

Étude quantitative
par microélectrophorèse sur papier
de sérums de Chiens normaux et de sérums vieillis

par P. GROULADE
(Orsay)

J. GROULADE et B. DRUFOVKA
(Grenoble)

(note présentée par M. DRIEUX)

Dans un précédent travail (4), nous avons fait l'étude de sérums de chiens normaux âgés de 2 ans en moyenne. Il nous a paru intéressant d'examiner les variations que le fractionnement électrophorétique pouvait mettre en évidence dans le sérum de chiens d'âge, variés.

TECHNIQUE

Les bandes de papier Schleicher et Schull n° 2043 a, ou Whatmann n° 1, sont tendues horizontalement entre deux cuves de tampon au véronal à pH 8,6 et de force ionique 0,1. Après coloration à l'Amidoschwartz 10 B, la bande rendue transparente est passée dans un électrophotomètre donnant, millimètre par millimètre, la densité optique des taches selon la technique de GRASSMANN, HANNIG et KNEDEL (3). La courbe ainsi obtenue est planimétrée et les différentes fractions délimitées par la méthode des parallèles sont exprimées en pourcentage ou en poids.

Le taux des protéines totales est déterminé par la méthode densitométrique de PHILIPS et VAN SLYKE, technique de G. DUCHATEAU (1).

Nous avons distingué, d'une part, le groupe des albumines où il ne nous a pas été possible de retrouver les fractions A₁ et A₂, décrites par POLSON et MALHERBE (7); d'autre part, trois groupes de globulines :

1° Le groupe *Alpha* qu'il est quelquefois possible de subdi-

viser en trois fractions mais le plus souvent en *Alpha*₁ et *Alpha*₂ seulement.

2° Le groupe *Bêta* qui peut être scindé en deux fractions, *Bêta*₁ et *Bêta*₂ (ces fractions migrent en formant deux taches dont les maxima sont près l'un de l'autre).

3° Les globulines *Gamma* qui nous ont donné toujours une tache homogène.

Il nous avait déjà semblé que les mobilités des fractions électrophorétiques du sérum de chiens étaient assez différentes de celles des fractions homologues chez l'Homme.

Dans le tableau ci-après, nous comparons les mobilités établies sur un de nos sérums à ceux de COHN, cité par P. GRABAR, sur le plasma humain (2).

	A	ALPHA	BÊTA	GAMMA
Homme	5,1	3,8	2,7	0,9
Chien	5,5	3,75	1,83	0,75

Ces chiffres ont été obtenus selon la technique classique de TISELIUS, en milieu liquide dans des conditions expérimentales à peu près identiques. Les chiffres sont exprimés en : centimètres carrés/Volt sec. 10 (a).

Nous avons pu constater qualitativement les mêmes différences par électrophorèse sur papier. Elles sont plus accentuées encore mais ceci peut être dû au tampon véronal employé (pH 8,6).

RÉSULTATS

1° Sérums normaux frais.

Nous avons examiné les sérums conservés à 4° C, pendant un délai inférieur à 10 jours, provenant de 38 sujets : 14 de 3 à 6 mois, 14 de 6 mois à 2 ans, 5 de 2 ans à 8 ans, et 5 au-dessus de 8 ans.

Ces animaux n'ont présenté, dans les deux mois qui ont précédé et le mois qui a suivi l'examen, aucun signe d'affection aiguë ou chronique; les sujets âgés de plus de 8 ans avaient un taux d'urée inférieur à 0,60 g.

Les moyennes obtenues sont reproduites en pourcentage et en poids dans le tableau ci-après; le graphique de la page suivante a été réalisé avec les poids.

(a) Nous tenons à remercier M. P. GRABAR, chef de service à l'Institut Pasteur, et Mlle CRISTOL, qui ont déterminé les mobilités électrophorétiques.

On peut distinguer, d'après les données en poids dans la vie du Chien, trois périodes :

1° *Première période* : de la naissance à 2 ans, caractérisée par une ascension très nette de l'albumine correspondant à

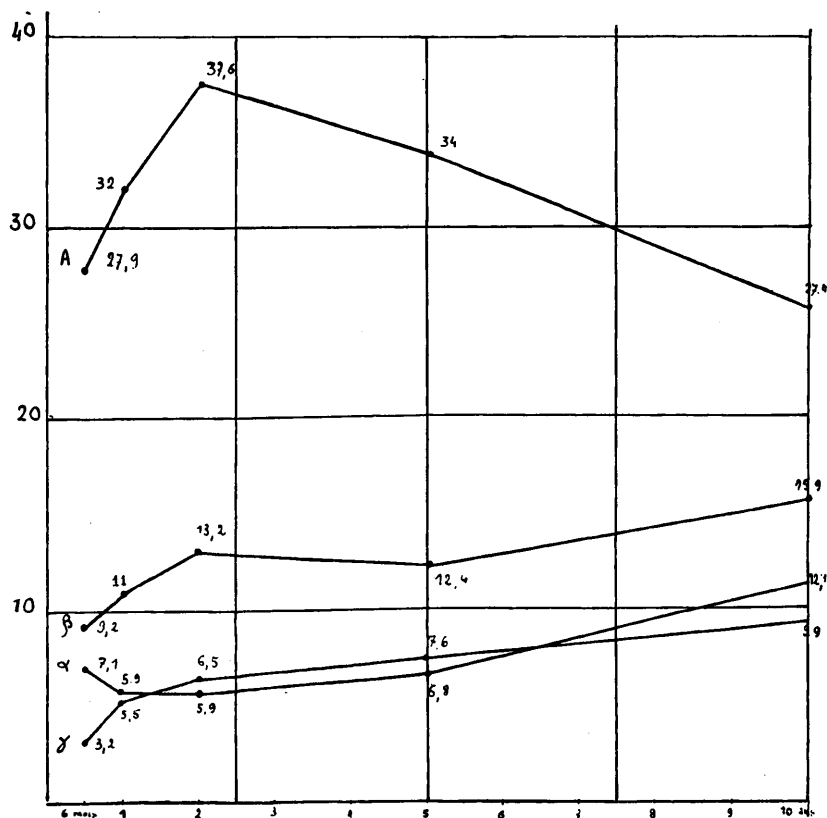
	A	α_1	α_2	β_1	β_2	γ	PROTÉINES
3 à 6 mois ..	57,9	6,4	8,2	8,6	10,1	6,6	49
%		14,6		18,7			A/G 1,38
Poids	27,9	7,1		9,2		3,2	
6 à 12 mois .	58,1	4,40	6,4	8,4	11,6	10,2	55
%		10,8		20			A/G 1,38
Poids	32	5,9		11		5,5	
2 ans	59,8	2,9	6,5	8,7	12,3	10,4	63,3
%		9,4		21			A/G 1,49
Poids	37,6	5,9		13,2		6,5	
3 à 8 ans....	55,2	4,5	6,8	7,9	12,3	12,3	62,5
%		11,3		20,2			A/G 1,23
Poids	34	6,8		12,4		7,6	
Au-dessus 8 ans	41,8	6,6	11,9	10,9	13,4	15,2	65,5
%		18,5		24,3			A/G 0,72
Poids	27,4	12,1		15,9		9,9	

l'accroissement des substances de réserves, une chute des globulines *Alpha*₂ surtout nette dans la première année, une augmentation des globulines *Bêta* et *Gamma*, cette dernière plus nette dans la première année.

2° *Deuxième période* : période de stabilisation de 2 à 8 ans, caractérisée par une chute légère des albumines, une augmentation légère des globulines à l'exception des *Bêta*.

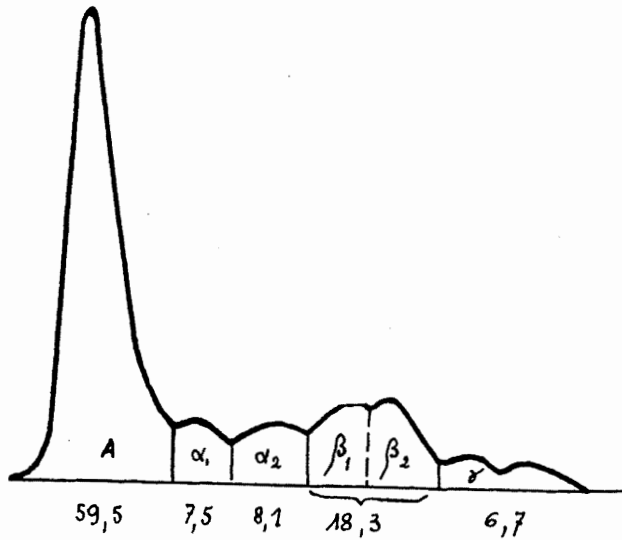
3° *Troisième période* : au-dessus de 8 ans, caractérisée par une chute très nette des albumines, une augmentation de toutes les globulines mais surtout *Alpha₂* et *Bêta*.

L'augmentation des *Gamma-globulines* avec l'âge a été mise en évidence par POISON, cité par GRABAR (2), chez le Cheval, les albumines diminuant jusqu'à 2 ans. J. de MENDE (5) a trouvé chez l'Homme normal des variations du même ordre que les nôtres.

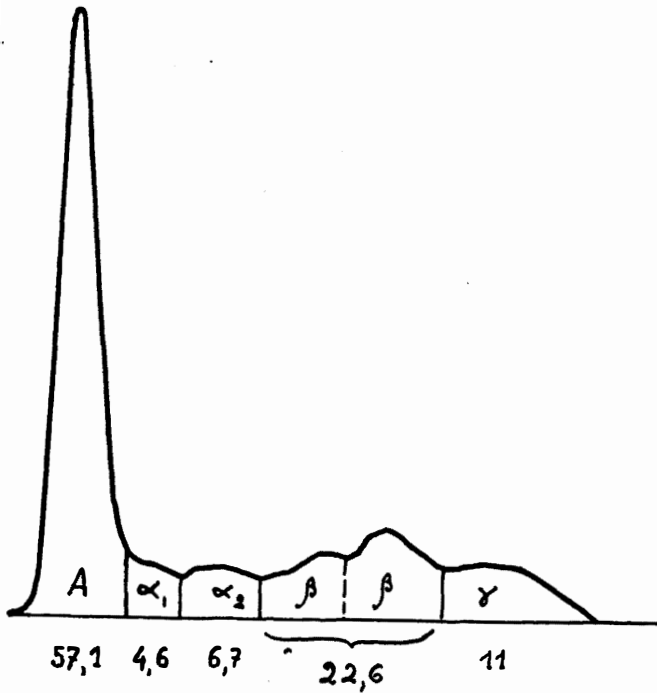


Les trois périodes, mises en évidence par les variations des fractions électrophorétiques du sérum, chez le Chien, correspondent aux périodes physiologiques de la vie de cet animal :

a) *La croissance*, caractérisée par l'élévation progressive des



N° 10. — Chien de 5 mois. Fraction albumine élevée mais protéinémie = 47 g/l, fraction *Gamma* très peu importante. A/G = 1,45.

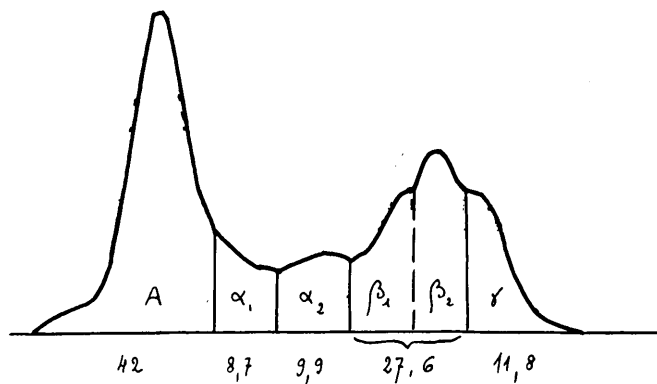


N° 415. — Chien de 2 ans. Fractions albumines élevées, comme pour le n° 10, mais avec des *Gamma*-globulines beaucoup plus importantes. Protéines totales : 64 g/l. A/G = 1,36.

substances de réserve, pendant laquelle les phénomènes anaboliques dominent.

b) *L'âge adulte*, où la stabilité exprime l'équilibre des processus métaboliques.

c) *La vieillesse* enfin, où les processus cataboliques dominent (diminution des substances de réserves = chute des albumines). Les globulines *Alpha* assurent le transport des déchets; on les voit augmentées pathologiquement chaque fois qu'un processus d'histolyse atteint l'organisme.



N° 486. — Chien de 15 ans. Diminution des albumines, importance des fractions globulines surtout Bêta et Gamma. Protéines totales : 60 g/l. A/G = 0,7. Urée : 0,39.

L'accroissement des globulines *Bêta* traduit, peut-être, le degré de surcharge et de dégénérescence grasseuse des cellules conjonctives (tendance à l'embonpoint) ou de cellules plus spécialisées comme celles de la moelle osseuse par exemple.

Enfin, les globulines *Gamma* sont le reflet de l'activité du tissu conjonctif (dégénérescence scléreuse des tissus nobles).

2° Sérums vieilliss.

6 sérums ont été conservés stérilement en flacons hermétiques, à + 4° C pendant : 2 mois (3 échantillons); 3 mois 2 échantillons); 4 mois (1 échantillon).

La moyenne des protéines totales est passée de 56,5 à 59 (détermination densitométrique). Dans le tableau ci-dessous, les chiffres sont exprimés en poids.

	ALBU- MINE	ALPHA	BETA	GAMMA	A/G
Récents	40,5	18,7	26	14,6	0,690
Après 2 mois	40,2	19	23,4	17,3	0,673
Variation	— 0,3	+ 0,3	— 2,6	+ 2,7	— 0,017
Récents	55,5	8,9	22,4	12,25	1,375
Après 3 mois	53,5	13,6	20,15	12,60	1,26
Variation	— 2	+ 4,7	— 2,25	+ 0,35	— 0,115
Récents	— 61,3	9,6	20,3	8,8	1,58
Après 4 mois	55,7	11,15	16,25	15,9	1,30
Variation	— 4,6	+ 1,55	— 4,05	+ 7,1	— 0,28

Les globulines *Bêta* diminuent comme les albumines; mais on sait que les sérums, lors de leur conservation aseptique, perdent des fractions lipidiques qui précipitent [POLONOVSKI (6)], or les deux fractions les plus riches en lipides sont les albumines et les *Bêta*-globulines.

La mobilité des fractions protéiques ainsi libérées des lipides diminuerait peut-être et ces fractions migreraient alors avec les fractions immédiatement plus lentes (*Alpha* pour les albumines, *Gamma* pour les *Bêta*-globulines). Ceci ressort qualitativement de l'examen du tableau. Le désaccord quantitatif peut venir du petit nombre d'échantillons examinés ajouté à la précision insuffisante de la méthode employée.

BIBLIOGRAPHIE

1. DUCHATEAU (G.). — *Actualités biochimiques*, n° 4. Masson, Paris, 1-25, 1946.
2. GRABAR (P.). — *Les globulines du sérum sanguin*. Masson, Paris, 1947.
3. GRASSMAN (W.), HANNIG (R.), KNEDEL (M.). — *Deutsche Med. Wschr.*, **76**, 333, 1951.
4. GROULADE (P.) et GROULADE (J.). — *Annales de l'Institut Pasteur*, **85**, 508, 1953.
5. DE MENDE in LAYANI (F.), BENGUI (A.), DE MENDE (S.). — *Semaine des Hôpitaux*, **28**, 3221-3230, 1952.
6. POLONOVSKI (J.). — *Ann. Biol. Clin.*, **7**, 389-406, 1949.
7. POLSON (A.) et MALHERBE (W.-D.). — *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, **25**, 13, 1952.

Discussion

M. SIMONNET. — Je voudrais savoir si les auteurs ont dosé les protéines totales. Est-ce que les protéines totales varient suivant l'âge ? C'est cela qui aurait été intéressant à préciser.

M. DRIEUX. — Je n'ai pas de tableau qui indique de résultats quelconques à ce sujet.

M. SIMONNET. — Ce qui aurait été intéressant aussi c'est de connaître la dispersion dans chaque groupe de protéines. Les résultats sont assez groupés, mais il faudrait être sûr qu'ils ne proviennent pas d'une interprétation heureuse.

M. DRIEUX. — Le tableau joint à la communication résume l'ensemble des résultats.

M. SIMONNET. — Pour ce qui est de la conservation, je pense qu'une durée de deux mois est une conservation qui n'a plus rien à voir avec l'examen proprement dit; une conservation de deux mois modifie certainement l'équilibre des protéines. Il aurait été intéressant de savoir si, au bout de deux jours, ou huit jours, dans les conditions normales du prélèvement, on pouvait avoir un résultat convenable. Mais je suis très heureux de voir qu'on arrive à un résultat cohérent.

Quel appareil les auteurs ont-ils pris ?

M. DRIEUX. — Ils ne donnent pas l'indication sur l'appareil; ils emploient des papiers Wattmann ou Schleicher. Je sais qu'il existe des appareils de marques très différentes et que la comparaison entre les résultats, pour un même sérum donné, par différents appareils, donne quelques variantes. Mais je présume que les auteurs ont utilisé un appareil de leur fabrication; c'est très possible. En tout cas, il n'est pas tellement difficile de fabriquer un appareil à électrophorèse sur papier.
