de sang, comme on le voit sur la fig. 16, où quatre lames se trouvent dans les dispositifs actuellement en usage.

Coloration : a) fixer les frottis dans de l'alcool absolu pendant 6 minutes, b) laisser sécher 30 minutes, c) fixer dans une solution aqueuse de formol à 5%, pendant 5 secondes, d) laisser sécher 30 minutes, e) placer les lames dans du mordant à 37°, pendant 30 minutes, f) siphonner le mordant, g) plonger immédiatement les lames une minute dans l'alcool et une minute dans l'eau distillée, h) mettre de suite dans la gentiane ammoniacale[8]) au thermostat à 37°, pendant 4 heures.

La gentiane ammoniacale doit être placée dans un récipient, en quantité suffisante pour atteindre une hauteur de 3,5 cm, et les lames sont placées horizontalement au fond du récipient.

L'alcool, le formol, le mordant et les récipients doivent être mis auparavant dans le four à 37°, pendant ½ heure, au moins. Les lames sont fixées et séchées au four à 37°.

La lecture se fait le lendemain.

Electro-photomètre (fig. 17). - Il est construit de façon à ce que la lumière d'une lampe de 100 Watt a) passe par le condensateur b), soit refroidie dans le ballon, c) réglée par le diaphragme d), filtrée par le filtre coloré e), passe par une ouverture de 10 mm de diamètre et tombe sur le frottis de sang f), la lumière est ensuite reçue sur une cellule photo-électrique g) qui la transforme en électricité, mesurée par le micro-ampérimètre h).

Filtres. – On se sert de deux filters : a) bleu (de trichromie Ilford) et b) vert (de trichromie Ilford).

[8]) La gentiane (0,002‰) ammoniacale s'obtient par la dissolution sur place, d'un cm³ de la solution utilisée pour la méthode de Loele-Seabra dans 200 cm³ d'eau distillée à laquelle on a ajouté 0,22 cm³ d'ammoniac (0,925).

Calibrage. – A l'aide du filtre bleu on élimine un point de la lame qui ne contienne pas de sang, diaphragmant de façon à marquer 50 micro-ampères; on déplace ensuite la lame vers une zone où l'épaisseur du frottis fasse tomber l'aiguille à 30. La lecture de toutes les lames est faite avec le calibre 30, afin d'utiliser toujours la même épaisseur de sang.

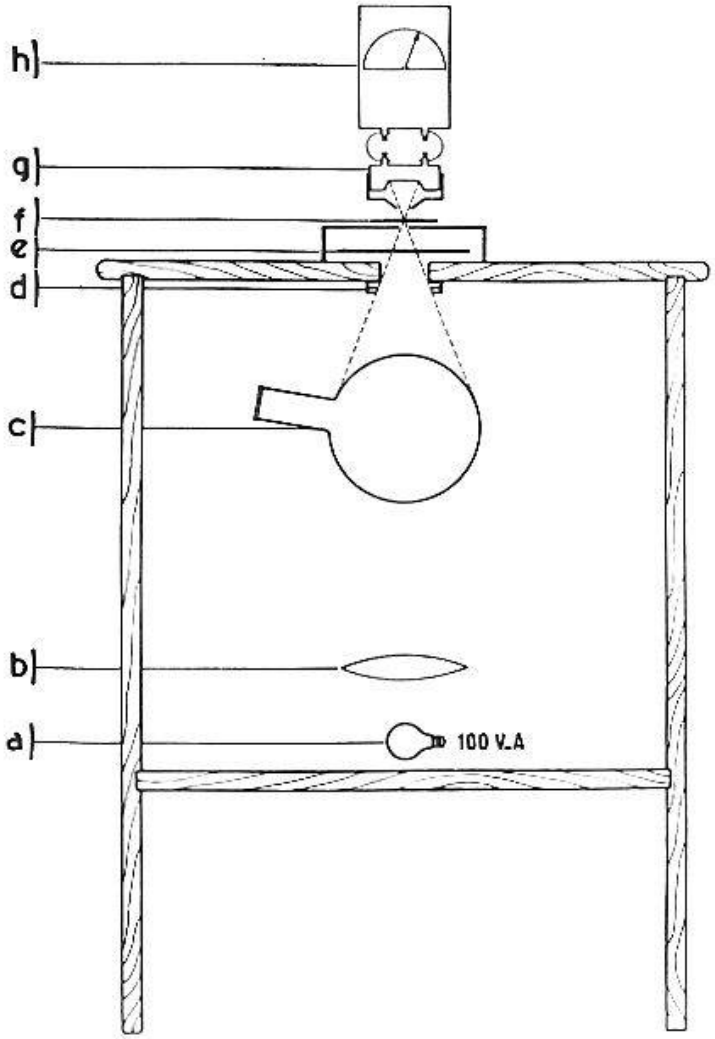

Fig. 17.

Lecture. – Sans déplacer la lame, on remplace le filtre bleu par le vert et l'on note le nombre de micro-ampères qui manquent pour faire 150. Par exemple, s'il en manque 35, on dit que l'Oxydase Erythrocyti correspond à *35 micro-ampères.*

La fig. 18, représente deux lames éclairées sur des points du calibre 30: a) avec le filtre bleu, qui élimine presque complètement la coloration des lames, montrant qu'à ces points-là, elles sont de la même densité ou opacité; b) sans filtre, montrant la différence de couleur telle qu'elle apparaît à l'œil nu, et c) avec le filtre vert, qui met en relief la différence de coloration fournie par le violet de gentiane grâce à la différence d'oxy-

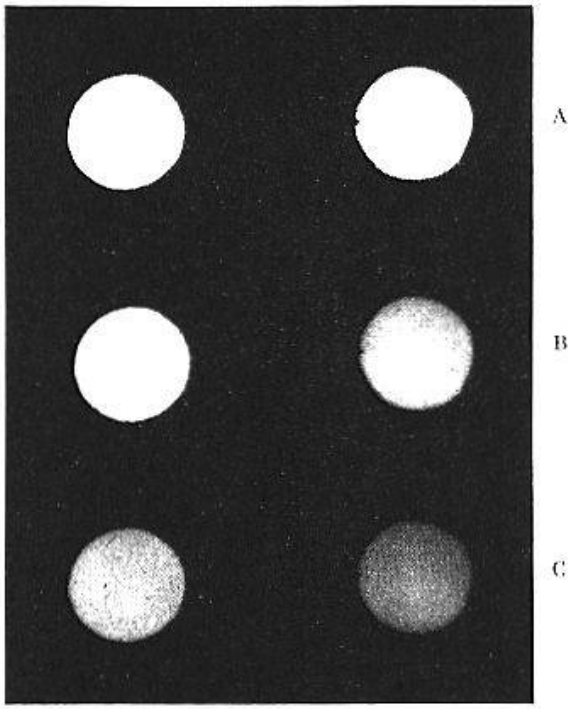

Fig. 18.

dase érythrocytique présente dans chacun des deux sangs. La lame droite présente une oxydase érythrocytique correspondant à 52 microampères, et la lame gauche une oxydase correspondant à 33.

Résumé

Loele avait réussi la coloration stable indiquant l'oxydase, sur les frottis de sang. L'auteur, modifiant cette méthode, a obtenu une relation entre l'intensité de la couleur et la richesse en oxydase chez le neutrophile. C'est ainsi qu'il a créé l'Indice d'Oxydase sur lequel sont basés de nombreux travaux par des auteurs de différents pays. L'auteur a constaté que l'oxydase sort physiologiquement du neutrophile et se dirige vers l'hématie, à travers le plasma: c'est ce qu'il appelle l'effusion oxydasique qui se transforme en hypereffusion durant les décompressions atmosphériques. Une telle hypereffusion est observée lors des ascensions rapides par avions, ce qui a été confirmé lors de différents vols expérimentaux de la Force Aérienne Brésilienne. Ceci est important, étant donné que l'hypereffusion oxydasique a un effet hypoglycémiant.

Cela ne se vérifie pas chez les oiseaux car ceux-ci ont une adaptation naturelle: chez eux, l'oxydase se trouve déjà dans l'hématie, au lieu de se trouver dans le neutrophile, comme c'est le cas chez les hommes.

Pour que la granulation oxydasique se brise, il faut que sa membrane soit arrivée à la maturité, ce qui est dû en partie à la lipase produite par le lymphocyte. Par conséquent, chez le tuberculeux, pauvre en lipase,

le neutrophile se présente enrichi d'oxydase tandis que l'hématie en est appauvrie.

Dans une annexe au présent travail, l'auteur décrit la méthode électrophotométrique qui lui permet de doser l'oxydase érythrocytique.

Zusammenfassung

Loele war eine stabile Färbung gelungen, welche die Oxydase auf Blutausstrichen nachweist. Nach Abänderung dieser Methode fand der Autor einen Zusammenhang zwischen Farbintensität und dem Oxydasegehalt von neutrophilen Zellen. Auf ihn geht auch die Einführung des Oxydase-Index zurück, auf den sich zahlreiche Arbeiten von Autoren aus verschiedenen Ländern stützen. Der Verfasser hat festgestellt, daß sich die Oxydase physiologisch aus neutrophilen Zellen ableitet und sich durch das Plasma zum Erythrocyten hinbewegt. Diesen Vorgang nennt er die Effusion der Oxydase, die sich bei atmosphärischen Unterdrucken in Hypereffusion umwandelt. Eine solche Hypereffusion zeigt sich auch beim raschen Aufstieg von Flugzeugen. Dieser Vorgang wurde bei verschiedenen Versuchsflügen der brasilianischen Luftwaffe beobachtet. Er ist deshalb von Bedeutung, da die Hypereffusion der Oxydase eine hypoglykämische Wirkung besitzt.

Dieser Prozeß läßt sich bei den Vögeln nicht verfolgen, da diese ein natürliches Anpassungsvermögen besitzen. Bei ihnen findet sich die Oxydase bereits im Erythrocyten und nicht in den Neutrophilen, wie es bei den Menschen der Fall ist.

Damit die die Oxydase enthaltenden Granula aufbrechen, ist es nötig, daß ihre Membran zur Reife gelangt, was zum Teil auf die von den Lymphocyten produzierte Lipase zurückzuführen ist. Daher sind bei tuberkulösen Kranken, in deren Organismus der Lipase-Gehalt herabgesetzt ist, die Neutrophilen mit Oxydase angereichert, während Erythrocyten daran Mangel leiden.

In einem Anhang zu dieser Arbeit beschreibt der Autor die elektrophotometrische Methode, welche ihm gestattet, die Oxydase der Erythrocyten zu bestimmen.

Riassunto

A *Loele* era riuscito la colorazione stabile indicante l'ossidasi, sugli striscidi sangue. L'Autore, modificando questo metodo; ha ottenuto una relazione fra intensità del colore e ricchezza in ossidasi nei neutrofili. È così che egli ha creato l'indice di ossidasi sul quale sono basati numerosi lavori di Autori di diversi Paesi. L'Autore ha constatato che l'ossidasi esce fisiologicamente dal neutrofilo e si dirige verso l'emazia, attra-

verso il plasma: è ciò che egli chiama l'effusione ossidasica che si trasforma in ipereffusione durante le decompressioni atmosferiche.

Una tale ipereffusione è osservata nel caso delle ascensioni rapide per aereo, ciò che è stato confermato in occasione dei diversi voli sperimentali delle Forze Aeree Brasiliane. Questo è importante, dato il fatto che l'ipereffusione ossidasica ha un effetto ipoglicemizzante.

Lo stesso non si verifica negli uccelli perchè questi hanno un adattamento naturale: in essi, l'ossidasi si trova già nell'emazia, invece di trovarsi nel neutrofilo, come nell'uomo.

Perchè la granulazione ossidasica si liberi, bisogna che la sua membrana sia arrivata alla maturità, ciò che è dovuto in parte alla lipasi prodotta dal linfocito. Per conseguenza, nel tubercoloso, povero in lipasi, il neutrofilo si presenta arricchito di ossidasi mentre l'emazia ne è impoverita. In un annesso al presente lavoro, l'Autore descrive il metodo elettrofotometrico che gli permette di dosare l'ossidasi eritrocitica.

Summary

Loele succeeded in producing a stable colouring indicative of oxidase in blood smears. The author, modifying this method, has obtained a relationship between intensity of colour and the concentration of oxidase in the neutrophil. He has thus been able to create the oxidase index on which are based numerous works by authors in different countries. The author has proved that, under physiological conditions the oxidase leaves the neutrophils and travels across the plasma towards the erythrocytes. This is what he calls oxidasic effusion, which is transformed into hypereffusion under reduced atmospheric pressure. Hypereffusion of this sort is observed during rapid aeroplane ascents, a fact which has been confirmed during several experimental flights by the Brasilian Air Force. This is important when one knows that oxidasic hypereffusion has a hypoglycæmic effect.

The same phenomenon cannot be found in birds as these have a natural adaptation, the oxidase being already present in the erythrocytes instead of in the neutrophils, as is the case in man.

In order that the oxidasic granulation may break up, it is necessary that the membrane should have reached maturity, a process which is partly dependent upon the lipase produced by the lymphocytes. Consequently, in tuberculous persons, who are poor in lipase, the neutrophils are found to be enriched in oxidase while the erythrocytes contain very little.

In an appendix to the present work, the author describes an electrophotometric method which enables him to determine the oxidase in the erythrocytes.

1. *Claude Bernard:* Introduction à l'étude de la médecine expérimentale. Paris, Baillière, 1865. – 2. *Fiessinger, Noël:* Les ferments des leucocytes en physiologie, pathologie et thérapeutique générales. Paris, Masson, 1923. – 3. *Loele, W.:* Dtsch. med. Wschr. **62,** 2004 (1936). – 4. *Seabra, Paulo:* Bol. Acad. nac. Med. **3,** 9 (1939). – 5. *Pessanha, J. J.,* et *Lins, Filho, W.:* Imprensa Méd. **18,** 343 (1942). – 6. *Coelho, O.,* et *Lins Filho, W.:* Imprensa Méd. **19,** 360 (1943). – 7. *Echave, Dionisio:* Imprensa Méd. **20,** 362 (1944). – 8. *Lins, Filho, W.,* et *Magalhães, Prado, M. de:* O Hospital **27,** 4 (1945). – 9. *Souto Maior, Maria Clotilde:* Med. Tim. (Am.) **7,** 74 (juillet 1946). – 10. *Lins Filho, W.,* et *Pessanha, J. J.:* Med. Cir. Farm. **120** (avril 1946). – 11. *Gomes, O.:* Rev. brasil. Tbc. **11,** 84 (1942). – 12. *Pessanha, J. J.,* et *Lins Filho, W.:* Imprensa Méd. **23,** 404 (août 1947). – 13. *Lins Filho, W.,* et *Siqueira Delduque, Percy de:* A Patologia Geral **32,** 11 (novembre-décembre 1947). – 14. *Chauffard, A.:* Préface à Les ferments des leucocytes, Paris 1923. – 15. *Thomas, Pierre:* Manuel de Biochimie, Paris 1936, 195. – 16. *Oppenheimer, Carl:* Die Fermente und ihre Wirkungen, 5e éd. Leipzig, tome 1, 59. – 17. *Seabra, Paulo:* Med. Tim. (Am.) (décembre 1943). – 18. *Seabra, Paulo:* Med. Tim. (Am.) (juin 1946). – 19. *Soffer, L. J.,* et *Wintrobe, M. M.:* J. clin. Invest. (Am.) **11,** 661 (1932). – 20. *Seabra, Paulo:* J. Aviat. Med. (Am.) **18,** 3 (juin 1947). – 21. *Calmette, A.:* Tubercle Bacillus Infections, Baltimore, William & Wilkins, 1923, 465. – 22. *Middlebrook, G.:* Amer. Rev. Tbc. **51,** 244 (1945). – 23. *Seabra, Paulo:* Dis. Chest (novembre-décembre 1946). – 24. *Petrarca de Mesquita, André:* Med. Tim. (Am.) (février 1948). – 25. *Claude, Bernard:* La science expérimentale, Paris, Baillière, 1906.