

by the authors in rats and mice. If injected subcutaneously, both homologous and heterologous serum proteins were stored to the same extent at the site of the injection by the histiocytes of the connective tissue.

After smearing the skin with histamine or after subcutaneous injection of histamine, intensive storage of protein occurs locally in the histiocytes. Because of the effect of histamine increasing permeability, these cells accumulate in their body the plasma proteins abundantly escaping from the blood stream.

Even under physiological conditions, plasma proteins are constantly taken up and destroyed by the reticulo-endothelial cells and this function has a fundamental biological importance.

Influence du lavage des hématies de l'animal intoxiqué par le Phosgène sur la courbe de saturation de l'hémoglobine en oxygène

Dans un travail antérieur sur les modifications de la fonction respiratoire du sang au cours de l'œdème pulmonaire causé par le Phosgène, CORDIER et FRANÇAIS¹ ont montré que les hématies des animaux intoxiqués avaient une affinité pour l'oxygène plus faible que celle des hématies des animaux mourant d'anoxie progressive.

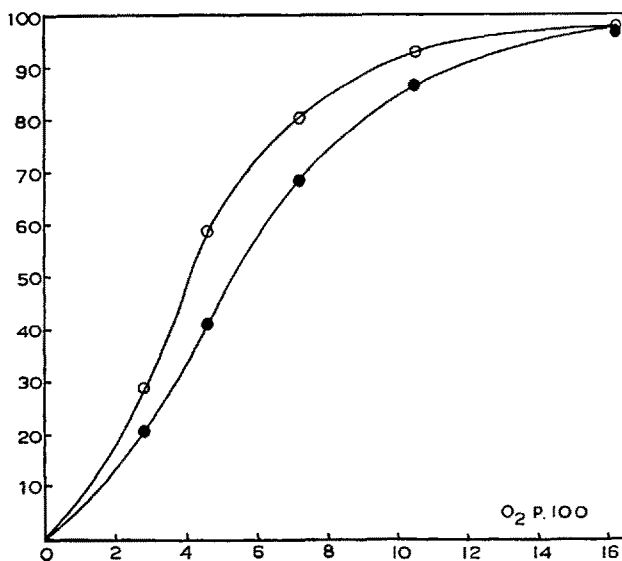
Ce trouble est causé par plusieurs facteurs (D. CORDIER et G. CORDIER²):

- 1° l'acidose résultant de l'anoxie et de la résorption des produits de désintégration tissulaire;
- 2° la mobilisation d'hématies spléniques;
- 3° l'action primitive ou secondaire de substances toxiques libérées au niveau de la lésion et modifiant l'affinité des hématies pour l'oxygène.

Nous avons récemment montré³ que les acides organiques éthero-solubles totaux s'accumulent dans les hématies au cours de l'intoxication pouvaient être éliminés hors des globules rouges par plusieurs lavages avec du sérum artificiel. Ces résultats nous ont conduit à rechercher si l'élimination de ces acides (et peut-être d'autres facteurs) par lavages était susceptible de rendre aux hématies leur affinité normale pour l'oxygène.

Méthodes utilisées. Les expériences ont été réalisées chez des chiens anesthésiés au chloralose et intoxiqués par le Phosgène en utilisant les méthodes décrites dans des travaux antérieurs¹. Les hématies, séparées par centrifugation à partir du sang normal et pathologique, ont été lavées trois fois avec du sérum artificiel spécial³, porté à 37°C. La concentration globulaire dans les échantillons destinés aux analyses a été gardée aussi voisine que possible de celle du sang normal. Nous avons insisté sur la nécessité de cette opération dans d'autres travaux⁴. Les courbes de saturation de l'hémoglobine en oxygène ont été établies en suivant les techniques utilisées dans nos recherches précédentes⁵. Les acides organiques éthero-solubles totaux des hématies et du sérum ont été dosés par la méthode d'ORSKOV⁶.

Résultats obtenus. Dans un premier temps, nous avons contrôlé que le lavage des hématies des animaux normaux et intoxiqués extrait à peu près complètement les acides organiques éthero-solubles totaux (confirmation de notre travail antérieur¹).



Courbes de saturation de l'hémoglobine en oxygène des hématies de l'animal normal et intoxiqué, après lavage des globules rouges avec du sérum artificiel. En abscisses: Tension partielle de l'oxygène dans les tonomètres (en % d'une atmosphère.) – En ordonnées: Pourcentage de saturation de l'hémoglobine. Courbe supérieure (○): Hématies de l'animal normal, après lavages. Courbe inférieure (●): Hématies de l'animal intoxiqué, après lavages.

Avec ces globules rouges lavés, l'étude comparative des courbes de saturation en oxygène de l'hémoglobine des hématies avant et après l'intoxication montre que cette dernière courbe est nettement déplacée à droite de la première. La figure ci-jointe indique les résultats d'une des six expériences réalisées. Dans tous les cas, nous avons observé que les hématies de l'animal intoxiqué par le Phosgène montrent, après extraction des acides organiques éthero-solubles totaux, une affinité moindre pour l'oxygène que les hématies normales.

D. CORDIER et G. CORDIER

Laboratoire de physiologie générale, Faculté des sciences, Université de Lyon, le 15 février 1954.

Summary

The washout of the red blood corpuscles of the dog poisoned by Phosgene, with special saline, clears away all the ether-soluble organic acids accumulated in the corpuscles during the poisoning. The elimination of these acids does not restore the normal affinity of the red blood corpuscles for oxygen and the oxygen dissociation curve of hemoglobin is shifted to the right.

¹ D. CORDIER et G. CORDIER, C. r. Soc. Biol. 157, 814 (1953).

² D. CORDIER et J. FRANÇAIS, Ann. Physiol. Physic. Chim. Biol. 15, 339 (1939).

³ D. CORDIER et G. CORDIER, C. r. Soc. Biol. 152, 93 (1948); 152, 98 (1948).

⁴ D. CORDIER et G. CORDIER, C. r. Soc. Biol. 157, 814 (1953).

⁵ D. CORDIER et J. FRANÇAIS, Ann. Physiol. Physic. Chim. Biol. 14, 773, 778 (1938).

⁶ S. ORSKOV, Biochem. Z. 201, 22 (1928); 219, 409 (1930); Skand. Arch. Physiol. 63, 255 (1931).

Recherches sur la fraction Y des protéines de muscles de Lapin

Le gradient Y de DUBUISSON¹ est observable sur les protéinogrammes électrophorétiques d'extraits de mus-

¹ M. DUBUISSON, Biochim. biophys. Acta 5, 489 (1950).

cles de Lapin, préparés au moyen de solutions d'extraction de force ionique $\geq 0,5$. Il correspond à une fraction protéinique, isolée par l'auteur, soluble à faible force ionique (μ 0,05), mais insoluble dans l'eau distillée. La méthode d'isolement consistait à isoler, de l'extrait total, une fraction précipitant à 35 % de saturation en $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, contenant la protéine Y et de l'actomyosine, puis en dialysant ce mélange contre une solution de $\mu = 0,05$ (0,016 m Na_2HPO_4 – 0,002 m NaH_2PO_4): la protéine Y reste en solution, tandis que l'actomyosine précipite.

Cette méthode présente des difficultés: souvent après dialyse, l'analyse électrophorétique montre, qu'en plus de la protéine Y, il subsiste le plus souvent une certaine quantité d'actomyosine.

Nous avons obtenu de meilleurs résultats en précipitant d'abord l'actomyosine avec les autres myosines en diluant l'extrait initial et en précipitant ensuite la fraction Y restée dans le liquide surnageant par le $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ à 35 % de saturation.

Technique. Les muscles de Lapin sont prélevés immédiatement après la mort de l'animal et introduits dans une enceinte à -20°C . On évite ainsi l'apparition du *rigor mortis* ainsi que des phénomènes de fatigue ou de contracture¹. Après avoir hâché les muscles au microtome automatique à congélation en tranches de $40\ \mu$ d'épaisseur, on extrait la pulpe pendant 10 min avec 5 volumes d'une solution de WEBER-EDSALL (KCl 0,6 m, NaHCO_3 0,04 m, Na_2CO_3 0,01 m). L'extraction et les opérations suivantes sont effectuées en chambre froide à environ 1°C . Après centrifugation, on ajoute 10 volumes d'eau distillée au liquide surnageant et on ajuste le pH à 6,3 à l'aide d'une solution d'acide acétique 1 N. On laisse déposer le précipité de myosines² pendant environ 2 h et on l'élimine par centrifugation (15 min à 2500 t/min). Le liquide surnageant est filtré sur laine de quartz et est amené ensuite à 35 % de saturation en sulfate ammonique par addition de 247,1 g de sel par litre de solution. A ce moment, le pH est d'environ 6. Le précipité est centrifugé, dissous par une solution de μ 0,40 pH 7,4 (Na_2HPO_4 0,048 m – NaH_2PO_4 0,006 m – NaCl 0,25 m) et dialysé contre de l'eau distillée. La fraction Y précipite et après lavage est redissoute par une solution de μ 0,10, pH 7,6 (Na_2HPO_4 0,032 m – NaH_2PO_4 0,004 m). On ajoute du sulfate ammonique jusqu'à 35 % de saturation, afin de purifier le produit par reprécipitation. On redissout le précipité et on le met en dialyse contre la solution tampon choisie pour l'analyse (μ 0,10, pH 7,6 – μ 0,40, pH 7,4).

Résultats. Les solutions contenant la fraction Y présentent un aspect opalescent; elles ne sont ni visqueuses, ni biréfringentes par agitation. Soluble à μ 0,005, pH 7,4, le produit précipite dans l'eau distillée (cfr. DUBUISSON³).

A l'analyse électrophorétique (méthode de TISELIUS-LONGSWORTH⁴), on ne trouve qu'un seul gradient dont la vitesse est, du côté ascendant:

$$\begin{aligned} & -2,5 \cdot 10^{-5} \text{ cm}^2 \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{s}^{-1} \text{ à } \mu \text{ 0,40, pH 7,4,} \\ & -4,5 \cdot 10^{-5} \text{ cm}^2 \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{s}^{-1} \text{ à } \mu \text{ 0,10, pH 7,6,} \end{aligned}$$

et du côté descendant:

$$\begin{aligned} & -2,4 \cdot 10^{-5} \text{ cm}^2 \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{s}^{-1} \text{ à } \mu \text{ 0,40, pH 7,4,} \\ & -4,0 \cdot 10^{-5} \text{ cm}^2 \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{s}^{-1} \text{ à } \mu \text{ 0,10, pH 7,6.} \end{aligned}$$

¹ M. DUBUISSON, Biochim. biophys. Acta 4, 25 (1950).

² J. P. GREENSTEIN et J. T. EDSALL, J. Biol. Chem. 133, 397 (1940).

³ M. DUBUISSON, Nature 116, 1116 (1950).

⁴ M. DUBUISSON, A. DISTÈCHE et A. DEBOT, Biochim. biophys. Acta 6, 97 (1950). – M. DUBUISSON et J. JACOB, Bull. Soc. roy. Sci. Liège, n° 3, 145 (1945).

Toutefois ce gradient s'étale de façon anormale, ce qui laisse supposer que la fraction n'est pas homogène (Fig. 1). Les clichés d'ultra-centrifugation¹ (Fig. 2) révèlent cette hétérogénéité qui est très grande: les préparations paraissent polydispersées et présentent trois gradients principaux qui ne constituent qu'une fraction de 22 % environ. Le plus important de ceux-ci est le moins rapide. Les vitesses de sédimentation de ces trois gradients sont $\approx 15, 8, 5$ unités SVEDBERG.

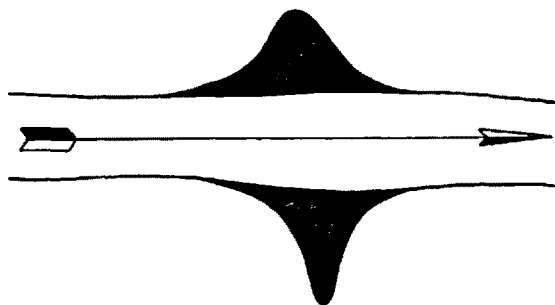


Fig. 1. Fraction Y après 20640 s d'électrophorèse à 4,12 V/cm, μ 0,10, pH 7,6.

Le spectre d'absorption U.V. (spectrophotomètre de BECKMAN) du produit à μ 0,40, pH 7,4, présente un minimum à $252\ \mu$ et un maximum à $277,5\ \mu$. La présence d'acide nucléique ou de nucléotide est donc exclue.



Fig. 2. Diagramme après 24 min d'ultra-centrifugation d'une solution de protéine Y de Lapin dans un tampon phosphatique μ 0,10, pH 7,6. Concentration en protéines: $1,5\ \text{g}/100\ \text{cm}^3$ de solution. Vitesse: 59780 t/min.

En conclusion, le gradient électrophorétique Y est constitué par un mélange très hétérogène de globulines dont les propriétés électrocinétiques sont semblables et qui ne contiennent pas d'acide nucléique.

P. LOUIS

Laboratoire de biologie générale, Faculté des sciences, Université de Liège, le 22 janvier 1954.

Summary

The proteinic material corresponding to DUBUISSON's electrophoretic gradient has been prepared by a new method. This fraction migrates as a single peak in the U-tube, but is heterogeneous in the ultra-centrifugation.

¹ T. SVEDBERG et R. O. PEDERSEN, *The Ultracentrifuge* (Oxford University Press, 1940).

Die Wirkung von Aldosteron («Electrocortin») auf den Natrium-, Kalium- und Glykogen-Stoffwechsel des isolierten Muskels

Die Stoffwechselwirkungen des neuentdeckten Nebennierenrinden-Hormons, Aldosteron¹ («Electrocortin»²), haben wir am überlebenden Warmblütermuskel, dem

¹ S. A. SIMPSON, J. F. TAIT, A. WETTSTEIN, R. NEHER, J. V. EUW, O. SCHINDLER und T. REICHSTEIN, Exper. 9, 333 (1953); 10, 132 (1954).

² W. SCHULER, P. DESAULLES und R. MEIER, Exper. 10, 142 (1954).