

Corrélation physiologique entre les globules blancs et les globules rouges du sang

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

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Bulletin de la Société Fribourgeoise des Sciences Naturelles =
Bulletin der Naturforschenden Gesellschaft Freiburg**

Band (Jahr): **39 (1947-1949)**

PDF erstellt am: **18.07.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-308260>

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.

Corrélation physiologique

entre les globules blancs et les globules rouges du sang

par PAULO SEABRA.

La corrélation physiologique que j'ai rencontrée entre le neutrophile, l'hématie et le lymphocyte, est représentée schématiquement sur la fig. 1.

Par les expériences décrites ci-dessous, j'espère pouvoir démontrer que la granulation oxydasique du neutrophile et de l'éosinophile, n'est pas une unité compacte, mais formée par une membrane (*a*) contenant le liquide oxydasique (*b*).

Cette membrane est semiperméable — comme la plupart des membranes — et se brise physiologiquement, donnant lieu à une effusion du liquide oxydasique vers le plasma, phénomène que j'ai dénommé « effusion oxydasique ».

Arrivée au plasma, l'oxydase — un enzyme catalysateur des oxydations organiques — est absorbée par l'hématie pour y constituer ce que j'appelle « oxydase érythrocytique ».

La rupture de la membrane des granulations oxydasiques arrivées à maturité, se vérifie le plus souvent pendant les deux phases quotidiennes de dépression atmosphérique et on peut s'imaginer qu'elle se produit lorsque le neutrophile est rétréci par son passage dans les capillaires, puisque la même rupture peut s'obtenir *in vitro*, moyennant une compression mécanique.

Etant donné que l'effusion oxydasique est le résultat de nombreux facteurs différents, l'altération de l'un d'eux peut déranger le rythme physiologique du phénomène, produisant une hypereffusion ou une hypoeffusion.

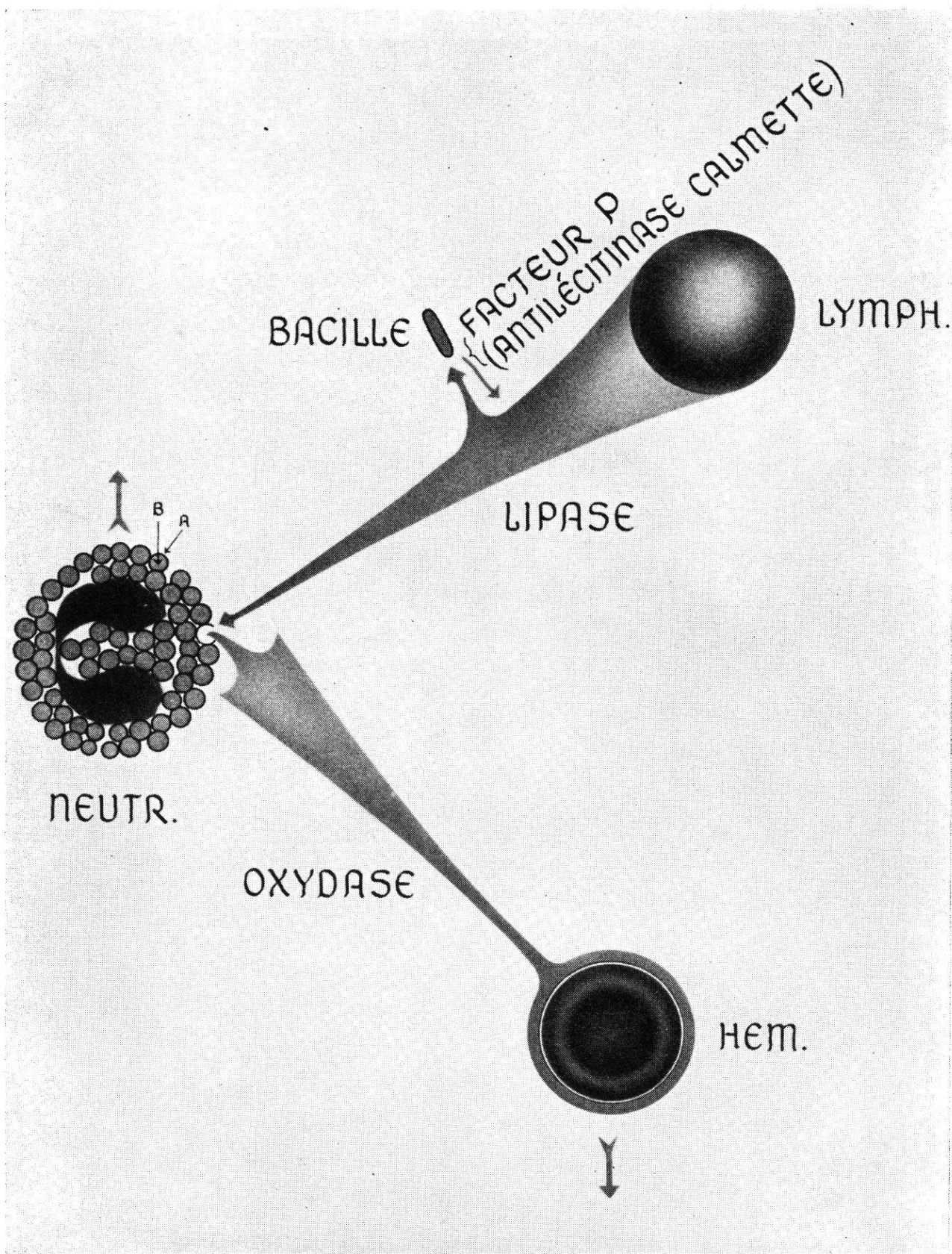


FIG. 1.

L'hypereffusion se vérifie, par exemple, pendant une baisse très intense de la pression atmosphérique amenant à la rupture même les membranes pas encore arrivées à maturité, à la manière des ballons de caoutchouc fin, qui remplis de gaz, se brisent quand ils sont lâchés et atteignent les couches élevées de l'atmosphère.

Suivant le degré de la dépression, l'hypereffusion peut même arriver à un paroxysme: toutes les granulations se brisent, laissant le neutrophile sans oxydase, laquelle passe tout entière aux hématies, après avoir exercé dans le plasma son rôle glycolysant. On peut vérifier ce phénomène chez l'homme, lors des vols d'altitude.

L'hypoeffusion, par contre, se rencontre, par exemple, dans les cas de ralentissement de la maturation de la membrane des granulations oxydasiques. Cette membrane est riche en lipides, dont la lyse se fait par la lipase du plasma, provenant en grande partie du lymphocyte.

Dans les cas d'appauvrissement lipasique du plasma, les membranes sont plus lentes à mûrir et l'oxydase s'accumule dans le neutrophile ce qui la fait baisser dans l'hématie (voir les flèches sur fig. 1). Un des états pathologiques où nous rencontrons l'hypoeffusion oxydasique, est la tuberculose, car son bacille inactive la lipase.

Démonstration expérimentale.

En 1923, Noël FIESSINGER déclara, dans son livre *Les ferments des leucocytes* (1):

« 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. »

En 1947, John REBUCK, dans son ouvrage intitulé *Functions of the White Blood Cells* (2) mentionne que « Seabra introduisait une expression numérique de la puissance de l'oxydase dans les neutrophiles ».

En effet, une des difficultés était l'instabilité des colorations oxydasiques, étant donné que leur aspect se modifiait du jour au lendemain. Pourtant, ce problème fut résolu par LOELE (3), qui observa que les unités histologiques contenant de l'oxydase et

fixées par des vapeurs de formol, traitées à l'alpha-naphtol, l'oxydent, le transforment en mordant capable de fixer le violet de gentiane qui les colore ainsi de bleu violet.

En supprimant l'alcool dans les liquides employés par LOELE, j'ai réussi à obtenir une coloration progressive intense, entièrement constante et d'accord avec le contenu oxydasique. Les couleurs ainsi obtenues restent inaltérables, comme j'ai pu l'observer dans mon archive de lames consistant en plus de 60 000 champs marqués, où les leucocytes colorés il y a dix ans conservent toujours la même intensité¹.

Quand on note les différents degrés d'intensité des neutrophiles et éosinophiles suivant une échelle colorimétrique allant de 0 à 6, la somme des valeurs notées (pour 100 leucocytes) fournira l'« oxydase leucocytaire ». En multipliant celle-ci par le coefficient de 100 leucocytes par millimètre cube (mm³) de sang, on trouvera l'index d'oxydase. Des recherches basées sur cet index, que j'ai présenté en 1939 (4) ont été confirmées 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

¹ Le procédé de coloration (appelé « Lœle-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 pendant 10 minutes dans une atmosphère de formol, en plaçant les lames verticalement dans un verre contenant un petit cristallisateur avec 20 cc. de formaline, dissoute dans 40 cc. d'eau; *c*) couvrir de mordant pendant 15 minutes; *d*) laver le frottis sous un filet d'eau très fin pendant 1 minute; *e*) 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 gr. dans 250 cc. d'eau distillée; décanter le lendemain. *Mordant*: carbonate d'ammonium 0,8 gr., alpha-naphtol 0,2 gr., eau distillée 400 cc. Agiter de temps en temps, filtrer le lendemain dans du coton de verre. Employer du verre foncé. Ce mordant peut être utilisé du troisième au vingtième ou trentième jour, selon la température, jusqu'à devenir trouble et marron. Il se conserve très longtemps dans la glacière. *Fuchsine basique*: 0,1 gr. dans 150 cc. d'eau distillée; décanter le lendemain.

démonstratives d'une effusion du liquide oxydasique provenant des neutrophiles et baignant les hématies voisines.

L'interprétation que je donne à ces phénomènes est que les vapeurs de formol employées comme fixateur ont un effet constrictif et brisent la membrane enveloppante de quelques granulations oxydasiques. Ensuite, au moment où l'on ajoute le mordant, le liqui-

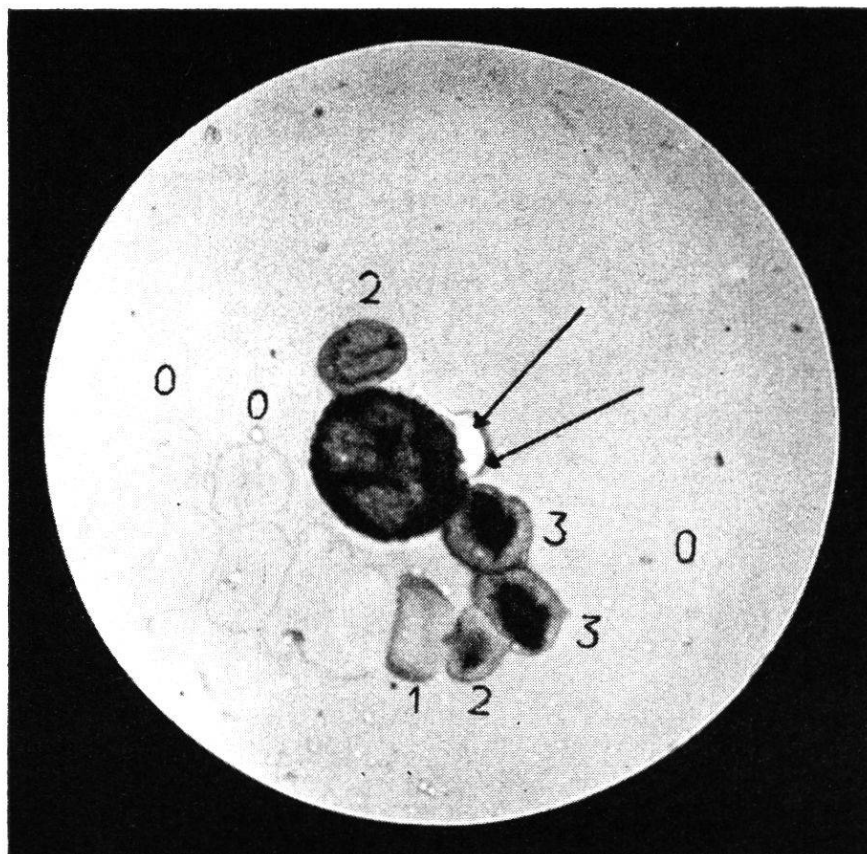


FIG. 2.

de enzymatique sort des granulations brisées par le formol. Ce liquide ne s'éloigne pas. Il se colle aux hématies voisines, grâce à sa consistance épaisse et visqueuse, comme on peut le voir par le ménisque qu'il présente (fig. 2). 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 découvre, 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 bien des « laboratoires ambulants dont chacun sécrètera, au moment et au lieu voulus, des ferments nécessaires » (14).

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 trouvons à côté de granulations entières, d'autres, tout à fait vides. Le liquide oxydasique sorti de ces granulations se trouve au voisinage, visible par sa coloration bleue.

La rupture de la granulation du neutrophile produite par le formol à la fixation du frottis, est d'autant plus intense que les vapeurs sont plus concentrées ou l'exposition de plus longue durée. Cependant, si nous soumettons à la fixation en même temps des lames de sang de différentes personnes, le phénomène dont nous parlons est absent des lames de certaines personnes pour se trouver, au contraire sur toutes les lames de sang d'autres personnes.

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 qu'il existe une effusion physiologique de l'oxydase du neutrophile qui est absorbée 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°¹.

¹ Permettez-moi de citer quelques passages d'auteurs sur les caractéristiques thermiques des enzymes:

FIESSINGER (1). — « Le chauffage pendant quelques secondes à 100° détruit ces réactions; à 90° 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 inactivées par chauffage à 100°, et que cette destruction peut être considérée comme un critère 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. »

PREUVES D'HYPEREFFUSION

Cinquante personnes d'apparence saine et travaillant

Dates	N°	Initiales	Résultat			Dates	N°	Initiales	Résultat		
1942						1942					
Octobre	1	P.S.			±	Octobre	28	J.M.			+
	2	H.K.			—	20	29	B.M.		+	+
1/5	3	L.M.			+		30	M.P.			—
	4	L.C.			±		31	B.S.		+	+
8	5	D.S.			±		32	A.S.			+
	6	M.R.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	A.N.L.		+	+		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.		+	+						

Tableau 1.

Par conséquent, ces taches d'oxydase signifieraient que les membranes des granulations oxydasiques de ces neutrophiles seraient plus fragiles que les autres, ce qui causerait une effusion intensifiée d'oxydase: une hypereffusion.

Afin de pouvoir comparer entre eux les différents états d'hypereffusion, il a fallu classer les résultats de cette expérience de la façon suivante: négatif (—), douteux (\pm), faible (+), moyen (++), fort (+++), très fort (++++)¹.

Avec l'intention de faire une enquête sur l'hypereffusion en soumettant 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, je faisais chaque jour quelques épreuves et constatai, à ma grande surprise, que les résultats forts se présentaient par groupes, en véritables poussées, à certains jours éloignés les uns des autres dans un rythme assez prononcé (voir tableau n° 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 cherchai en vain la cause dans la lumi-

¹ 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 « 0 » d'hypereffusion; celles présentant une légère hypereffusion sont classées sous « 1 »; celles teintées nettement de bleu, dans leur partie concave ou dans le liquide collé à elles, sont classées sous « 3 ».

On remarquera 8 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* (+++) — tous les champs n'ont pas 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 bords, mais pas partout; la moindre intensité est 1; *faible* (+) — aucun champ ne présente 3 d'hypereffusion; on trouve 2 sur plusieurs ou sur tous; *douteuse* (\pm) — l'un ou l'autre champ présentent 1 d'hypereffusion; *négative* (—) — tous les champs ont 0 d'hypereffusion.

PREUVE D'HYPÉRÉFFUSION

VARIATIONS QUOTIDIENNES SELON L'INSTABILITÉ PERSONNELLE ET LA PRESSION ATMOSPHERIQUE

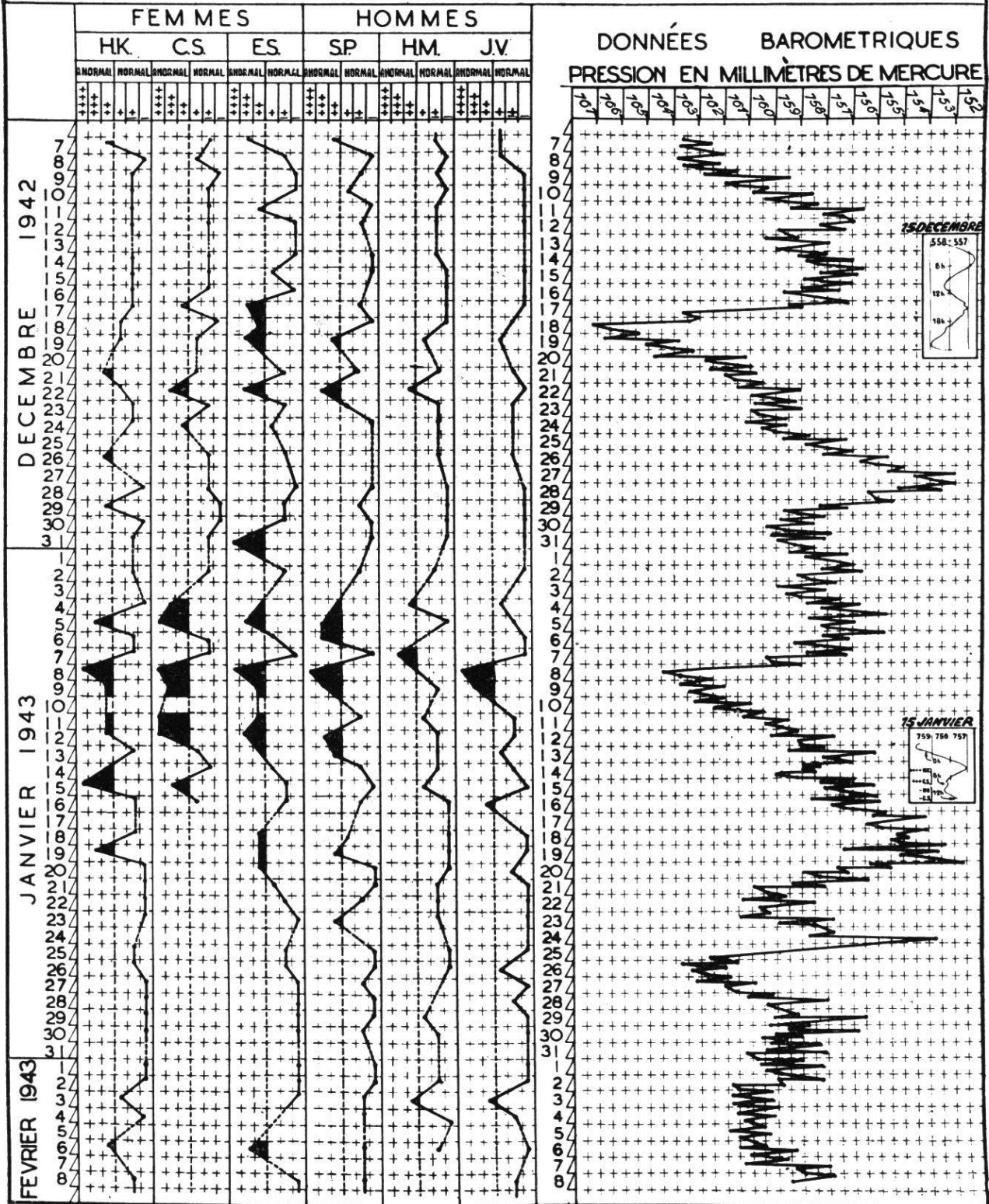


FIG. 3.

nosité, l'humidité, les décharges électriques, les taches solaires, etc. C'est enfin dans la pression atmosphérique que je constatai un certain rapport.

Sur fig. 3 on verra que, compte tenu 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 maturité se brise.

Si ce raisonnement est juste, il devrait être possible d'obtenir une hypereffusion intense en plaçant un animal dans un vacuum relatif. Prenons un des exemples de mes archives (fig. 4) et nous verrons deux rats du même âge: « A » n'a pas subi de décompression, « B » l'a subie 60 fois, à 60 jours consécutifs. Le neutrophile du rat A est rempli d'oxydase et ses hématies sont peu colorées, tandis qu'on observe le contraire chez B, chez qui nous rencontrons un neutrophile avec hypereffusion paroxystique, c'est-à-dire complète, présentant « 0 » d'oxydase et, par contre, des hématies anormalement riches en oxydase et, par conséquent, teintées avec intensité. Le sang des deux rats, cependant, avait été pris en même temps, mis sur la même lame et coloré ensemble.

Le résultat identique, obtenu avec le singe, est représenté sur la fig. 5, qui montre une hypereffusion paroxystique, ainsi que chez l'homme qui atteint une altitude de 3500 mètres par avion, en montée rapide. Les lames de sang de l'homme, prises avant le vol, à 1000 mètres et à 3500 mètres, ont été colorées ensemble, comme celles du singe.

Le résultat de l'un des vols expérimentaux effectués officiellement par la Force Aérienne du Brésil, se trouve sur la fig. 6, où l'on vérifie que, chez la plupart des personnes, l'oxydase leucocytaire baisse rapidement, à mesure que l'avion monte.

Il est connu qu'une glycolyse se produit dans le sang après son extraction. Comparant ce phénomène dans du sang leucémique, lymphoïde et myéloïde, SOFFER et WINTROBE (19) ont tiré la conclusion que les neutrophiles ont leur part à la glycolyse. Donc, si l'action du neutrophile était causée par l'oxydase, il devrait y avoir une baisse de glycémie pendant l'hypereffusion. C'est, en effet, ce que confirme la fig. 6. Presque tous avaient de la glycolyse et l'un d'eux atteignait l'hypoglycémie (J). Le seul individu sans baisse

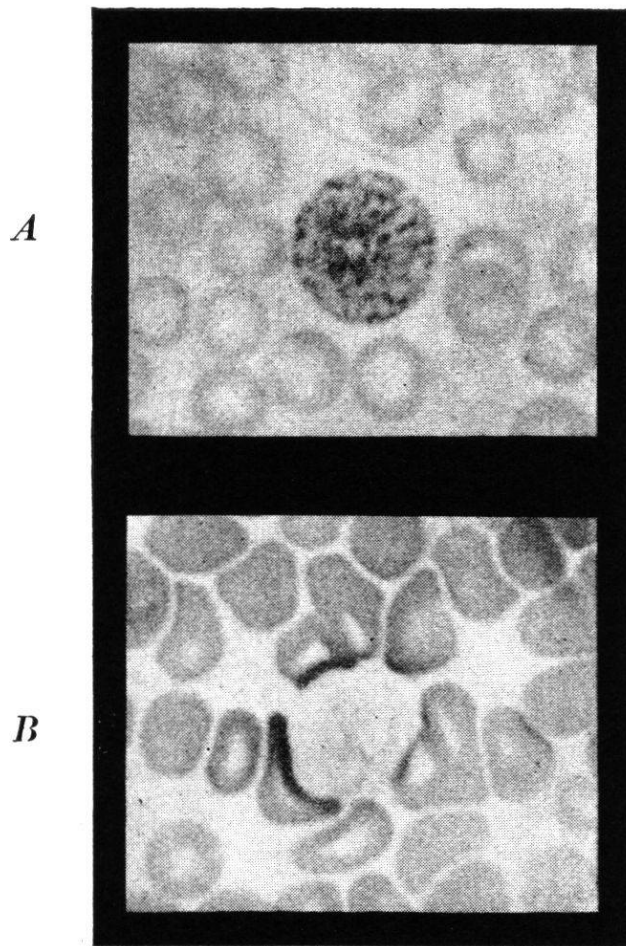
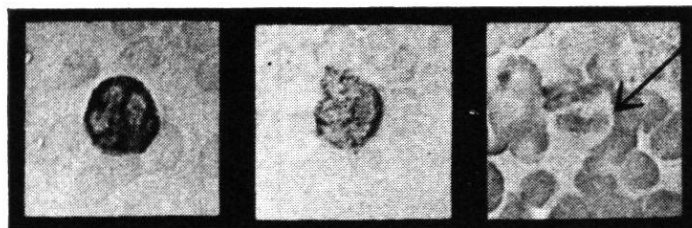


FIG. 4.

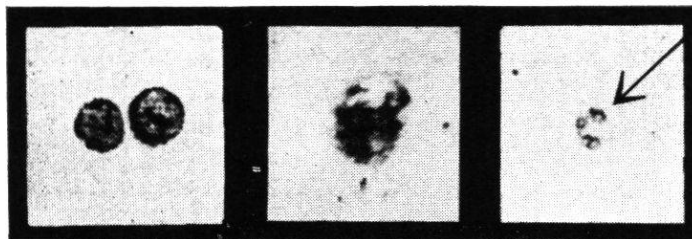


0 m.

1000 m.

3500 m.

Homme: Vol d'altitude.



760 mm.

602 mm.

254 mm.

Singe: Essai de décompression.

FIG. 5.

VARIATION DE L'OXYDASE LEUCOCYTAIRE AVEC LE VOL

4^{ème} VOL EXPÉRIMENTAL

Dr. GUSTAVO REGO

C. TYLL FILS

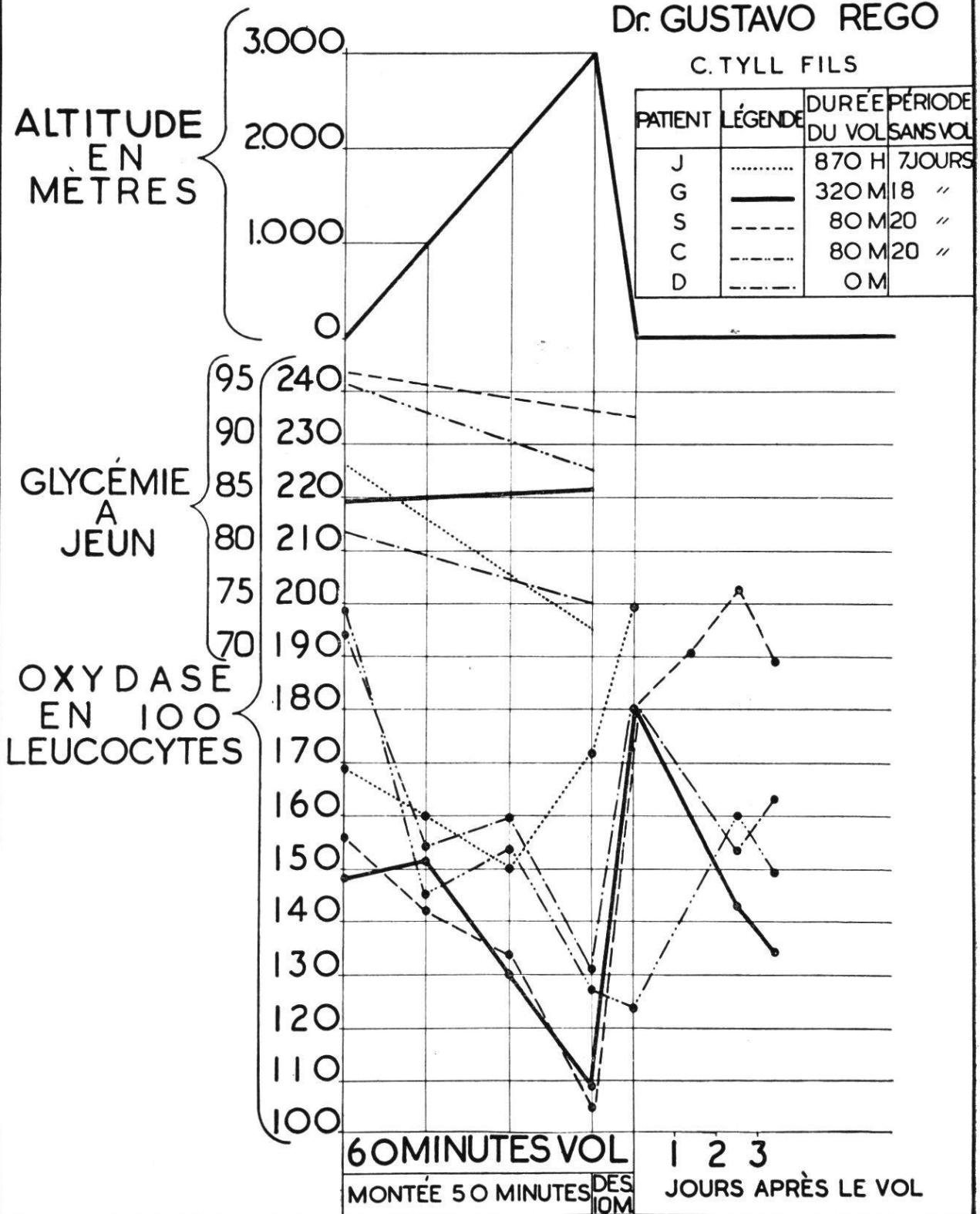


FIG. 6.

d'oxydase leucocytaire pendant la première phase du vol (G) est aussi le seul sans baisse de glycose.

Il serait intéressant d'observer si une hypereffusion similaire et la glycolyse correspondante se produisent chez les oiseaux pendant le vol, c'est-à-dire, quand ils sont soumis à une dépression. Afin d'obtenir des conditions expérimentales comparables entre mammifères et oiseaux, on s'est servi, comme oiseau, du vautour

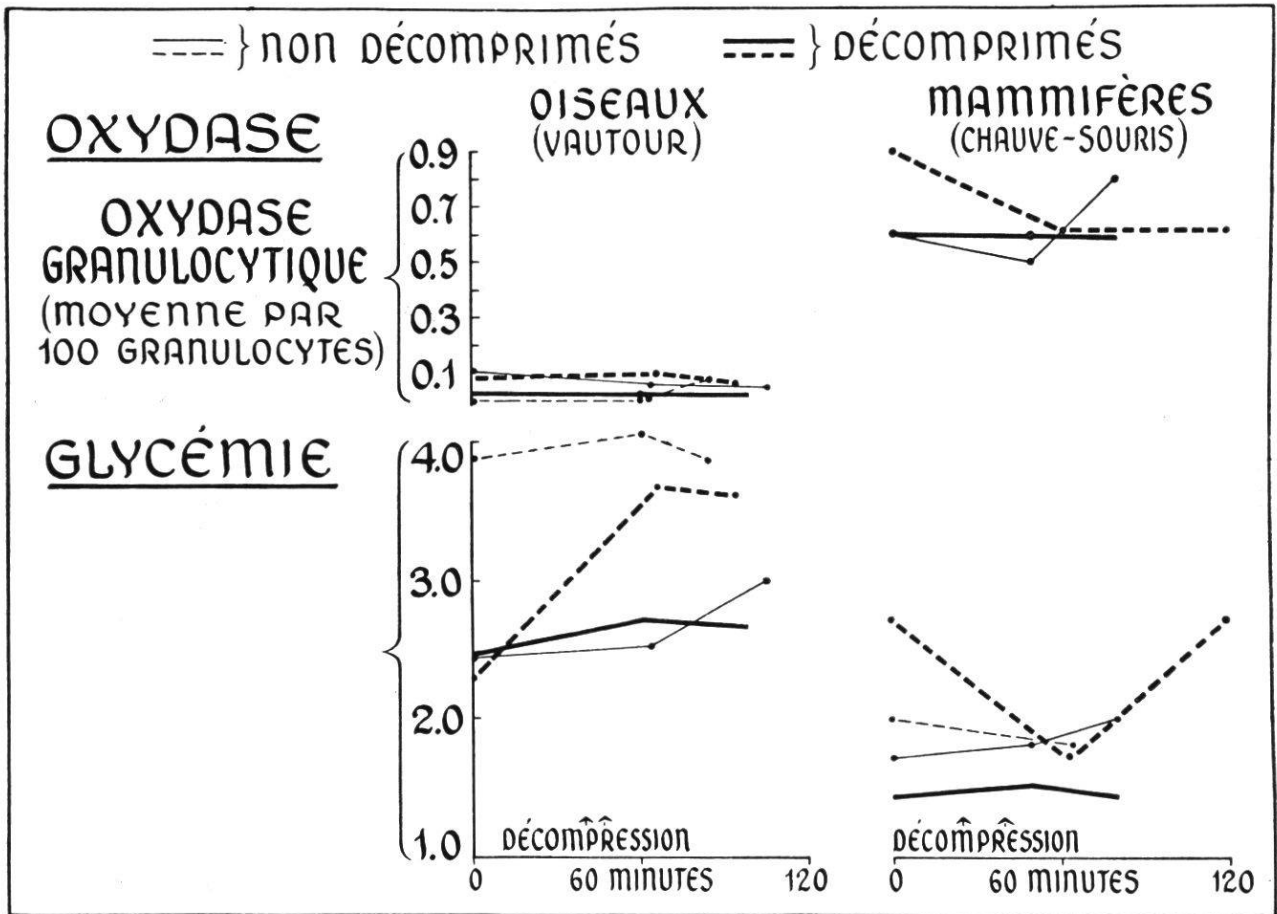


FIG. 7.

(*Coragyps atratus* fœtus) qui vole à grande altitude, et comme mammifère, du seul animal de cette catégorie qui vole, quoique à petite altitude seulement : la chauve-souris (*Molossus rufus*). La fig. 7 démontre que, chez le mammifère qui avait une hypereffusion, il s'est également produit une glycolyse, tandis que chez les oiseaux, il n'y avait ni hypereffusion, ni glycolyse.

Cette adaptation naturelle de l'oiseau au vol se trouve expliquée sur la fig. 8: des échantillons de sang de mammifères et d'oiseaux sont comparés, après avoir été traités par le mordant, seu-

MAMMIFÈRE

DU SANG TEINT

SANS
NAPHTOL

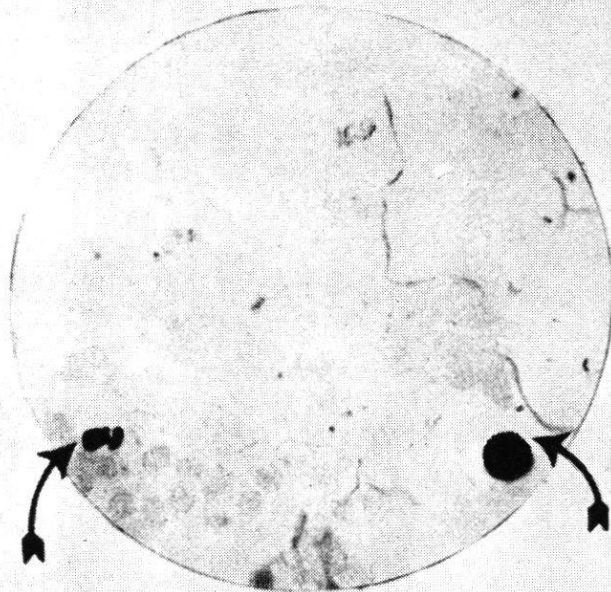
AVEC
NAPHTOL

OISEAUX

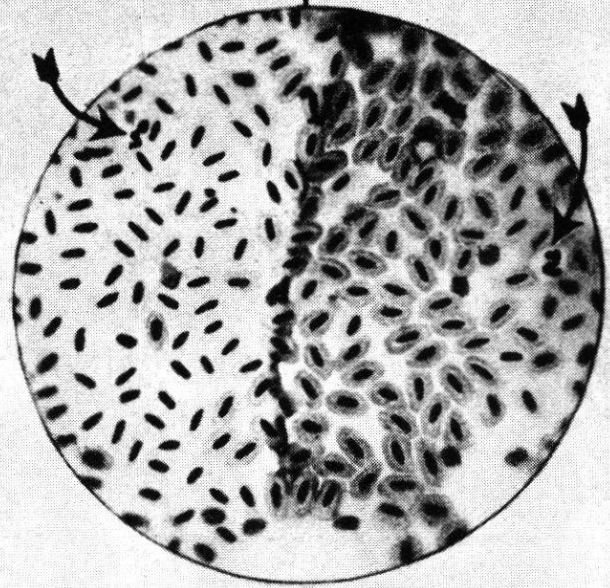
DU SANG TEINT

SANS
NAPHTOL

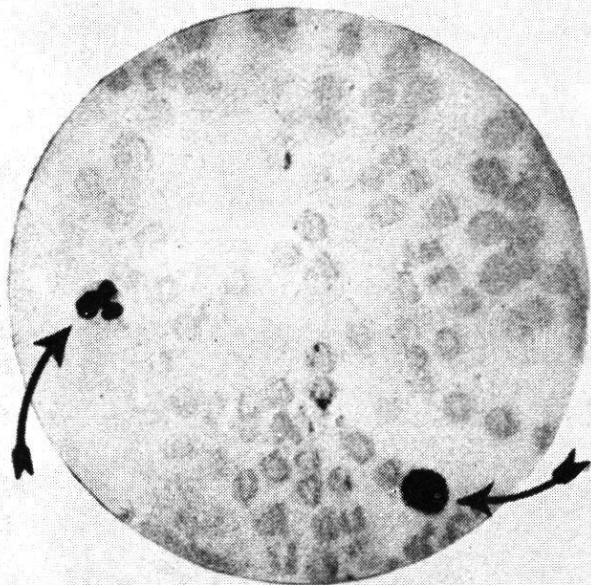
AVEC
NAPHTOL



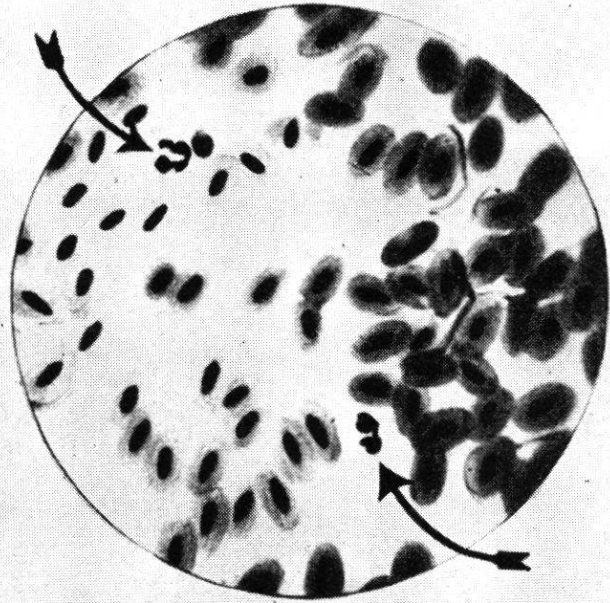
HOMME



CANARD



CHAUVE-SOURIS



VAUTOUR

FIG. 8.

lement sur la moitié de chaque champ microscopique, pour que l'on puisse vérifier, par la comparaison des deux moitiés, où se trouve la différence, c'est-à-dire, dans quelles cellules est localisée l'oxydase. On observe que chez les mammifères, l'oxydase se trouve dans les neutrophiles, tandis que chez les oiseaux, elle est déjà placée dans les hématies, de façon que la dépression atmosphérique n'y peut provoquer aucune hypereffusion, étant donné qu'il n'y a presque pas d'enzyme dans le leucocyte (18 et 20).

La glycolyse observée chez les mammifères à la suite de l'hypereffusion produite par les dépressions atmosphériques m'a amené à suggérer à la Doctoresse Clotilde Souto Maior de faire la vérification de ce phénomène chez des personnes diabétiques (9). En effet, on verra sur la fig. 9 que hypereffusion et glycémie se correspondent en sens inverse, c'est-à-dire que l'hypereffusion augmente lorsque l'hyperglycémie diminue et vice-versa, en même temps ou peu après.

Tout cet ensemble de faits m'a conduit 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 maximum de pression atmosphérique (à 10 heures et à 22 heures), pour s'intensifier aux deux moments de minimum de pression (à 6 heures et à 18 heures), chaque jour (tableau n° 2).

PREUVE D'HYPEREFFUSION						
<i>Variation suivant l'heure</i>						
(1 heure avant le premier maximum barométrique et 1 heure après le deuxième minimum)						
Date	Heu- re	C. S.	H. K.	E. S.	L. C.	H. M.
30.3.43	9	++	++	+++	+	±
	17	+++	++++	++	++	+
31.3.43	9	++	++	±	++	±
	17	++++	+++	++++	±	+++

Tableau 2.

OXYDASE ET DIABÈTE HYPEREFFUSION - GLYCÉMIE

LÉGENDE

H PREUVE D'HYPEREFFUSION	G GLYCÉMIE
5 = + + +	500 mgs
4 = + +	400 "
3 = +	300 "
2 = ±	200 "
1 = -	100 "

← UNITÉS D'INSULINE ADMINISTRÉES DANS LA SEMAINE

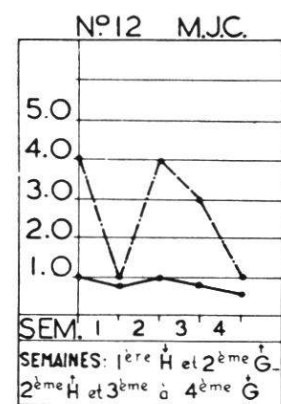
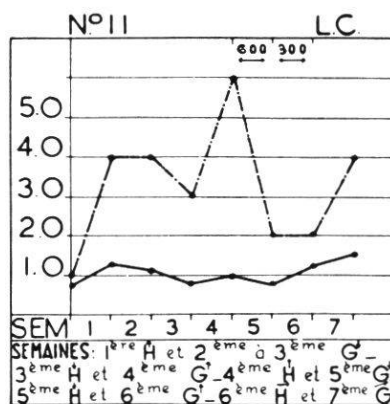
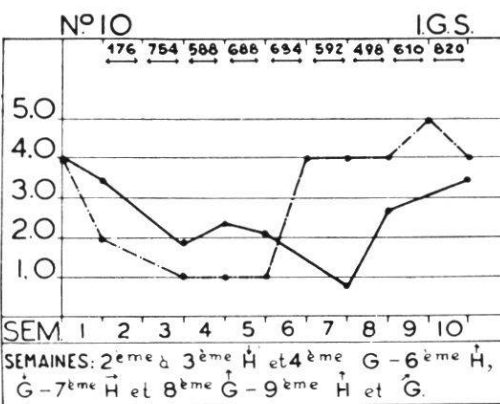
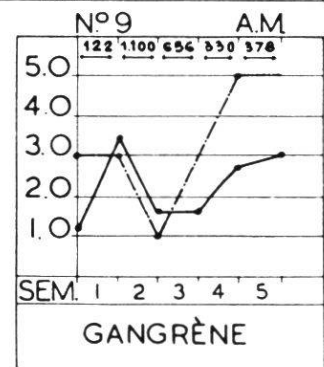
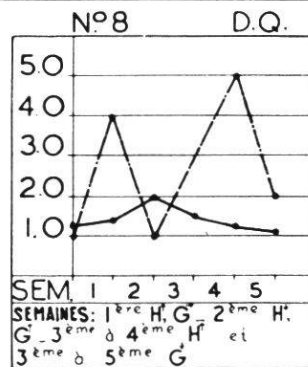
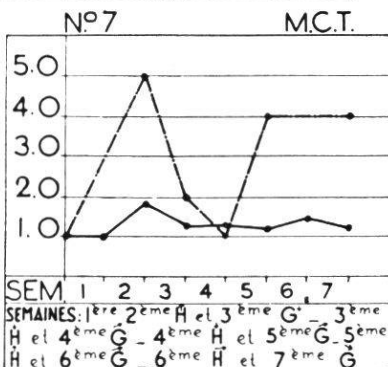
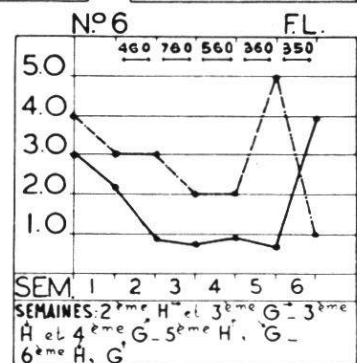
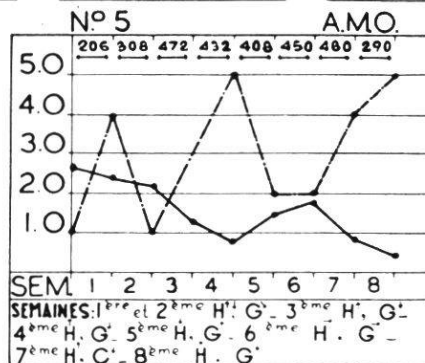
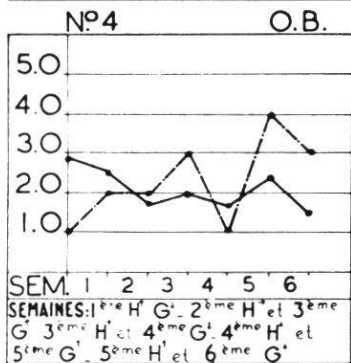
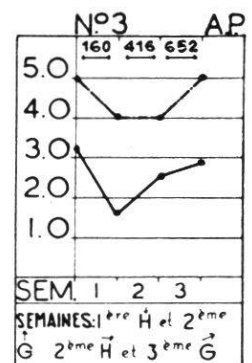
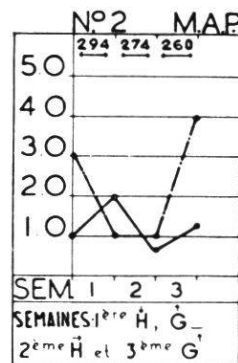
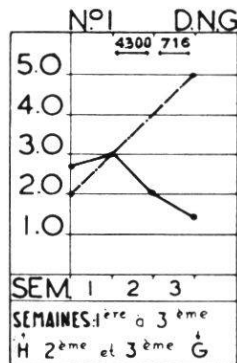


FIG. 9.

A côté de ce rythme dû aux baisses de pression extérieure, les granulations sont périodiquement sujettes à des pressurages, dans les moments du passage du neutrophile par le capillaire. Si nous examinons sur fond obscur le mésentère du rat, avec l'objectif d'immersion (Planche I), nous comprendrons mieux : les capillaires sont plus fins que les hématies et par là beaucoup plus fins que le

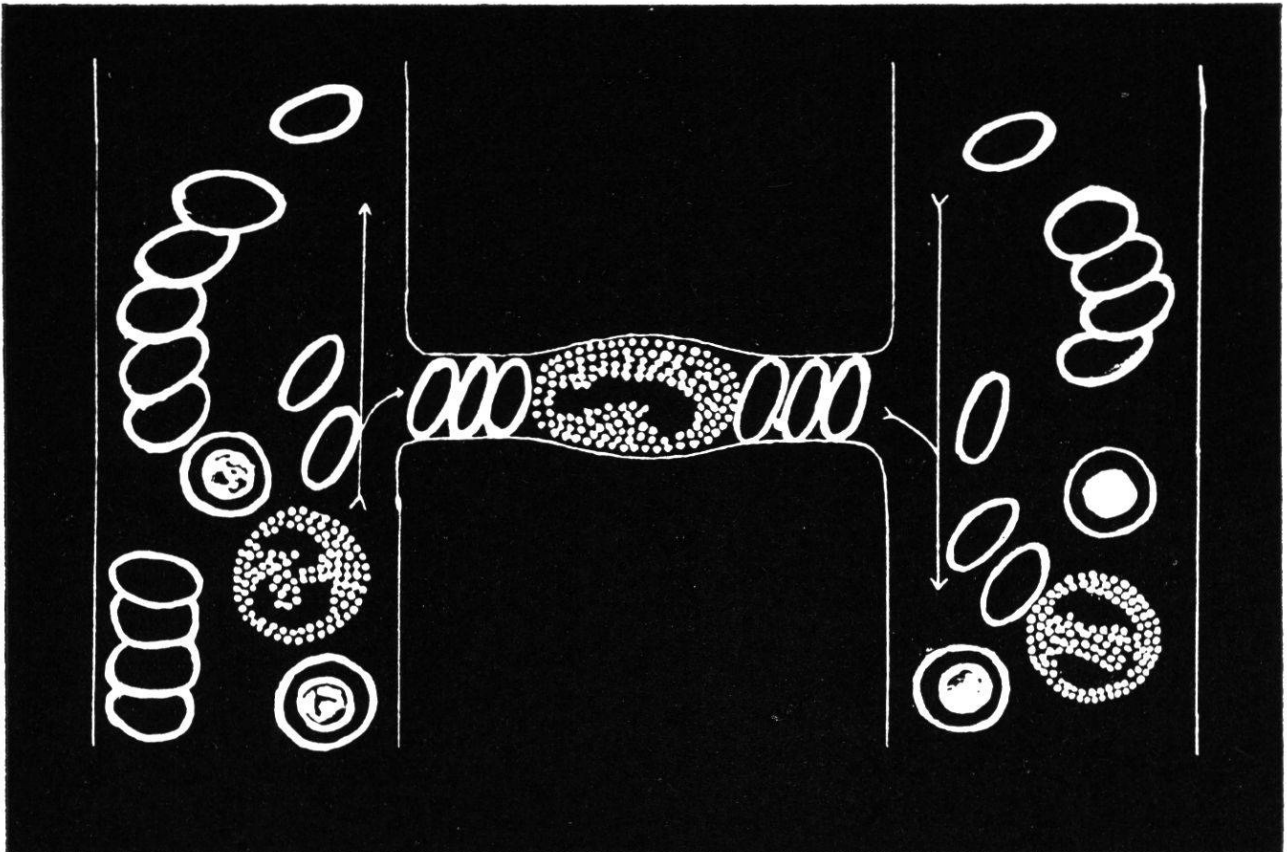


FIG. 10.

neutrophile qui, prenant la forme d'un cylindre, passe écrasé (fig. 10) en laissant naturellement son oxydase dans les hématies qui le poussent ¹.

J'arrive maintenant à ce que j'appelle l'oxydase érythrocytique, c'est-à-dire, l'oxydase qui se rencontre à la périphérie de l'érythrocyte.

Le simple examen des lames permet de concevoir son existence,

¹ C'est peut-être à cause du liquide poisseux que les hématies reçoivent à ce moment-là, à leur surface, qu'elles s'agglutinent en forme de pile de monnaie.

puisque, comme il est mentionné plus haut, quand les lames provenant de personnes différentes sont colorées ensemble, on observe que les hématies prennent un ton légèrement bleuté et d'intensité variée selon les personnes.

Cependant, la preuve de l'existence réelle de l'oxydase érythrocytique peut être obtenue par la préparation d'un champ mi-

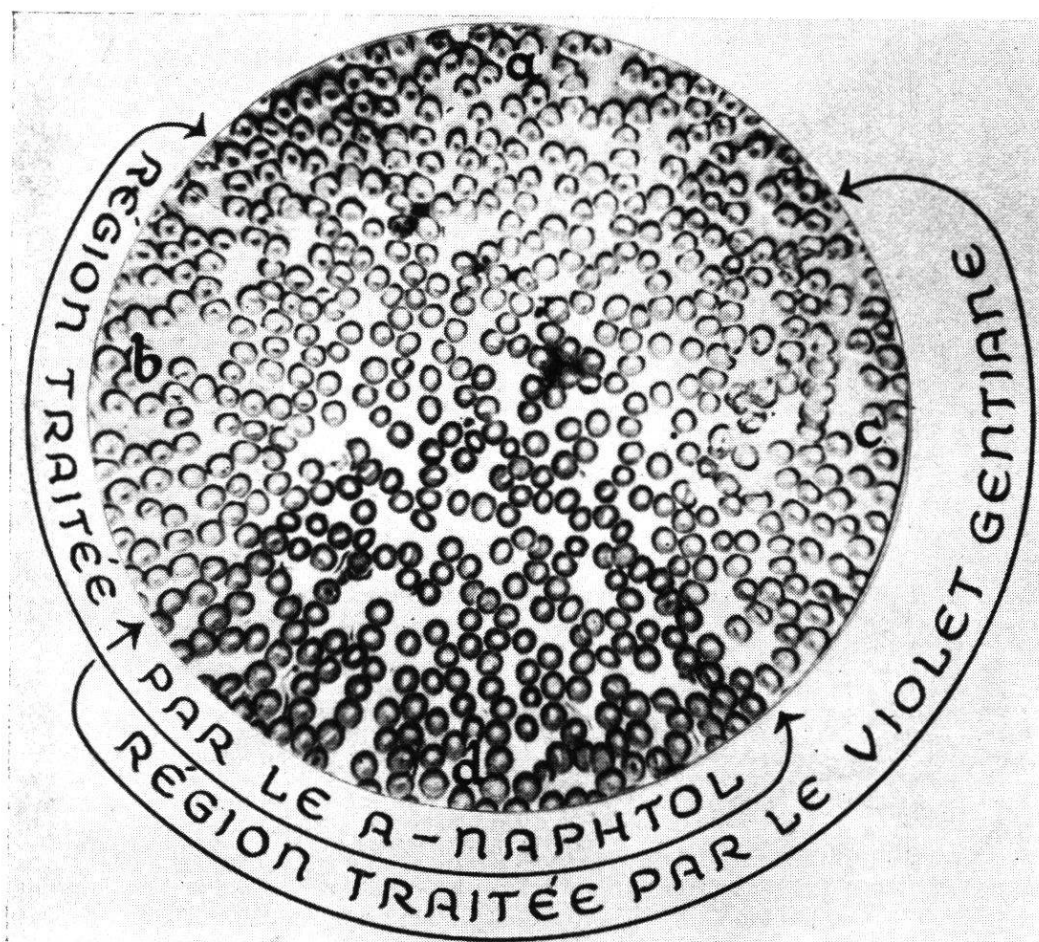


FIG. 11.

croscopique divisé en quatre parties égales, dont deux reçoivent le mordant d'alpha-naphtol, tandis que les deux autres reçoivent ensuite le violet de gentiane (fig. 11).

On obtient ainsi sur un seul champ: *a*) des hématies sans aucun traitement, *b*) des hématies qui ont reçu du mordant seulement, *c*) des hématies traitées par le violet de gentiane, et *d*) des hématies traitées par le mordant et le violet de gentiane. On observera que seules ces dernières (*d*) présentent une différence nette de coloration vis-à-vis des autres; cette différence est encore

intensifiée quand le frottis a d'abord été chauffé à 75°, mais elle disparaît au cas où la chaleur a atteint 100° pour quelque temps.

Pour vérifier si l'oxydase érythrocytique provient du neutrophile, il a fallu démontrer que l'enzyme diminue dans celui-ci quand il augmente dans les globules rouges. Les fig. 4 et 5 donnent déjà une idée dans ce sens, mais pour obtenir une confirmation numérique, il était indispensable de créer aussi un procédé capable de mesurer l'oxydase dans les globules rouges.

Ce procédé, je l'ai trouvé en mesurant par un électrophotomètre la différence de couleur entre les hématies traitées et les autres. Le résultat obtenu exprime en micro-ampères l'oxydase érythrocytique. La technique de coloration et de mensuration est expliquée dans une annexe à ce travail.

Nom	Oxydase érythrocytique	Hémoglobine	Hématies p/mm.
N.V.	50,0	74%	3 700 000
A.T.N.	47,5	86%	4 260 000
I.S.S.	47,5	68%	3 560 000
A.A.	47,0	80%	4 100 000
M.L.S.	45,0	68%	3 595 000
M.S.D.	45,0	40%	2 100 000
L.R.	44,0	76%	3 900 000
D.S.S.	44,0	68%	3 400 000
C.G.S.	44,0	50%	2 580 000
O.M.	43,0	60%	3 150 000
R.A.S.	42,5	84%	4 250 000
A.A.C.	42,5	44%	2 300 000
R.C.S.	42,0	66%	3 395 000

Tableau 3.

Cette valeur s'obtient sans tenir compte de la richesse en globules rouges ou en hémoglobine, comme le démontre le tableau n° 3, où nous rencontrons d'une part, des individus avec 40% d'hémoglobine et 45 d'oxydase, et d'autre part, quelqu'un avec 84% d'hémoglobine et seulement 42,5 d'oxydase érythrocytique.

La même inégalité existe en ce qui concerne le nombre d'hématies, car l'individu le plus riche en oxydase érythrocytique n'est que le cinquième en ce qui concerne les globules rouges.

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

Pendant un mois, l'oxydase érythrocytique a été déterminée chez quelques personnes, tous les jours aux mêmes heures. Pour le résultat, voir fig. 12: on y découvre les mêmes variations quotidiennes qu'aux hypereffusions, c'est-à-dire que, lorsque la pression atmosphérique diminue, l'oxydase érythrocytique augmente. La variation atmosphérique qui appauvrit le leucocyte enrichit le globule rouge. Il est donc logique de dire que l'oxydase provenant du neutrophile se dirige vers l'hématie.

Voici un autre aspect de la matière qui attira mon attention: Nous avons vu (fig. 3) que pour une baisse de pression identique, l'hypereffusion est d'une intensité variable selon les individus plus ou moins stables. D'accord avec ce que j'ai exposé dans un travail précédent, j'ai admis que la stabilité est en relation avec le fonctionnement thyroïdien (17). Il fallait pourtant faire une étude plus approfondie des causes de la maturation des granulations.

Il est connu que les granulations ont des lipides (1). Si nous admettons que ces lipides participent à la composition de l'enveloppe de la granulation, comme c'est le cas chez les bacilles acido-alcool-résistants, nous pouvons supposer que cette enveloppe est affaiblie par la lyse qu'effectue la lipase venue du lymphocyte.

A. P. Seabra m'avait suggéré que, dans ce cas, les granulations des neutrophiles devraient également être colorées par la méthode de Ziehl. Il était difficile de vérifier cette suggestion, étant donné que l'acide les détruit. Cependant, avec une petite altération de la technique de Ziehl¹, il a été possible de démontrer qu'en effet, dans le sang, seules les granulations des neutrophiles sont acido-alcool-résistants.

¹ Voici comment les lames ont été teintées: Fixer la lame aux vapeurs de formol pendant 4 minutes, la tremper ensuite dans la 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.

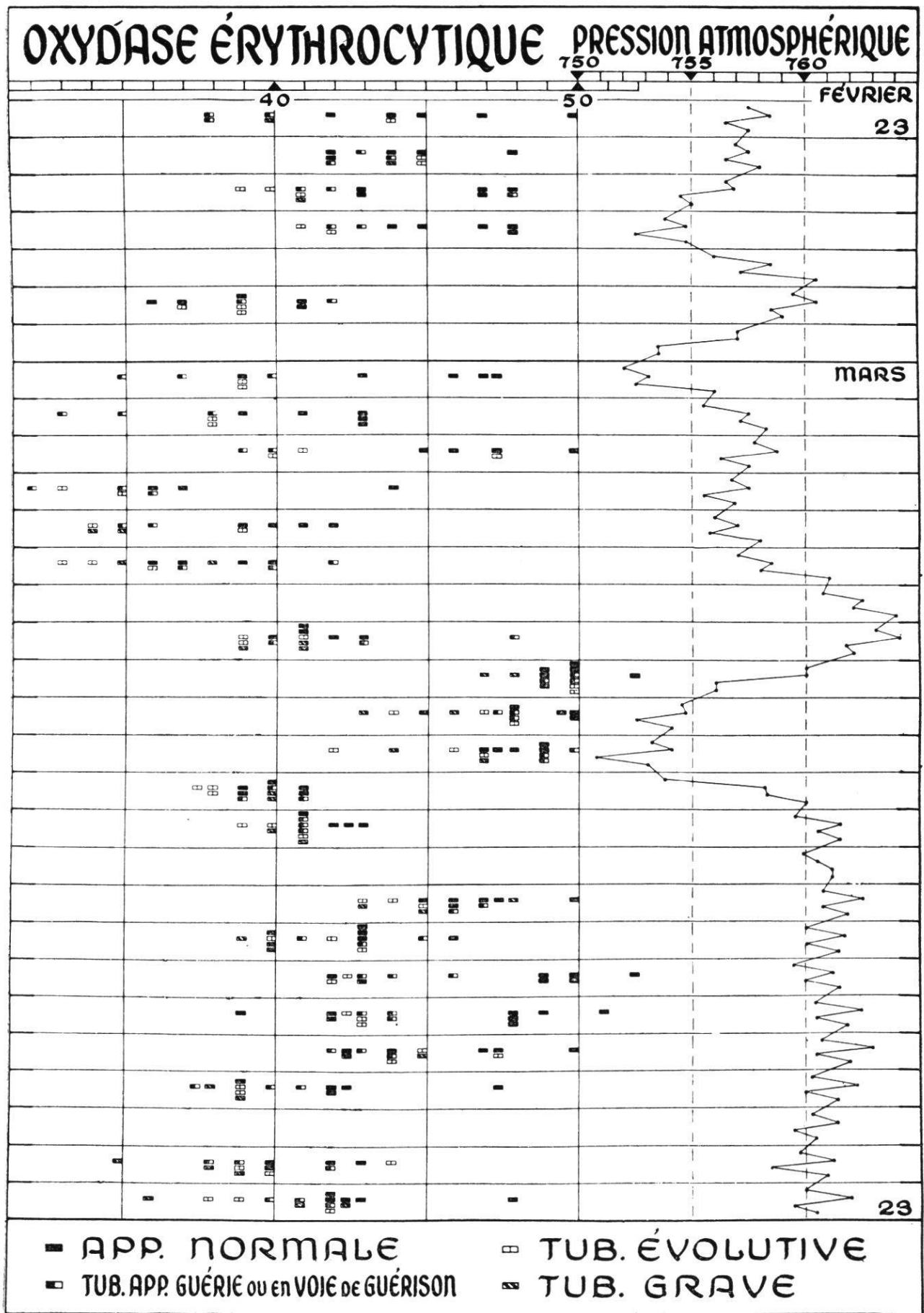


FIG. 12.

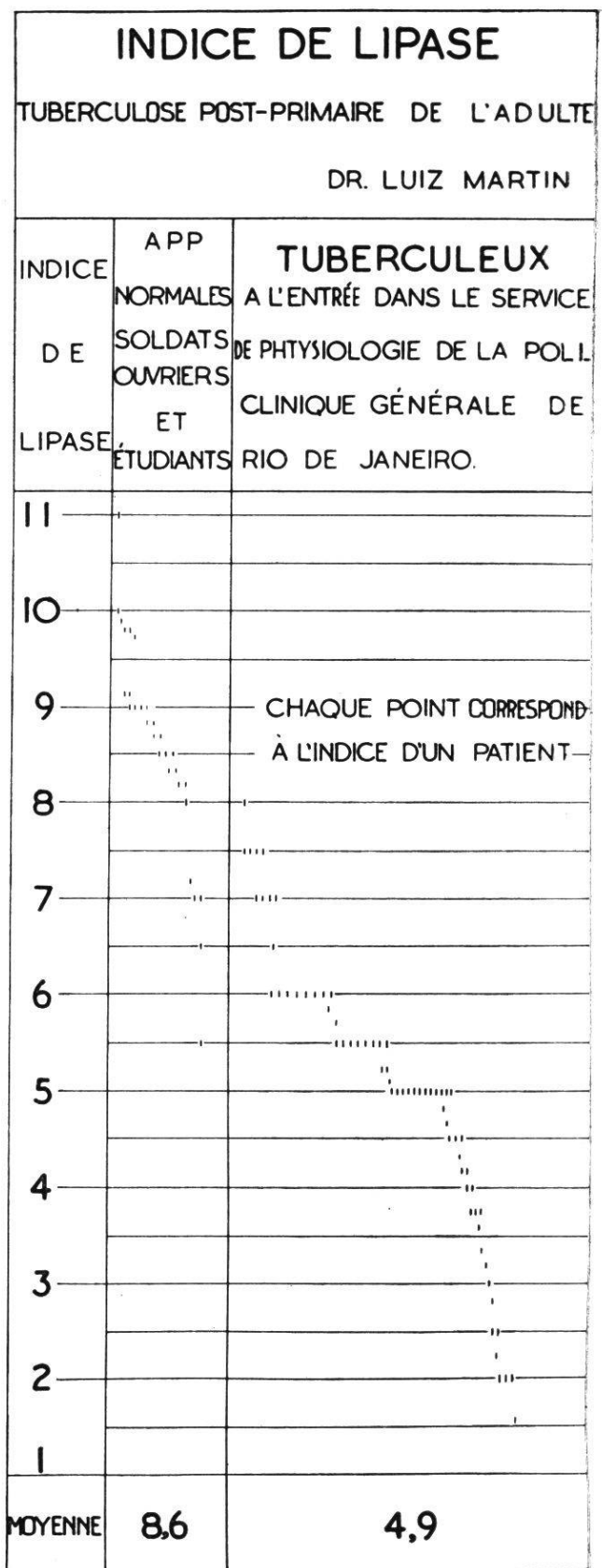
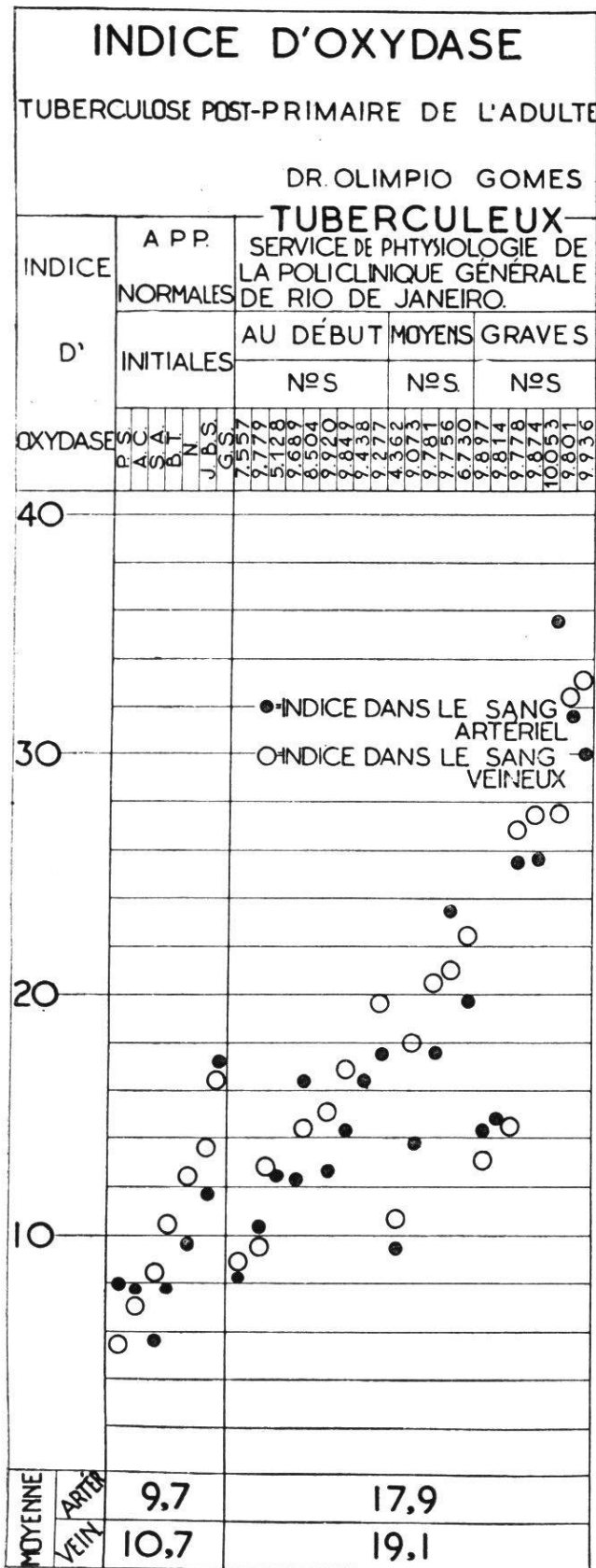


FIG. 13.

Déjà Calmette pensait que les bacilles de la tuberculose produisent une substance qui détruit la lipase du lymphocyte et qu'il appelait « antilécitinase ». (21) Cette substance a été bien démontrée — sous le nom d'« antilipase » — par RYANG (22) et est actuellement appelée généralement « facteur » P (23). C'est pourquoi le sang du tuberculeux est pauvre en lipase, ce qui a été confirmé par une littérature abondante et peut être constaté également sur la fig. 14 de ce travail.

Or, s'il est vrai que la lipase lymphocytaire est un facteur de maturation pour les granulations du neutrophile, on devrait observer un ralentissement de cette maturation chez les tuberculeux. Etant donné que les granulations se brisent moins facilement chez les tuberculeux, ceux-ci, par conséquent, devraient conserver davantage d'oxydase dans leurs neutrophiles. C'est exactement ce que démontre la fig. 13.

En conséquence, le tuberculeux apparaît appauvri en oxydase érythrocytaire, comme le démontre la fig. 12, où les résultats fournis par les individus d'apparence normale se rangent nettement du côté droit du tableau, et ceux des tuberculeux avancés se trouvent en général du côté gauche. D'autres séries d'épreuves ont donné des résultats similaires.

Afin de me rendre compte si la baisse en oxydase dans le globe 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 celle de malades victimes d'un autre bacille acido-alcool-résistant, le bacille de Hansen. Chez les asthmatiques, l'oxydase érythrocytaire était plus élevée qu'à la normale, tandis que chez les lépreux, elle était aussi basse que chez les tuberculeux. Ici reposent, sans doute, des possibilités de diagnostic et de pronostic très importantes, mais pas encore complètement exploitées (23, 24).

La comparaison de ces phénomènes chez les tuberculeux (fig. 13) et chez l'aviateur (fig. 5 et 6) confirme la corrélation physiologique représentée sur la fig. 1.

ANNEXE

Détermination de la valeur de l'oxydase érythrocytique.

Les détails pratiques de la méthode pour la détermination de la valeur de l'oxydase érythrocytique tels qu'ils étaient représentés à Mexico le 23 juillet 1946 n'étaient plus les mêmes que ceux pré-

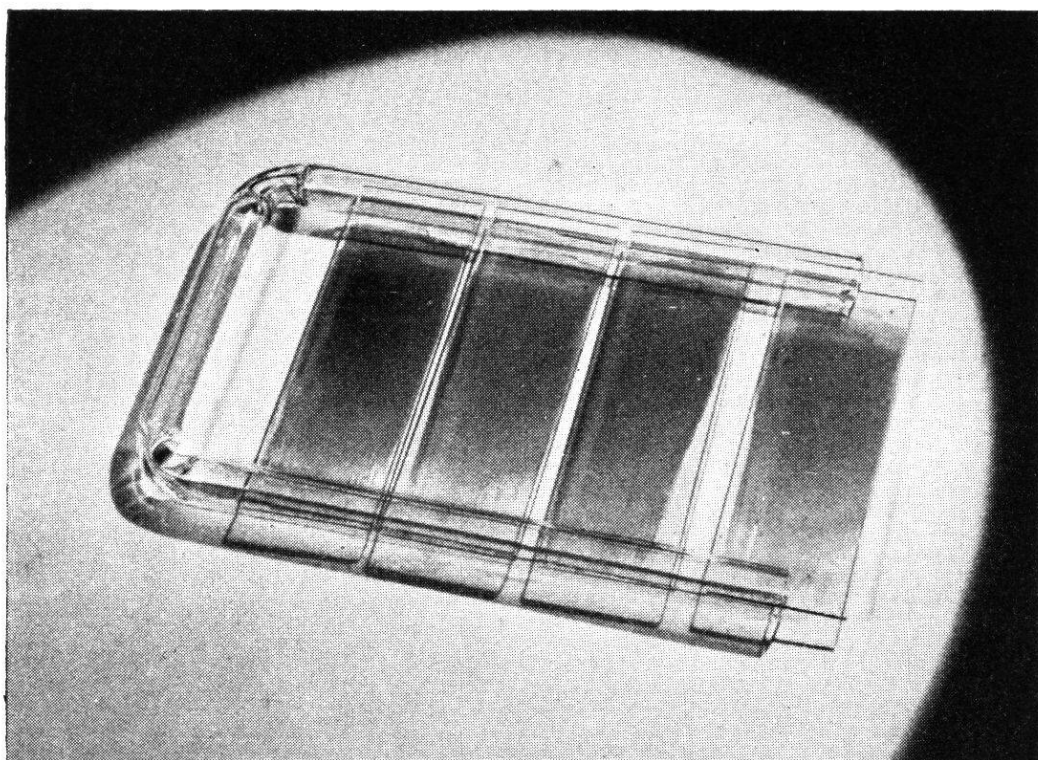


FIG. 14.

sentés à San Francisco le 27 juin 1946. A présent (avril 1948), 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, vu que les chiffres sont purement comparatifs.

Les lames destinées à recevoir les frottis doivent être rigoureusement propres ¹.

¹ Les lames doivent être frottées avec un chiffon mouillé dans de la lessive « Bon-Ami », lavées à l'eau courante et laissées un jour dans un mé-

Le frottis doit commencer plutôt épais pour s'amincir ensuite jusqu'à ne plus exister par manque de sang, comme on le voit sur fig. 14, où quatre lames se trouvent dans les dispositifs actuellement en usage.

Coloration : *a)* fixer les frottis dans 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 dans l'alcool et dans l'eau distillée 1 minute respectivement ; *h)* mettre de suite dans la gentiane ammoniacale¹, dans l'étuve à 37°, pendant 4 heures.

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

L'alcool, le formol, le mordant et la cuvette doivent être mis auparavant dans l'étuve à 37°, pendant 1/2 heure, pour le moins. Les lames sont fixées et séchées dans l'étuve à 37°.

La lecture se fait le lendemain.

Electro-photomètre (fig. 15) : Il est construit de façon à ce que la lumière d'une lampe de 100 Watts *a)*, passe par le condensateur *b)*, soit refroidie au ballon *c)*, réglée par le diaphragme *d)*, filtrée par l'écran en verre coloré *e)*, passe par l'ouverture de 10 mm. de diamètre et tombe sur la lame avec le frottis de sang *f)*, pour être reçue par la cellule photo-électrique *g)*, qui la transforme en électricité, mesurée par le micro-ampèremètre *h)*.

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

Calibrage : Avec le filtre bleu, on illumine un point de la lame qui ne contient pas de sang, diaphragmant de façon à marquer

lange sulfo-chromique. Le lendemain, elles sont lavées à l'eau courante, à l'eau distillée et ensuite essuyées dans un chiffon lavé au savon de Marseille.

¹ La gentiane (0,002⁰/₀₀) ammoniacale s'obtient par la dissolution, sur place, de 1 cc. de la solution utilisée par la méthode de Lœle-Sabra dans 200 cc. d'eau distillée à laquelle on a ajouté 0,22 cc. d'ammoniac (0,925).

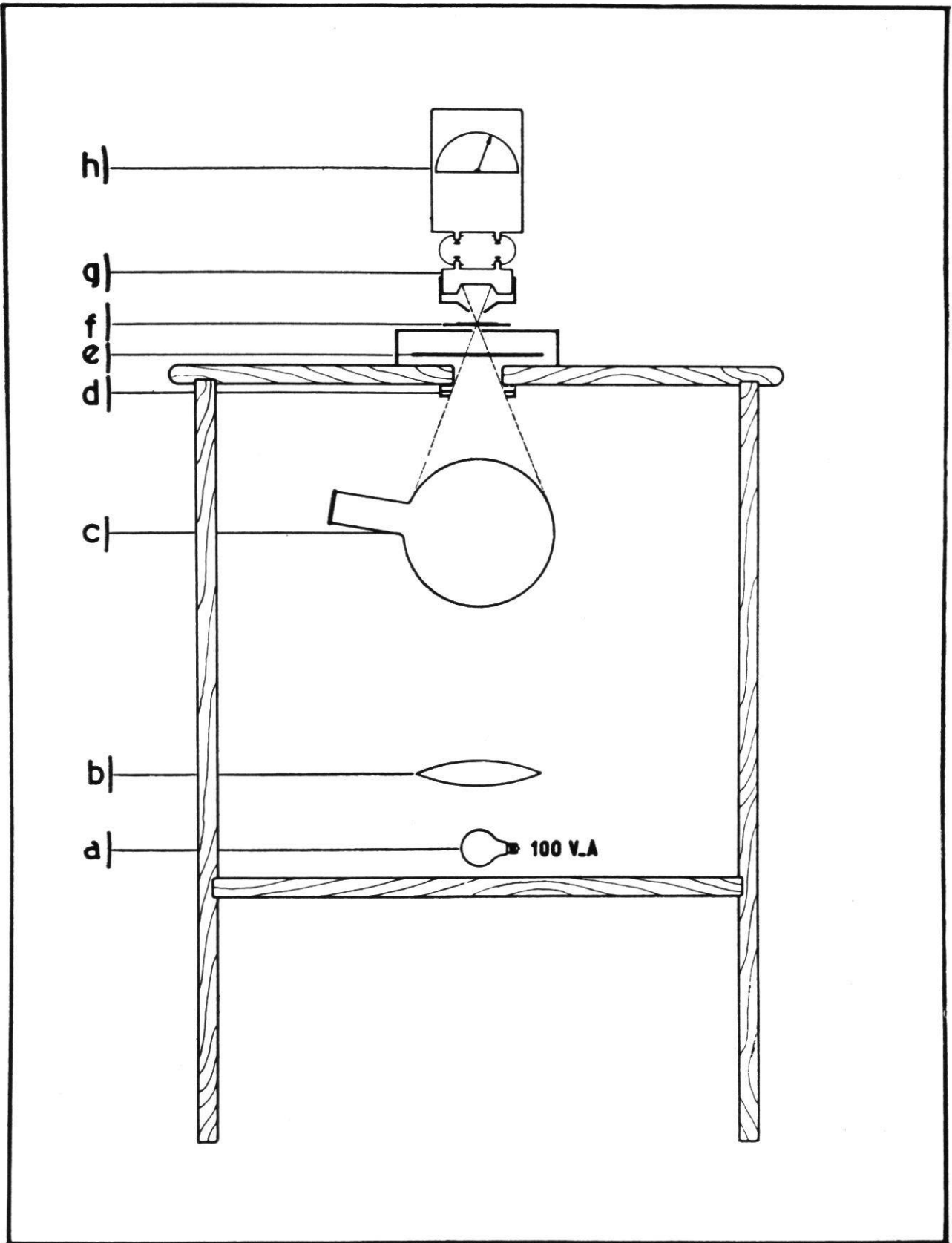


FIG. 15.

50 microampères ; on déplace la lame vers une zone où l'épaisseur du frottis fait tomber l'aiguille à 30. La lecture de toutes les lames est faite avec ce calibre 30, afin d'utiliser toujours la même épaisseur de sang.

Lecture : Sans déplacer la lame, on remplace le filtre bleu par le vert et l'on note le nombre de microampères qui manquent pour faire 150. Par exemple, s'il en manque 35, on dit que l'*oxydase érythrocytique* correspond à 35 microampères.

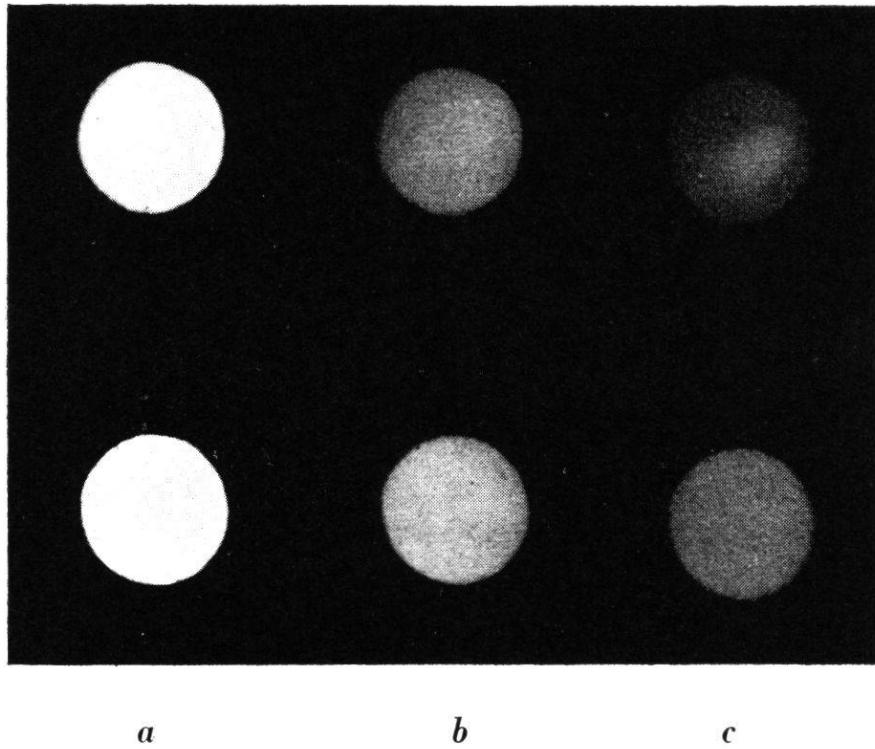


FIG. 16.

A la fig. 16, il y a deux lames éclairées sur des points où elles ont le calibre 30 : *a*) avec le filtre bleu, qui élimine presque complètement la coloration des lames, montrant qu'à ces points-là elles ont la même densité ou opacité ; *b*) sans filtre ; la différence de couleur montre la différence en oxydase érythrocytique ; *c*) cette différence apparaît intensifiée sous le filtre vert qui facilite ainsi la lecture dans l'électrophotomètre. La lame supérieure présente une oxydase érythrocytique correspondant à 52 microampères, et la lame inférieure une oxydase correspondant à 33.

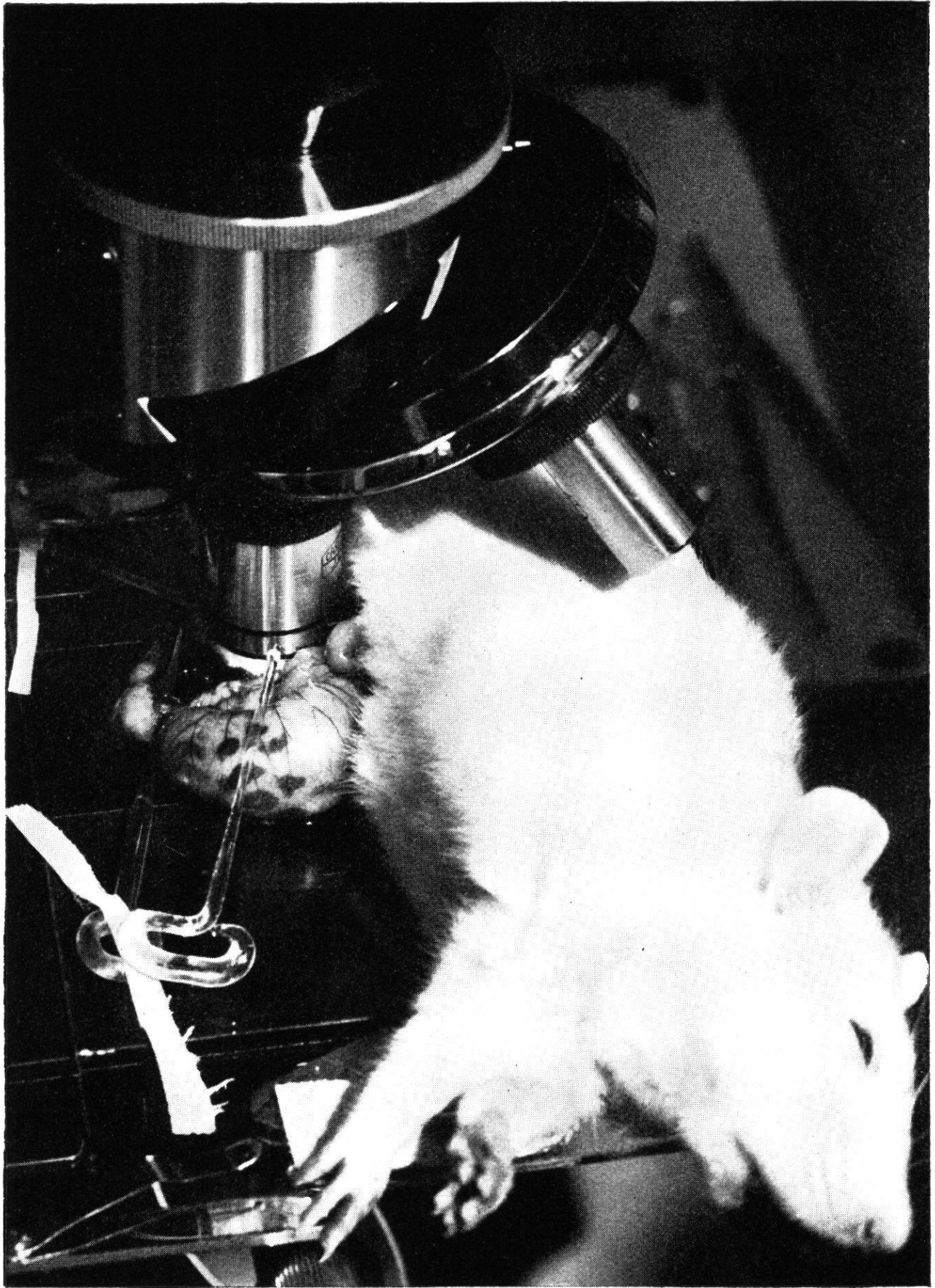


PLANCHE I.

RÉSUMÉ

LOELE avait réussi à trouver une 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 du 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 dépressions atmosphériques. Une telle hypereffusion est observée pendant la montée rapide des avions, ce qui a été confirmé lors de différents vols expérimentaux de la Force Aérienne du Brésil. Ceci est important, étant donné que l'hypereffusion oxydasique a un effet hypoglycémiant.

Le même fait 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 l'homme.

Pour que la granulation oxydasique se brise, il faut que sa membrane soit arrivée à maturité, ce qui est dû en partie à la lipase produite par le lymphocyte. Par conséquent, chez le tuberculeux, pauvre en lipase, le neutrophile apparaît enrichi d'oxydase tandis que l'hématie en est appauvrie.

La méthode électro-photométrique qui permet à l'auteur de doser l'oxydase érythrocytique, est décrite dans l'annexe.

Bibliographie.

- 1) FIESSINGER, NOEL, *Les ferments des leucocytes en physiologie, pathologie et thérapeutique générales*. Paris, Masson, 1923.
- 2) REBUCK, J.-W., *Functions of the Blood Cells*. Am J. Clinical Path., vol. 17, n° 8, août 1947.
- 3) LOELE, W., *Deutsche Med. Wochenschr.*, n° 62, 1936, p. 2004.
- 4) SEABRA, PAULO, *Indice de Oxidase*. Bol. da Acad. Nac. de Med., n° 3, 1939, p. 9.

- 5) PESSANHA, J.-J. et LINS FILHO, W., *Indice de Oxidase Seabra no Diabetes Mellitus*. Imprensa Medica, nº 18, 1942, p. 343.
 - 6) COELHO, O. et LINS FILHO, W., *Indice de Oxidase Seabra na Eisiologia do Voo de Altitude*. Imprensa Médica, nº 19, 1943, p. 360.
 - 7) ECHAVE, DIONISIO, *Relação entre o Indice de Oxidase Seabra e a Cupremia Normal e Patológica*. Imprensa Médica, nº 20, 1944, p. 363.
 - 8) LINS FILHO, W. et MAGALHAES PRADO, M. DE, *Indice de Oxidase Seabra no trabalho mental*. O Hospital, nº 27, 1945, p. 4.
 - 9) SOUTO MAIOR, CLOTILDE, *Oxidase and Diabetes*. Medical Times, nº 7, 1946 (juillet), p. 74.
 - 10) LINS FILHO, W. et PESSANHA, J.J., *Indice de Oxidase Seabra no Hiper-tiroidismo*. Medicina, Cirurgia e Farmácia, nº 120, 1946 (avril).
 - 11) GOMES, O., *Indice de Oxidase Seabra na Tuberculose Post-primária do Adulto*. Rev. Bras. de Tuberculose, nº 11, 1942, p. 84.
 - 12) PESSANHA, J.J. et LINS FILHO, W., *Oxidase e Cancer*. Imprensa Médica, nº 23, 1947 (août), p. 404.
 - 13) LINS FILHO, W. et SIQUEIRA DELDUQUE, PERCY DE, *Oxidase e Manipulação crónica de Gasolina de Aviação*. A Patologia Geral, nº 32, 1947 (nov.-déc.), p. 11.
 - 14) CHAUFFARD, A., *Les ferments des Leucocytes*, Préface (voir 1, ci-dessus).
 - 15) THOMAS, PIERRE, *Manuel de Biochimie*. Paris, 1936, p. 195.
 - 16) OPPENHEIMER, CARL, *Die Fermente und ihre Wirkungen*. 5^e éd. Leipzig, tome I, p. 59.
 - 17) SEABRA, PAULO, *Oxidase in Biology and in Flying Research*. Medical Times, 1943 (décembre).
 - 18) SEABRA, PAULO, *Oxidase and Aviation*. Medical Times, 1946 (juin).
 - 19) SOFFER, L. J. et WINTROBE, M.M., *The Metabolism of Leucocytes from Normal and Leukemic Blood*. Journ. Clin. Investig, nº 11, 1932, p. 661.
 - 20) SEABRA, PAULO, *Oxidase and Aviation. Influence of Atmospheric Decompression on the Blood Oxidase and Resistance to Infection*. Journ. of Aviation Med., nº 18, 1947 (juin), p. 3.
 - 21) CALMETTE, A., apud Middlebrook (voir 23, ci-dessous).
 - 22) RYANG, CHINHONG, *Über einige Beziehungen zwischen Lipase und Tuberculose*. Inaugural-Diss., Freiburg i. Br., 1933.
 - 23) MIDDLEBROOK, G., *Pathogenic Components of the Tubercle Bacillus*. Amer. Rev. Tuberc., nº 51, 1945, p. 244.
 - 24) SEABRA, PAULO, *Oxidase and Tuberculosis. Physiopathologic Meaning and Possibilities for the Diagnosis of Infections by Acid-Fast Bacilli*. Diseases of the Chest, 1946 (nov.-déc.).
 - 25) MESQUITA, A. PETRARCA DE, *Seabra's Photo-Oxidasic Test in Leprosy*. Medical Times, 1948 (février).
-