

Action d'un inhibiteur de la carboanhydrase (Diamox) sur le pH de l'humeur aqueuse

La carboanhydrase du corps ciliaire semble influencer l'équilibre électrolytique de l'humeur aqueuse. Récemment, nous avons démontré qu'un inhibiteur de ce ferment, l'acétazolamide ou Diamox, abaisse le taux du potassium dans la chambre antérieure du lapin¹. D'autre part, on peut supposer que la carboanhydrase favorise la formation des bicarbonates de l'humeur aqueuse, dont la concentration est supérieure à celle du sang, selon KINSEY².

Nous nous sommes proposés de vérifier indirectement cette hypothèse, en recherchant si l'inhibition de la carboanhydrase entraîne une baisse du pH de l'humeur aqueuse.

Matériel et méthodes. Nous avons utilisé des lapins de 2,5 à 3 kg, qui seront répartis en deux groupes.

Le *premier groupe* comporte 26 lapins, qui ont été soumis à l'expérience suivante: nous ponctionnons la chambre antérieure d'un œil et prélevons sous paraffine, au moyen d'une (micro-)seringue chauffée à 38°, 0,2 cm³ d'humeur aqueuse qui est immédiatement déposée dans la cupule d'une électrode (BECKMAN n° 290-82). Celle-ci est reliée à un potentiomètre de précision (Metrohm E 187). Elle se trouve à température ordinaire; étant donné la rapidité de la mesure, la perte de chaleur subie par le liquide nous a paru faible et relativement comparable d'un cas à l'autre. Nous en avons une preuve indirecte en comparant les valeurs enregistrées dans ce groupe avec les pH du second groupe, mesurés à 38°C.

Immédiatement après ce prélèvement, une partie des animaux a reçu, par voie intraveineuse, 100 mg/kg d'acétazolamide (Diamox, sel sodique), dilués dans 2 cm³ de NaCl isotonique (15 cas). Chez les autres, nous n'avons injecté que les 2 cm³ de NaCl isotonique (11 cas témoins). Trois heures après l'injection, nous avons prélevé l'humeur aqueuse de l'autre œil et mesuré son pH.

¹ A. FALBRIARD, R. ZENDER, M. C. SANZ et A. FRANCESCHETTI, *Exper.* 11, 232 (1955).

² V. D. KINSEY, *A.M.A. Arch. Opth.* 50, 401 (1953).

Le *deuxième groupe* se compose de 10 lapins. Les mesures de pH furent pratiquées dans une chambre à 38°C qui contenait les électrodes, tampons etc. Les électrodes étaient reliées à un potentiomètre resté à l'extérieur, modèle assurant le maximum de précision (Metrohm Compensator E 148 C). La chambre antérieure a été ponctionnée au moyen d'une aiguille spéciale qui permet l'écoulement direct et rapide du liquide dans la cupule de l'électrode (méthode de mesure détaillée à paraître¹).

Nous avons ainsi mesuré le pH d'un œil, 8 jours plus tard, nous avons déterminé dans l'autre œil le pH de l'humeur aqueuse; ceci trois heures après l'injection d'acétazolamide (200 mg/kg de Diamox i.v.).

Résultats et discussion. Nos résultats figurent au Tableau ci-contre. Dans le *premier groupe*, nous notons une baisse du pH de l'humeur aqueuse, qui se révèle significative après différents calculs statistiques². Ainsi, la moyenne du pH obtenue avant tout traitement s'élève à $7,59 \pm 0,102$ (26 cas); elle est de $7,56 \pm 0,076$ après l'injection de NaCl isotonique (2 cm³) (11 cas) et de $7,43 \pm 0,098$ sous l'effet du Diamox dilué dans 2 cm³ de NaCl isotonique (15 cas). L'importance relative de ces écarts-types est l'une des raisons qui nous ont incités à améliorer les conditions d'expérience.

Le *deuxième groupe* d'animaux présente une baisse nettement significative du pH de l'humeur aqueuse, sous l'effet du Diamox. Si les valeurs obtenues sont superposables à celles du premier groupe, leurs écarts-types sont toutefois nettement inférieurs, ce qui reflète l'amélioration apportée à la méthode de mesure. Ce groupe nous donne 10 valeurs de contrôle, dont la médiane est de $7,57 \pm 0,043$. La médiane des huit valeurs enregistrées après l'injection de Diamox est de $7,44 \pm 0,042$ ³. Notons que le rapport des variances est pratiquement égal à un².

¹ M. C. SANZ, R. ZENDER et A. FALBRIARD (à paraître).

² Nous remercions vivement M. le Prof. A. LINDER, professeur de Statistique à l'Université de Genève, d'avoir bien voulu vérifier nos calculs statistiques.

³ Statistique des petits nombres, d'après DEAN et DIXON, *Anal. Chem.* 23, 636 (1951).

Action de l'acétazolamide sur le pH de l'humeur aqueuse

1 ^{er} groupe						2 ^e groupe		
NaCl isotonique (2 cm ³ i.v.)*			Diamox (100 mg/kg dans 2 cm ³ NaCl isotonique i.v.)*			Contrôle		Diamox (200 mg/kg dans 2 cm ³ NaCl isotonique i.v.)**
Lapins	Avant	3 h après	Lapins	Avant	3 h après	Lapins	Avant	3 h après
1	7,52	7,53	1	7,67	7,47	1	7,58	7,48
2	7,55	7,45	2	7,61	7,39	2	7,55	7,41
3	7,48	7,46	3	7,60	7,51	3	7,64	7,46
4	7,58	7,54	4	7,39	7,29	4	7,64	7,41
5	7,57	7,59	5	7,41	7,35	5	7,56	7,42
6	7,70	7,61	6	7,50	7,42	6	7,63	7,53
7	7,62	7,52	7	7,50	7,38	7	7,62	7,49
8	7,58	7,54	8	7,70	7,58	8	7,56	7,42
9	7,75	7,67	9	7,77	7,56	9	7,54	—
10	7,63	7,63	10	7,52	7,41	10	7,51	—
11	7,69	7,67	11	7,46	7,53			
			12	7,65	7,33			
			13	7,74	7,59			
			14	7,65	7,32			
			15	7,58	7,42			
Moyenne des 26 valeurs contrôles:			7,59 \pm 0,102			Médiane avant l'injection de Diamox: 7,57 \pm 0,043		
Moyenne après l'injection de NaCl:			7,56 \pm 0,076			Médiane après l'injection de Diamox: 7,44 \pm 0,042		
Moyenne après l'injection de Diamox:			7,43 \pm 0,098					

* L'injection a été pratiquée immédiatement après la ponction du 1^{er} œil.

** Injection pratiquée 8 jours après la ponction du 1^{er} œil et 3 h avant celle du second. Méthode de mesure perfectionnée.

Ainsi, le pH normal du liquide de la chambre antérieure, mesuré à l'aide d'un électrode de verre, s'élève en moyenne à 7,59 (1^{er} groupe de 26 cas) et à 7,57 (2^e groupe de 10 cas). Par une méthode colorimétrique, KINSEY a obtenu la moyenne de 7,60 (valeurs extrêmes: 7,43–7,81)¹.

Trois heures après l'injection de Diamox, nous observons une baisse significative du pH de l'humeur aqueuse. Cet effet n'est pas plus marqué, dans le second groupe traité par 200 mg/kg, que chez les autres animaux ayant reçu 100 mg/kg du médicament.

Dans l'interprétation de ces résultats, il n'est pas possible d'exclure complètement la participation de l'acidose sanguine due à l'action rénale de l'acétazolamide. Cependant, on peut admettre que la baisse du pH de l'humeur aqueuse reflète, pour une part du moins, une inhibition spécifique de la carboanhydrase du corps ciliaire. Cet effet est associé vraisemblablement à une diminution du taux des bicarbonates; des expériences sont en cours à ce sujet.

La chute du pH de l'humeur aqueuse, sous l'effet du Diamox, doit être rapprochée de la baisse du taux du potassium, que nous avons rapportée dans un précédent travail². Etant donné ces faits, il nous semble possible d'invoquer une *compétition* dans les mouvements de l'hydrogène et du potassium, au niveau du corps ciliaire. A côté de son utilité thérapeutique, l'action de l'acétazolamide doit ainsi contribuer à préciser davantage le mécanisme de la sécrétion de l'humeur aqueuse.

Nous remercions vivement, pour leur précieuse collaboration, Melles A. M. KÖSTLIN et Ch. MOSER.

A. FALBRIARD, M. C. SANZ, R. ZENDER
et A. FRANCESCHETTI

*Clinique Thérapeutique, clinique ophtalmologique et
Laboratoire Central de l'Hôpital cantonal, Genève, le 9
juillet 1955.*

Summary

In 26 rabbits, the normal pH of the aqueous humor, measured with a glass electrode, was found to be 7.59 ± 0.102 . With an improved technique, the corresponding measures on ten other rabbits gave an average value of 7.57 ± 0.043 .

Three hours after the injection of Diamox, a carbonic anhydrase inhibitor, a significant drop of 0.13 pH units was observed.

These effects seem to be dependent on the inhibition of the ciliary body carbonic anhydrase; however there may be some participation of the metabolic acidosis of renal origin. The fall of pH in aqueous humor produced by Diamox is to be correlated with the decrease of potassium concentration previously reported; these facts suggest the hypothesis of a competition between potassium and hydrogen ions in the secretion of aqueous humor.

¹ V. D. KINSEY, A. M. A. Arch. Ophth. 50, 401 (1953).

² A. FALBRIARD, R. ZENDER, M. C. SANZ et A. FRANCESCHETTI, Exper. 11, 232 (1955).

The Determination of Tension Wood in Ash with the Aid of the Phase-contrast Microscope

CLARKE¹, ONAKA², DADSWELL and WARDROP³ have concerned themselves with investigations into the occurrence of tension wood in ash-trees (*Fraxinus* spp.).

Tension wood is a form of so-called reaction wood, occurring especially in hardwood, primarily on the upper side of limbs and stems of leaning trees.

Authors describing the occurrence of tension wood (*i. al.* RENDLE⁴, JAYME and HARDERS-STEINHÄUSER⁵) assume that the most striking characteristic of tension wood visible in a cross-section is its strongly refractive layer, mostly ring-shaped, lying wholly or in part against the inner side of the fibre wall. The layer is indicated in literature among others by the following names: Gelatinous layer⁴, Mucilaginous layer⁶, Zugholzlamelle⁵.

With the aid of staining reactions, the results of which were checked by means of ultra violet microscopy, DADSWELL and WARDROP³ showed that no trace of lignin was present in the gelatinous wall.

Recent investigations⁷ show with a considerable degree of certainty by means of X-diagrams that this exclusive layer is for the greater part composed of cellulose with a high degree of orientation.

The most characteristic method, which is consequently unanimously prescribed to demonstrate the occurrence of tension wood, is carried out in the following way. A cross-section of the wood under investigation is treated with stains or reagents eminently suitable for rendering cellulose visible.

Three methods are summarized below which are being successfully used for applying so-called contrast staining suitable for a microscopic identification of tension wood. The effect of contrast staining is due to the fact that the cellulose of the ring takes a colour different from the one taken by the wall containing lignin.

(1) *Chlor-zinc-iodine*. Chlor-zinc-iodine is the reagent most widely used for determining reaction wood. The rings are stained violet, the rest of the cell wall yellow, this effect giving a very clear contrast.

(2) *Phloroglucin-hydrochloric acid*. This reagent used to examine the lignification in the cell wall yields an uncoloured ring and a more or less reddish "wall" in reaction wood.

(3) *Safranin-fast green*. Staining with Safranin-fast green results in a green ring and a red "wall".

When, however, an attempt is made at determining the occurrence of reaction wood in ash by means of the three staining reactions afore-mentioned, the diverse results obtained in this case prove to be contradictory.

In our laboratory an investigation was carried out on wood growing at the upper side of an excentric ash branch (diameter 3 cm). After sawing, the upper side of the branch showed a glossy appearance. This feature may be closely connected with the occurrence of tension wood. Hence we may reasonably expect that there are

¹ S. H. CLARKE, Forestry 13, 1, 68 (1939).

² F. ONAKA, Wood Res. Bull. Wood Res. Inst., No. 1, Kyoto University, Kyoto (1949).

³ H. E. DADSWELL and A. B. WARDROP, Structure, properties, and formation of tension wood. Paper to be presented to sub-section 13b. For. Anatomy. 8th Internat. Congress Botany, Paris (1954).

⁴ B. J. RENDLE, Tropical woods 52, 11 (1937).

⁵ G. JAYME and M. HARDERS-STEINHÄUSER, Das Papier 4, 7/8, 104 (1950).

⁶ E. CH. JEFFREY, The Anatomy of woody plants (Chicago, 1917).

⁷ A. B. WARDROP and H. E. DADSWELL, Austr. J. Sci. Res. [B] 1, No. 1, 3 (1948).