

### Etude immunochimique d'hémolysats acatalasiques

Nous avons eu l'occasion de faire une étude immuno-chimique des hémolysats de 5 membres d'une famille d'acatalasémiques détectée par les Services de la Croix-Rouge suisse (Dr. HÄSSIG) et de l'Institut de Chimie médicale (Prof. AEBI) à Berne<sup>1</sup>.

Nous nous proposons de déterminer si l'absence d'activité catalasique coïncidait avec l'absence de la molécule, immunologiquement décelable, ou si celle-ci était présente sous une forme inactive.

Nous avons décrit ailleurs<sup>2</sup> les images que donne la catalase érythrocytaire, à l'analyse immuno-électrophorétique et en diffusion double en gélose selon Ouchterlony.

Les hémolysats de deux sœurs et de leur frère acatalasémiques, ainsi que de leurs deux parents hypocatalasémiques, ont été préparés comme précédemment. La Figure 1 montre les images immuno-électrophorétiques que donnent un cas d'acatalasémie et un cas d'hypocatalasémie, comparées à une image normale. L'immunsérum choisi est riche en anticorps anti-catalase. Il révèle en outre les fractions d'hémoglobine  $A_1$  et  $A_2$ , ainsi que les lignes désignées par les lettres  $d$ ,  $x$  et  $y$  dans des travaux antérieurs<sup>3</sup> et dont les antigènes ne sont pas encore identifiés. On voit clairement que la ligne de la catalase est absente de l'image obtenue avec l'acatalasémie alors qu'elle est nettement moins intense que la normale avec l'hémolysat d'hypocatalasémie. Cela signifie qu'à l'absence d'activité biochimique correspond une absence de la molécule immunochimiquement décelable. On identifie la catalase par le dégagement de bulles qui se produit au niveau de l'immunoprécipité lorsqu'on plonge la plaque dans une solution d'eau oxygénée à 1 volume.

Les titrations biochimiques quantitatives par la méthode de Feinstein au perborate<sup>4</sup> montrent qu'une très légère activité catalasique peut subsister dans l'acatala-

sémie. Or, bien que nous ayons également observé une très discrète activité «catalase-like» de ces trois hémolysats, après 2 h de diffusion simple en gélose, il n'a pas été possible de détecter, par la technique d'Ouchterlony, la moindre trace de catalase, malgré 7 recharges de l'hémolysat pathologique. Par contre l'hémolysat normal dilué 20 fois contient encore assez de catalase pour dévier nettement l'immunoprécipité de cette enzyme que donne le même hémolysat normal, non dilué, diffusant à partir d'un trou voisin (Figure 2). Selon le principe de cette technique, un même antigène présent dans deux réservoirs voisins s'inscrira sous forme d'un trait de précipitation continu en face d'un antisérum approprié. Le trait de précipitation se trouvera plus près du réservoir dans lequel l'antigène se trouve en plus faible quantité et, à la limite, le trait de précipitation ne sera que dévié par la présence de traces de l'antigène.

Cet essai semi-quantitatif indique que l'hémolysat d'acatalasémie considéré contient au maximum 140 fois moins de catalase que l'hémolysat normal, et probablement encore beaucoup moins. Ces chiffres sont en accord avec ceux que trouvent AEBI et al.<sup>4,5</sup> dans une étude détaillée des mêmes cas. De leur côté NISHIMURA<sup>6</sup> et plus récemment TAKAHARA<sup>7</sup> ont recherché électrophorétique-

<sup>1</sup> Nous remercions le Dr. HÄSSIG, le Prof. AEBI et le Dr. FREI (chef du Laboratoire central de l'hôpital, Lausanne) d'avoir bien voulu mettre à notre disposition le sang de ces sujets.

<sup>2</sup> A. MICHELI, F. PEETOOM, N. ROSE, S. RUDDY et P. GRABAR, Ann. Inst. Pasteur 98, 694 (1960).

<sup>3</sup> A. MICHELI et P. GRABAR, Ann. Inst. Pasteur 100, 569 (1961).

<sup>4</sup> H. AEBI, J. P. HEINIGER, R. BUTLER et A. HÄSSIG, Exper. 17, 466 (1961).

<sup>5</sup> H. AEBI et al., Enzymol. biol. clin. 2, 1 (1962/63).

<sup>6</sup> E. T. NISHIMURA, T. Y. KOBARA, S. TAKAHARA, H. B. HAMILTON et S. C. MADDEN, Lab. Invest. 10, 334 (1961).

<sup>7</sup> S. TAKAHARA, M. OGATA, T. Y. KOBARA, E. T. NISHIMURA et W. J. BROWN, Lab. Invest. 11, 782 (1962).

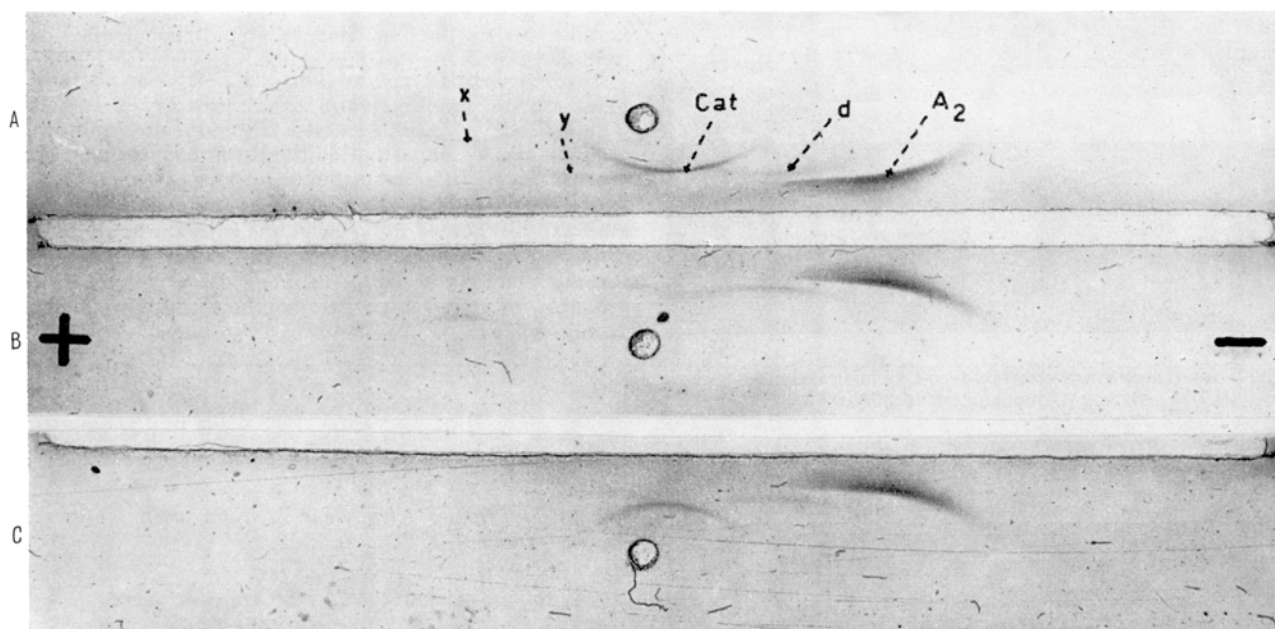


Fig. 1. Analyse immuno-électrophorétique d'hémolysats complets: A normal; B acatalasémie; C hypocatalasémie. Immunsérum de lapin No. VI anti hémolysat humain normal. La ligne de la catalase est près du réservoir de départ des antigènes. Elle est bien visible en A, absente en B, diminuée en C. En avant et en arrière de cette ligne on distingue dans les trois cas deux lignes fines  $d$  et  $y$  dues à des protéines non identifiées. Une autre ligne fine  $x$  est visible plus près de l'anode. La forte ligne du côté de la cathode est due à l'hémoglobine  $A_2$ . Cet antisérum donne très faiblement la ligne de l'Hb  $A_1$  (ici disparue par excès d'antigène).

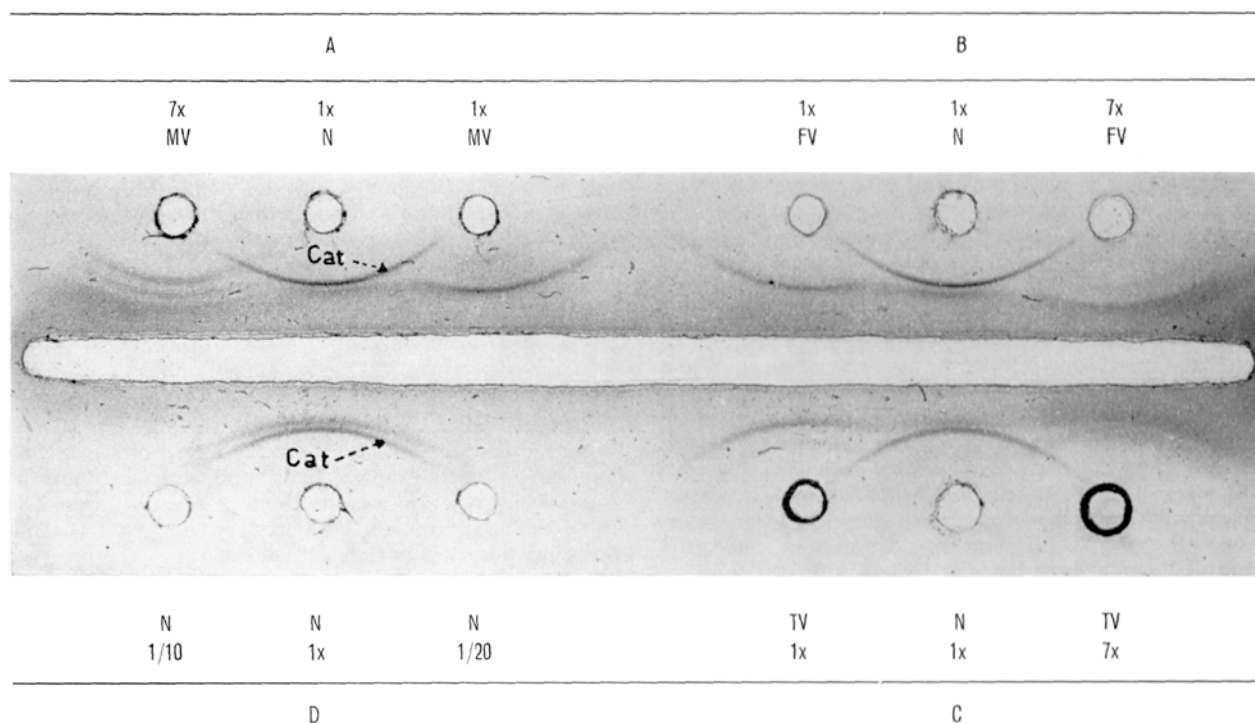


Fig. 2. Diffusion double en gélose. Gouttière centrale: *Immunsérum* de lapin No. VI anti hémolysat humain normal. *Antigènes*: A Hémolysat du cas M.V. chargé 1 fois et 7 fois, comparé à un hémolysat normal N. B Hémolysat du cas F.V. comparé dans les mêmes conditions à l'hémolysat normal. C Hémolysat du cas T.V. comparé dans les mêmes conditions à l'hémolysat normal. D Hémolysat normal non dilué (1 x) et dilué  $1/10$  et  $1/20$ . - L'immunoprécipité de la catalase déterminé à partir de l'hémolysat normal (N 1 x) est bien net dans chacun des segments A, B, C et D. Il est dévié par les faibles quantités de catalase contenues dans l'hémolysat dilué  $1/10$  et  $1/20$  en C. Il n'est dévié, par contre, par aucun des hémolysats d'acatalasémiques M.V., F.V. et T.V., même lorsque ceux-ci sont concentrés 7 fois.

ment et immunologiquement la présence de la «catalase protein», chez les individus atteints d'acatalasémie au Japon. TAKAHARA et al., pour expliquer la persistance, dans l'hémolysat des acatalasémiques, d'un «pic rapide» à l'électrophorèse simple, postulent trois alternatives: (1) ce pic pourrait être dû à une protéine non identifiée accompagnant normalement la catalase à l'électrophorèse; (2) il pourrait s'agir de catalase altérée et inactive; (3) enfin ces deux premières conditions pourraient être réunies en une seule. Or nous voyons à l'analyse immuno-électrophorétique de l'hémolysat (Figure 1) que deux lignes au moins se forment au voisinage immédiat de celle de la catalase, même dans les cas d'acatalasémie. Le «pic rapide» est donc formé de «protéines non identifiées» lorsque manque la catalase.

En revanche, l'absence de ligne de précipitation de catalase dans ces cas pathologiques nous permet tout au plus de dire que la molécule de catalase, si elle est présente, est assez modifiée pour ne plus précipiter avec l'anticorps correspondant.

**Summary.** The hemolysates of the red blood cells from 3 acatalasemic and 2 hypocatalasemic subjects from the same family were investigated by double diffusion in agar and immunoelectrophoretic analysis. It was shown that the loss of catalase activity is accompanied by a loss of specific immunoprecipitation.

A. MICHELI

*Institut universitaire de Biochimie, Lausanne (Suisse),  
le 17 décembre 1962.*

### Evidence for the Presence of Biogenic Amines in Pancreatic Islets

The introduction of a very specific and sensitive method for the demonstration of certain catecholamines and tryptamines at the cellular level<sup>1</sup> has prompted a survey of the occurrence of these compounds in various tissues. The present report deals with observations made in the pancreas by means of this procedure.

**Methods.** Adult pancreatic tissue from rat, mouse, guinea-pig, cat, dog, horse, and duck was used. Ducks were included on account of the characteristically localized distribution of the three types of islet cells in this

species. The tissue pieces were freeze-dried and then treated in dry formaldehyde gas at 80°C for 1 h. The catecholamines and 5-hydroxytryptamine then condense with the formaldehyde to form intensely fluorescent products<sup>1</sup>. Serial sections (5–10  $\mu$ ) were examined in the fluorescence microscope and then stained with haematoxylin-eosin or in some cases impregnated with silver<sup>2</sup>.

**Results.** A specific fluorescence developed in the enterochromaffin cells, in the adrenergic nerves and in some of

<sup>1</sup> B. FALCK, *Acta physiol. scand.* **56**, Suppl. 197 (1962).

<sup>2</sup> B. HELLMAN and C. HELLERSTRÖM, *Z. Zellforsch.* **52**, 278 (1960).