

N° d'ordre  
75

55376  
1950  
1

# THÈSES

présentées

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE LILLE

Pour obtenir

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

par

M. Jacques DUCOUROUBLE

1<sup>ère</sup> Thèse

## Le comportement des acides aminés au cours de la perfusion du rein

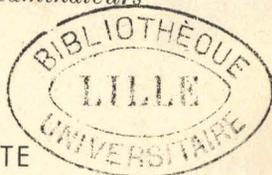
ÉCHANGES ÉRYTHRO-PLASMATIQUES ; DÉSAMINATION ET EXCRÉTION

2<sup>ème</sup> Thèse

## PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ

19 MARS 1950  
SOUTENUES LE 1950, DEVANT LA COMMISSION D'EXAMEN

MM. NORMANT *Président*  
DELOFFRE  
WATERLOT  
BOULANGER *Examineurs*



IMPRIMERIE G. BARATTE  
9, PLACE GÉNÉRAL LECLERC

MARCO-EN-BARCEUL

1950

# UNIVERSITÉ DE LILLE

## Faculté des Sciences

M. PRUVOST, Doyen, Professeur de Géologie et minéralogie  
M. ROUELLE, Assesseur, Professeur de Physique et électricité industrielles

### Professeurs honoraires :

CHATELET	PARISELLE	CAU
PASCAL	FLEURY	MAZET
PAUTHENIER	SWYNGEDAUF	DOLLE
BEGHIN	JOUNIAUX	GAMBIER
CHAZY	CHAUDRON	WIEMANN

Maître de conférences honoraire : M. QUINET

### Professeurs :

ARNOULT	Radioélectricité générale.
CHAPELON	Analyse supérieure et calcul des probabilités.
CORSIN	Paléobotanique et paléontologie houillère.
DEHORNE	Zoologie générale et appliquée.
DECARRIERE	Chimie et physico-chimie industrielles.
DUPARQUE	Pétrographie des roches combustibles.
FRANÇOIS	Chimie minérale.
GALISSOT	Mathématiques appliquées et astronomie.
HOCQUETTE	Biologie végétale et agricole.
KAMPE de FERIET	Mécanique des Fluides.
LEFEBVRE	Chimie appliquée et chimie de la houille.
LELONG	Mécanique rationnelle et mécanique expérimentale.
M <sup>me</sup> LELONG	Calcul différentiel et intégral.
ROIG	Physique générale.
NORMANT	Chimie générale et chimie organique.

### Professeurs sans chaire :

CORDONNIER	Physique.
DELOFFRE	Chimie agricole et botanique P.C.B.
HEIM de BALSAC	Zoologie.
MICHEL	Chimie appliquée.
SAVARD	Chimie.

### Maîtres de conférences :

BONTE	Hydrogéologie.
DECUYPER	Mathématiques appliquées.
DEHORS	Physique et électricité industrielles.
M <sup>lle</sup> DELWAULLE	Chimie générale.
FOURNIER	Physique.
MARTINOT-LAGARDE	Mécanique des Fluides.
WATERLOT	Géologie et géographie physique.

Chef du secrétariat : M<sup>lle</sup> BLANCARD de LERY

A MES JUGES



PREMIÈRE THÈSE

---

**Le comportement des acides aminés  
au cours de la perfusion du rein**

ÉCHANGES ÉRYTHRO-PLASMATIQUES ; DÉSAMINATION ET EXCRÉTION

---

TRAVAIL DU LABORATOIRE DE CHIMIE BIOLOGIQUE DE LA  
FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE  
ET DE L'INSITUT DE RECHERCHES  
SUR LE CANCER

— LILLE —



## AVANT-PROPOS

---

*Après avoir terminé nos études pharmaceutiques, nous sommes entré au Laboratoire de Chimie Biologique où nous avons continué, sous la direction de notre Maître le Professeur P. BOULANGER, les travaux qu'il avait entrepris en collaboration avec Messieurs les Professeurs POLONOVSKI et BIZARD, voici une dizaine d'années, sur le métabolisme de l'ammoniaque et des amino-acides au niveau du rein. Les problèmes que pose, en effet, la destinée des amino-acides sont loin d'être tous résolus et les auteurs qui se sont successivement attachés à cette question l'ont abordée chacun suivant une méthode personnelle : les uns, comme KREBS, ont étudié l'activité des coupes minces, des homogénats ou des extraits de parenchyme rénal à l'aide de la méthode manométrique de WARBURG. Les autres, comme ABDERHALDEN, POLONOVSKI, BIZARD et BOULANGER, CORLEY, BLISS, etc., ont préféré l'expérimentation IN VIVO sur le chien. Enfin, plus récemment, SCHÖNHEIMER et ses collaborateurs ont appliqué au même sujet les possibilités nouvelles de la méthode des traceurs isotopiques.*

*L'investigation de certains points particuliers du métabolisme des amino-acides a été reprise en utilisant la perfusion du rein immédiatement après son isolement de l'animal, dans des conditions aussi physiologiques que possible. Au cours de ces recherches poursuivies systématiquement, il nous a été donné d'observer dans le sang perfusant un phénomène de diffusion des acides aminés de la phase plasmatique vers la phase globulaire, dont la portée nous est immédiatement apparue très grande et dont nous avons voulu aussitôt préciser les conditions.*

*Notre thèse comprendra donc deux parties bien distinctes :*

*- la première est une étude de la diffusion des acides aminés du plasma dans les globules : en dehors de l'intérêt présenté par cette question en elle-même, il était en effet indispensable, si nous voulions interpréter correctement les résultats de nos perfusions, de préciser préalablement la destinée des amino-acides ajoutés au sang IN VITRO.*

- la seconde partie traite du comportement des amino-acides naturels et non naturels dans le rein de chien perfusé.

Nous tenons, au terme de ce travail, à assurer de notre profonde gratitude et de notre entier dévouement notre Maître, Monsieur le Professeur BOULANGER, qui a bien voulu nous accueillir dans son laboratoire, puis nous former peu à peu à la discipline de la recherche scientifique en ne nous ménageant jamais ni son temps, ni ses encouragements. C'est grâce à ses directives que nous avons pu d'abord nous initier à l'étude du métabolisme rénal des amino-acides, puis poursuivre dans son service, à l'Institut de Recherches sur le Cancer, les travaux que nous allons exposer. Nous le remercions de tout cœur.

Notre reconnaissance va aussi à Monsieur le Professeur DRIESSENS, Directeur de l'Institut de Recherches sur le Cancer, qui n'a jamais cessé de nous témoigner sa bienveillante sympathie, tout en mettant à notre disposition un organisme scientifique hors de pair, tant par son organisation que par les grandes facilités de travail qu'il fournit aux chercheurs.

La partie physiologique de notre expérimentation n'a été possible que grâce à l'habileté opératoire de R.A. GRIFFIE, dont l'active collaboration me laissera le souvenir d'un ami original, au dévouement inlassable.

Ma reconnaissance ira tout particulièrement à mes camarades du Service de Chimie de l'Institut : que Gérard BISERTE ne voie ici qu'un bien faible hommage à tout ce que je lui dois, avec le témoignage de ma profonde sympathie, tant morale que scientifique ; que Roger OSTEUX, - à qui je suis redevable des quantités importantes d'acide D-glutamique utilisées dans mes recherches et qui m'a fait bénéficier de son expérience du dosage de l'acide L (+) glutamique, - et que Jean MONTREUIL, - auquel me lient tant de souvenirs communs, - trouvent tous deux ici l'assurance de ma plus sincère amitié

Enfin, je tiens à remercier Mademoiselle Madeleine MOTAT, Mademoiselle Jeannine DEHOVE et Mademoiselle Christiane BACHY pour la collaboration technique aussi dévouée qu'agréable qu'elles m'ont toujours accordée, et Mademoiselle Thérèse LECLERC, qui a bien voulu se charger de la préparation du manuscrit avec son amabilité et sa conscience professionnelle habituelle.

PREMIÈRE PARTIE

---

ECHANGES D'AMINO-ACIDES  
entre le plasma et les hématies

---



## I - Historique

---

Pour expliquer comment nous avons été amené à étudier les échanges érythro-plasmatiques d'acides-amino, il est indispensable que nous décrivions tout d'abord brièvement, car nous y reviendrons ultérieurement, la technique générale que nous avons mise en œuvre pour nos perfusions.

L'appareil employé, décrit par P. BOULANGER et R.A. GAUFFIÉ [1], réalise l'oxygénation du sang par brassage répété à contre-courant ; son avantage est de fonctionner avec un volume réduit de sang (généralement de 100 à 150 ml pour la perfusion d'un rein de chien de poids moyen).

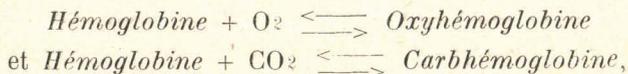
Le sang (100 à 150 ml) est prélevé sur le chien à l'artère fémorale ou carotide et reçu sur un anticoagulant : soit le citrate de sodium (5 à 10 ml d'une solution à 10 p. 100), soit l'héparine (deux à quatre centigrammes). Après agitation on ajoute alors au sang l'acide-amino étudié à la dose de 100 à 250 mg selon les cas, dissous dans une quantité suffisante de sérum physiologique ; la solution est préalablement ajustée à pH 7,3 - 7,4.

Le sang est alors versé dans l'appareil à perfusion où, en attendant la mise en place de l'organe, il est brassé et agité dans une atmosphère riche en oxygène et maintenu à la température de 37° - 37,5°, donc dans des conditions physiologiques.

On effectue un prélèvement de sang avant l'introduction dans l'appareil à perfusion, puis un deuxième prélèvement au bout d'un

temps variable de séjour dans l'appareil, de 5 à 20 minutes selon les cas. Ces deux échantillons sont centrifugés immédiatement pour séparer les globules du plasma (soit 10 minutes à 3.500 tours). C'est sur le plasma que nous avons tout d'abord dosé l'acide aminé. Or, nous avons eu la surprise de constater que pour certains acides aminés, la teneur du deuxième échantillon, celui qui est simplement resté au contact d'une atmosphère d'oxygène pendant un temps relativement court, est *très sensiblement inférieure à celle du plasma initial*. Cette observation était évidemment capitale pour la conduite de nos recherches : étant donné en effet que nous nous proposons d'étudier la désamination des amino-acides dans le rein perfusé, et que cette désamination se traduit avant tout par la disparition d'une fraction plus ou moins importante de l'acide aminé, il nous fallait préciser la nature et l'étendue du phénomène qui se passe dans le sang *in vitro*, sans l'intervention d'aucun organe. Ce pouvait être une désamination : mais cette éventualité était rendue peu probable par l'absence presque certaine d'acidamino-déhydrase dans le sang circulant et par le fait que le sang ne s'enrichissait pas en ammoniac. L'hypothèse la plus probable était celle d'un passage de l'acide aminé du plasma dans les hématies ; la comparaison du taux initial et final et des volumes respectifs du plasma et des globules était favorable à cette conception, que la caractérisation et le dosage de l'acide aminé dans les hématies sont venus tout de suite confirmer.

Les données de la littérature concernant les échanges globulo-plasmatiques d'acides aminés ne sont pas très nombreuses. Aussi, nous en avons entrepris une étude systématique en portant particulièrement notre attention sur leurs relations avec les échanges gazeux et les réactions :



dont le rôle nous était dès le début apparu fondamental.

Nos essais ont été effectués principalement avec des acides aminés de la série D, non naturelle ; cette manière de procéder se justifiait tout d'abord par le fait que c'est le comportement de ces acides dans le rein perfusé que nous nous proposons d'étudier en premier lieu, ensuite parce que leur dosage par la D-acidamino-déhydrase est très spécifique et que les résultats sont ainsi d'une interprétation plus aisée. Les expériences ont naturellement été répétées avec les acides aminés naturels, de la série L, et, ainsi qu'on

pouvait s'y attendre, les résultats ont été absolument superposables.

Des travaux déjà anciens ont démontré l'existence d'acides dans les globules rouges à un taux supérieur à celui du plasma environnant. ABDERHALDEN et KURTEN (1921) [2] ont émis l'hypothèse d'une adsorption des amino-acides à la surface des globules rouges, suivant la loi de FREUNDLICH. Mais comme les auteurs le reconnaissent eux-mêmes, les conditions des expériences qui ont conduit à cette conclusion étaient très particulières (hématies lavées mises en suspension dans du sérum physiologique, température du laboratoire, temps de contact assez court : 45 minutes, sans agitation); elles favorisaient précisément dans le phénomène complexe de fixation des amino-acides par les hématies le processus d'adsorption au détriment des autres (voir plus loin HAUSLER, USSING). On comprend donc que l'influence de la nature du pigment globulaire ait pu échapper complètement à ABDERHALDEN et KURTEN et qu'ils n'aient observé aucune différence entre les globules rouges contenant de l'hémoglobine, de l'oxyhémoglobine et de la carboxyhémoglobine.

SBARSKY [3], en 1923, n'a pu vérifier le bien-fondé de l'application stricte de la loi de Freundlich aux globules rouges. Dans une publication ultérieure (1941), où il expose les résultats de toute une série de travaux sur la répartition des acides aminés entre les globules rouges et le plasma *in vitro* et *in vivo*, SBARSKY conclut à l'importance des échanges érythro-plasmatiques d'acides aminés (1); les variations de l'acidoémie portent surtout sur les acides aminés des hématies, le taux plasmatique restant relativement constant. Les globules rouges fixent donc les amino-acides et, selon SBARSKY, le phénomène est plus complexe qu'une simple adsorption; celle-ci est un processus très rapide, pratiquement instantané, tandis que la fixation des acides aminés par les hématies exige un certain temps. *In vivo*, les amino-acides doivent être en partie adsorbés à la surface des hématies et en partie fixés à l'intérieur de celles-ci, dans les deux cas, ils doivent être combinés d'une façon labile aux protéides des globules rouges, et l'auteur propose pour désigner ce phénomène particulier le terme de « *sorption* ». Le rôle des hématies dans le transport et la régulation du taux

---

(1) Il est curieux de noter qu'un collaborateur de SBARSKY, DOEMIN, a observé dans le sang laissé en contact avec l'air atmosphérique des variations de l'acidoémie plasmatique, mais dans le sens d'une augmentation; l'auteur explique ce fait par une diminution du volume des globules due à l'élévation du pH et comportant une sortie simultanée d'eau et d'azote aminé.

plasmatique des acides aminés est tout spécialement mis en lumière par SBARSKY.

HAUSLER (1924) [4] a étudié les modifications de l'azote aminé sanguin à la suite de l'addition de glyocolle ou d'alanine, en dosant l'azote aminé dans le plasma et les hématies au bout d'un temps variable. La courbe qui traduit le passage de l'amino-acide dans les globules rouges présente pendant la première demie-heure une allure atypique, intermédiaire entre une courbe d'adsorption et une courbe de diffusion. L'examen de la courbe de la première heure montre au contraire que la fixation de l'azote aminé est directement proportionnelle à sa concentration dans le plasma. HAUSLER conclut qu'après une brève phase d'adsorption et de diffusion simultanées, le second processus persiste seul. Il observe en même temps, que la pénétration de l'amino-acide dans les globules s'accompagne curieusement de la sortie d'une quantité équivalente d'azote résiduel.

DANIELSON (1933) [5] a suivi également le partage entre plasma et globules des acides aminés ajoutés au sang total *in vitro* ; la répartition se ferait de la même façon que pour les acides aminés normaux du sang et le phénomène serait relativement rapide (une heure à 37°). Le résultat est identique *in vivo* après injection intraveineuse d'amino-acides ou après absorption digestive massive.

USSING (1943) [6] a réalisé une étude systématique des échanges érythro-plasmatiques d'amino-acides ; il a effectué de nombreux essais en ajoutant des acides aminés variés à du sang oxalaté et en dosant dans les globules rouges après 24 heures la teneur en azote aminé par la méthode de VAN SLYKE. L'auteur met d'abord en évidence l'action favorisante de la température sur la diffusion de la leucine dans les globules rouges en fonction du temps. Ayant ajouté 37 mg de leucine à trois échantillons de sang de 50 ml chacun, placés respectivement à 0°, 20° et 37°, il fait des prélèvements après 5 heures et 24 heures et détermine la teneur en azote aminé des globules rouges. Il obtient les résultats suivants :

(tableau page suivante)

	N aminé dans les globules rouges (mg p. 100)	
	5 heures	24 heures
0° .....	—	24,4
20° .....	21,4	26,5
37° .....	25,7	32

Le taux de leucine dans les globules rouges augmente donc avec le temps et la température. Le résultat exclut déjà la possibilité d'une simple adsorption des amino-acides à la surface des globules rouges, car une adsorption aurait été décroissante avec la température (loi de FREUNDLICH). Poursuivant ses investigations, USSING put reproduire le phénomène avec l'alanine, la phénylalanine, la tyrosine. Le tableau suivant montre l'augmentation de l'azote aminé dans les hématies d'un sang additionné d'alanine ou de phénylalanine, après 24 heures à l'étuve à 37° :

	N aminé dans les globules rouges après 24 h. à 37° (mg p. 100)	
	Sans addition d'acide-amino	Avec addition d'acide-amino
Alanine	19,8	29
Alanine	19	30,3
Phénylalanine	19,4	30,2

Au contraire, avec les acides aminés dicarboxyliques, USSING ne put mettre en évidence qu'une augmentation très faible de l'azote aminé globulaire.

	N aminé dans les globules rouges après 24 h. à 37° (mg p. 100)	
	Sans addition d'acide-amino	Avec addition d'acide-amino
Ac. glutamique	19,4	22,3
Ac. aspartique	19,2	21,4

L'auteur conclut à l'impossibilité pour l'acide aspartique et l'acide glutamique de diffuser à l'intérieur des globules rouges. Il n'a pas étudié le comportement des acides diaminés monocarboxyliques, mais il prévoit une diffusion faible ou nulle qui les apparenterait aux acides aminés dicarboxyliques.

Les chiffres de Ussing montrent enfin que l'équilibre est établi lorsque la concentration de l'acide-amino dans la phase aqueuse de l'hématie est égale à la concentration de l'acide-amino dans la phase aqueuse du plasma.

La diffusion d'autres substances que les acides-amino, comme l'adrénaline et l'histamine, dans les hématies *in vivo* et *in vitro*, a été également signalée, et par exemple OKAMURA [7], dans un article paru en 1939, assignait aux hématies, à la suite d'injection intraveineuse d'adrénaline, un rôle important dans la fixation de cette hormone et dans la régulation de son taux dans l'organisme.

Dans le même ordre d'idées, CHRISTENSEN, COOPER JOHNSON et LYNCH [8] (1947) ont mis en évidence la diffusion du glyocolle et de l'alanine dans les hématies de l'homme après ingestion de ces acides-amino. C'est ainsi que l'administration de 25 à 33 g de glyocolle chez l'homme fait passer, dans le plasma, le taux de l'azote du glyocolle (dosé par des méthodes spécifiques) de 0,28 - 0,37 mg p. 100, valeur normale, à des taux de 2,9 à 7,7 mg p. 100, le maximum étant atteint au bout d'une heure environ ; quant aux hématies, elles fixent lentement l'acide aminé ainsi qu'il ressort du Tableau suivant.

Expérience n°	Temps	Ndu glyocolle libre dans le plasma	N $\alpha$ -aminé libre	Ndu glyocolle dans les hématies
W 14	Avant ingestion	0,30	4,40	—
	65 min.	2,9	7,39	0,61
	180 min.	1,51	6,01	0,92
U 40	Avant ingestion	0,32	4,92	0,46
	50 min.	7,7	12,61	1,15
	155 min.	4,0	9,26	1,72

Dans l'expérience W14, le sujet avait ingéré 25 g et dans

l'expérience U40 32 g de glycoColle. Les résultats sont exprimés en mg p. 100.

L'ingestion d'alanine racémique provoque les mêmes effets :

Expérience n°	Temps	N de l'alanine libre	N $\alpha$ -aminé libre	N de l'alanine dans les hématies
T 49	Avant ingestion	0,74	4,73	0,55
	50 min.	5,03	9,32	1,44
	120 min.	5,64	11,0	2,41
J 57	Avant ingestion	1	4,36	0,85
	90 min.	6,4		1,8
	180 min.	5		2,00
	255 min.	5,3	7,79	2,20

Dans la première expérience, le sujet avait ingéré 25 g d'alanine racémique. Dans la seconde, l'ingestion de 15 g d'alanine racémique au départ a été suivie d'autres ingestions successives, 5 g au bout de 90 minutes et 5 autres g au bout de 180 minutes.

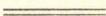
On voit que le taux de l'alanine dans les globules rouges peut dans ces conditions quintupler *in vivo*.

L'ensemble des résultats publiés jusqu'à présent sur les échanges érythro-plasmatiques d'amino-acides peut se résumer schématiquement de la façon suivante.

Lorsque le taux d'un acide aminé, tout au moins d'un acide mono-aminé mono-carboxylique, augmente dans le plasma, une diffusion a lieu vers l'intérieur des globules rouges. Elle est lente, et à la température, qui paraît être optimum, de 37°, l'équilibre exige plusieurs heures (5 heures) pour s'établir ; il correspondrait à l'égalité des concentrations de l'amino-acide dans les phases aqueuses plasmatique et globulaire ; certains résultats seraient en faveur d'une combinaison avec les « colloïdes » globulaires. Il ne semble pas que l'adsorption joue un rôle important dans la fixation des acides-aminés par les globules. Enfin, les acides dicarboxyliques ne participeraient pas aux échanges globules-plasma.

En conclusion, aucune des données précédemment acquises

ne fournissait d'explication aux variations rapides des taux d'acides aminés que nous constatons dans le plasma du sang circulant en circuit fermé, en l'absence d'organe irrigué, dans notre appareil à perfusion. L'oxygénation du sang nous paraissant influencer d'une façon fondamentale sur le phénomène, nous avons porté notre attention sur ce point particulier, et ce sont nos constatations expérimentales que nous allons exposer, après avoir décrit rapidement les techniques que nous avons été amené à utiliser.



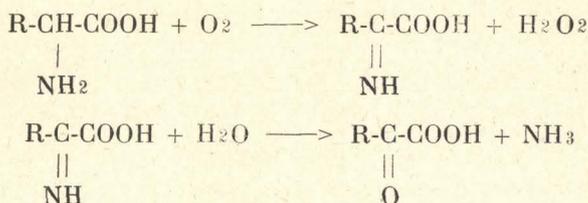
## II - TECHNIQUES EXPÉRIMENTALES

### A — DOSAGE DES D-AMINO-ACIDES

#### 1. — Principe du dosage des D-amino-acides. —

Les D-amino-acides ont été dosés par la méthode à la D-acidaminodéhydrase du rein de porc, selon KREBS [9].

L'action de la D-acidaminodéhydrase consiste en une désamination oxydative des D-amino-acides, antipodes optiques des amino-acides naturels. Le schéma de la réaction est le suivant :



KREBS a établi que la désamination s'accompagnait de la consommation d'une molécule d'oxygène par molécule d'amino-acide: en effet, il y a formation de peroxyde d'hydrogène, mais en présence de catalase, celui-ci est décomposé en libérant une demie-molécule de O<sub>2</sub>. Il y a donc finalement libération d'une molécule d'ammoniaque et fixation d'une demie-molécule d'oxygène pour une molécule d'acide aminé transformé (1).

#### 2. — Préparation de la D-acidaminodéhydrase. —

On prépare une poudre de rein de porc déshydratée et

---

(1) On verra que pour certains acides aminés on ne retrouve pas toujours le chiffre théorique, ce qui est d'ailleurs conforme aux résultats de Krebs et des autres auteurs qui se sont occupés de la question : pour nous, l'essentiel est que, les conditions expérimentales étant identiques, le pourcentage d'ammoniaque libéré reste rigoureusement le même.

dégraissée par traitement à l'acétone et à l'éther. Les manipulations sont faites aux environs de 0°, les organes étant prélevés aussitôt après la mort des animaux. Cette poudre, que l'on conserve en glacière, sert au fur et à mesure des besoins à la préparation de la solution de D-acidaminodéhydrase. Pour cela, on extrait la poudre directement par du tampon phosphatique M/5 de pH 7,8. On humecte la poudre par quatre fois son poids de solution-tampon et on laisse environ 15 minutes en contact à la température du laboratoire, dans un tube à centrifuger, en agitant de temps en temps avec une baguette de verre. Une centrifugation de 20 à 30 minutes à 5.000 tours permet d'obtenir une solution de diastase très active qui désamine quantitativement l'alanine non naturelle. Il n'est pas nécessaire de filtrer la solution et on se contente d'enlever le voile fibreux qui surnage et de décanter ensuite la solution que l'on utilise immédiatement. Elle est fortement colorée et très active lorsque la poudre de rein a été convenablement préparée.

### 3. — Dosage de l'oxygène consommé. —

Le dosage s'effectue à l'aide de manomètres de WARBURG munis de fioles coniques du type courant à un appendice. La disposition adoptée dans toutes nos expériences est la suivante :

- a) dans l'appendice latéral, on mesure 1 ml de la solution diastasique (D-acidaminodéhydrase) ;
- b) dans l'espace annulaire : 2 ml de plasma et 1 ml de tampon phosphatique M/5 de pH 7,8 ;
- c) dans le godet central : 0,2 ml d'une solution de potasse à 10 p. 100.

Un manomètre témoin permet de préciser l'absorption d'oxygène attribuable au plasma seul en l'absence de D-acidaminodéhydrase ; le dispositif est alors le suivant :

- a) dans l'appendice latéral : 1 ml de tampon phosphatique M/5, de pH 7,8 (en remplacement de la préparation enzymatique) ;
- b) dans l'espace annulaire : 2 ml de plasma et 1 ml de tampon phosphatique M/5, de pH 7,8 ;
- c) dans le godet central : 0,2 ml de KOH à 10 p. 100.

Un second manomètre témoin donne la consommation d'oxy-

gène de la préparation *p*-acidaminodéhydrasique isolée ; il reçoit les solutions suivantes :

- a) dans l'appendice latéral : 1 ml de la solution diastasique ;
- b) dans l'espace annulaire : 2 ml de tampon phosphatique de pH 7,6 (pour remplacer les 2 ml de plasma) et 1 ml de tampon phosphatique M/5, de pH 7,8 ;
- c) dans le godet central : 0,2 ml de KOH à 10 p. 100.

Les manomètres ayant été ainsi garnis des substrats, puis leur contenu saturé d'oxygène par un courant de ce gaz à la pression atmosphérique pendant 2 à 3 minutes sous agitation au bain-marie à 37,5°, on attend que l'équilibre de température soit atteint (15 minutes environ) ; on ajuste alors le niveau du liquide au zéro du manomètre, on ferme le manomètre et on bascule le contenu de l'appendice latéral, c'est-à-dire la préparation diastasique, dans l'espace annulaire principal. Par un mouvement de va-et-vient on rince l'anse latérale avec le contenu du pourtour annulaire pour assurer un mélange parfait et enfin on replace le manomètre dans le bain-marie où il sera agité pendant une heure. On suit pendant ce temps la consommation d'oxygène en notant la dénivellation manométrique à volume constant selon la technique habituelle.

Des variations de température peuvent, malgré toutes les précautions, se produire dans le bain-marie. On a soin de toujours placer parmi les manomètres un témoin sans plasma, ni enzyme, garni uniquement d'eau distillée, qui sert de thermobaromètre et permet de faire les corrections nécessaires.

En multipliant la dépression finale exprimée en millimètres par une constante caractéristique de chaque manomètre, on obtient le *volume* d'oxygène absorbé exprimé en mm<sup>3</sup> à 0° et 760 mm Hg ; on peut aisément transformer ces résultats en µg en multipliant par le coefficient 1,423 ; on ramène au ml de plasma en divisant par deux (puisqu'on opère sur 2 ml).

#### 4. — Dosage de l'ammoniaque formée. —

Au bout d'une heure, lorsque les lectures manométriques sont terminées, les fioles sont séparées des manomètres et l'extérieur convenablement essuyé ; la potasse qui a fixé le CO<sub>2</sub> dégagé au cours de la réaction est enlevée du godet central par aspiration à l'aide d'un tube effilé et de languettes de papier-filtre ; puis le contenu

de la fiole, soit 4 ml, est transvasé quantitativement dans un ballon jaugé de 10 ml contenant 2 ml d'une solution d'acide trichloracétique à 50 p. 100. On rince la fiole plusieurs fois à l'eau bidistillée et on agite soigneusement.

On dose l'ammoniaque sur le déféquat limpide obtenu après centrifugation et séparation du précipité protéique.

La détermination de l'ammoniaque formée est parfois le seul moyen de mesurer l'action de la D-acidaminodéhydrase : en effet, lorsqu'on veut opérer sur du sang total ou lorsqu'un certain degré d'hémolyse entraîne la présence dans le milieu réactionnel d'une quantité appréciable d'hémoglobine, la fixation d'oxygène ne correspond jamais à la quantité d'acide aminé oxydé et le chiffre obtenu est toujours trop élevé.

Le dosage de l'ammoniaque est effectué selon les techniques de POLONOVSKI et BOULANGER [40] ou de CONWAY [41].

On sait que la première méthode consiste à déplacer l'ammoniaque par une solution saturée de borate de sodium, à l'entraîner par un courant de vapeur d'eau sous pression réduite, à une température ne dépassant pas 30-35°, et à la recevoir dans une solution d'acide sulfurique N/280 dont on titre finalement l'excès en présence de l'indicateur rouge de méthyle-bleu de méthylène ou rouge de méthyle-vert de bromocrésol.

Ce procédé est assez délicat, mais présente l'avantage de ne laisser la solution à doser que le minimum de temps en contact avec la solution alcaline, ce qui évite toute néo-formation d'ammoniaque par hydrolyse de composés azotés labiles. De nombreuses déterminations qui ont servi de base à notre travail ont été faites suivant cette technique.

La méthode de CONWAY se prête particulièrement bien aux dosages en série. Elle repose sur la diffusion rapide de  $\text{NH}_3$  déplacé par une solution de borate de potassium en atmosphère confinée et sa fixation sur une solution d'acide titrée que l'on dose en retour en présence d'indicateur rouge de méthyle-vert de bromocrésol. L'opération se fait dans des cellules de CONWAY, dont il existe plusieurs modèles et dont nous avons fait construire une série en plexiglas.

On emploie un réactif au borate de potassium préparé en

ajoutant à une solution saturée de borate de potassium une quantité de potasse exactement nécessaire à la neutralisation de l'acide trichloracétique du déféquat. On mesure très exactement 1 ou 2 ml de déféquat dans l'espace annulaire de la cellule, le godet central de cette dernière ayant été préalablement garni de 1 ou 2 ml d'acide sulfurique N/280 additionné d'une ou deux gouttes de la solution d'indicateur. On place le couvercle de la cellule de telle sorte que seule la portion de l'espace annulaire opposée à celle où on a mis le déféquat reste découverte ; on y verse rapidement, à la pipette, 1 ou 2 ml de solution boratée. On ajuste le couvercle soigneusement et on mélange déféquat et borate en agitant doucement la cellule par des mouvements de rotation. Le temps de diffusion est de 4 heures environ à la température du laboratoire.

Les couvercles des cellules doivent être enduits d'un lubrifiant spécial à base de vaseline qui assure une étanchéité parfaite.

La diffusion terminée, on dose l'excès de  $\text{SO}_4\text{H}_2$  N/280 par de la soude N/280. Les quantités d'ammoniaque sont exprimées en  $\mu\text{g}$  par ml de plasma.

---

## B — DOSAGE DES AMINO-ACIDES DE LA SERIE NATURELLE

---

### 1. — Dosage de l'azote aminé total. —

Dans l'étude des amino-acides de la série naturelle, nous avons utilisé soit la méthode générale de dosage de l'azote aminé mise au point par M. POLONOVSKI [12], soit des méthodes spécifiques de l'acide aminé employé. La méthode de M. POLONOVSKI repose sur l'oxydation des amino-acides avec libération du groupement  $-\text{NH}_2$  sous forme d'ammoniaque, telle qu'elle est réalisée par l'action des hypochlorites à chaud, un violent courant d'air entraînant l'ammoniaque formée au cours de la réaction dans une solution titrée d'acide sulfurique où il se dissout.

L'air est amené par un tube adducteur plongeant au fond d'un matras réactionnel à large ouverture rodée contenant la solution d'acide aminé et surmonté d'une ampoule à brome ; puis, après avoir barboté au sein du liquide, où il se charge de l'ammoniaque formée au cours de la réaction, l'air passe dans un ballon à fond

rond muni d'une burette graduée en  $1/20^{\circ}$  de ml.

L'air introduit dans l'appareil est préalablement purifié de toute trace d'ammoniaque par barbotage dans un ballon contenant de l'eau acidulée par de l'acide sulfurique.

Le matras central plonge jusqu'à mi-hauteur environ dans un bain-marie à l'ébullition. On mesure exactement dans ce matras une certaine quantité de déféquat trichloracétique et on ajoute un excès de solution saturée de carbonate de lithium, ce qui amène une élévation de pH suffisante pour chasser toute l'ammoniaque préformée de la solution (l'ion Li est préférable à l'ion Na, comme les recherches de CONWAY [13] l'ont démontré).

Dans le ballon à fond rond, on mesure environ 20 ml d'eau distillée et 5 à 6 gouttes de l'indicateur bleu de méthylène-rouge de méthyle ou mieux rouge de méthyle-vert de bromocrésol.

On relie les différentes parties de l'appareil entre elles et on fait passer un courant d'air rapide à l'aide d'une bonne trompe à eau, de façon à chasser toute trace d'ammoniaque de la liqueur étudiée ; au moyen de la burette remplie de  $\text{SO}_4\text{H}_2$   $N/280$ , on neutralise l'ammoniaque qui vient se dissoudre dans l'eau contenue dans le ballon à fond rond, en se maintenant constamment au point de virage de l'indicateur. Quand tout dégagement d'ammoniaque préformée a cessé, après avoir noté le chiffre de burette, on ajoute dans le matras central, au moyen de l'ampoule à brome, un mélange de 10 ml d'une solution d'hypochlorite de sodium  $M/200$  en oxygène, de 5 ml d'une solution de soude à 25 p. 100 et de 20 ml d'eau. Tout en maintenant l'entraînement rapide par courant d'air, on fait tomber ce mélange goutte à goutte en ouvrant doucement le robinet de l'ampoule et on règle l'écoulement de telle sorte que les 40 ml passent en 10 minutes.

La réaction qui se produit peut s'écrire globalement :



L'ammoniaque formée en milieu alcalin et à chaud est immédiatement entraînée par le courant d'air, sans être oxydée par l'hypochlorite, vient se dissoudre dans le ballon à fond rond où on la titre au fur et à mesure par  $\text{SO}_4\text{H}_2$ . Le dégagement, abondant

pendant les 3 ou 4 premières minutes, se ralentit ensuite et cesse complètement avant même que la totalité de l'hypochlorite ait été utilisée.

## 2. — Techniques particulières de dosage des différents amino-acides. —

a) - *MÉTHODES COLORIMÉTRIQUES.* — Dans le cas des isomères non naturels, en plus de l'action de la D-acidaminodéhydrase et du dosage de l'ammoniaque formée, nous avons utilisé dans certaines expériences des méthodes de dosage colorimétrique spécifique.

Dans le cas des isomères naturels, nous avons de même, après évaluation de l'azote aminé total par l'hypochlorite, contrôlé les chiffres par le dosage colorimétrique de l'amino-acide. C'est ainsi que nous avons mis en œuvre :

1) *Pour l'alanine* : la méthode d'ALEXANDER et SELIGMAN [14], qui consiste à oxyder l'alanine par la ninhydrine en acétaldéhyde qui est séparé du milieu réactionnel par entraînement à l'air et dosé colorimétriquement par la réaction qu'il donne avec le parahydroxydiphényl. Le dosage s'applique au sérum sanguin après défécation phosphotungstique.

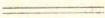
2) *Pour la phénylalanine* : la méthode de KAPPELER-ADLER [15], qui consiste à nitrer par le mélange sulfonitrique la phénylalanine, en un mélange d'ortho et para-dinitrobenzène qui sont réduits à froid par l'acide ascorbique en nitro-phénylhydroxylamines correspondantes, de coloration rouge violacé; on élimine préalablement la tyrosine par addition d'une solution de permanganate de potassium 0,05 M dans l'acide sulfurique 2 N.

3) *Pour la tyrosine* : la tyrosine a été dosée par la méthode de FOLIN et MARENZI [16], qui repose sur la réaction colorée que la tyrosine donne en présence de Hg avec l'acide nitreux ; ce dosage s'applique facilement au sérum sanguin après défécation trichloracétique.

4) *Pour la méthionine* : la méthionine a été dosée dans le plasma par la méthode de HESS et SULLIVAN [17], qui utilise la coloration donnée par le nitroprussiate en milieu fortement alcalin puis en milieu acide. A une partie aliquote du déféquat trichloracétique contenant de 0,5 à 200  $\mu\text{g}$  de méthionine, on ajoute 1 ml de soude 5 N, 1 ml d'une solution de glyco-colle à 1 p. 100 et 0,2 ml

d'une solution de nitroprussiate de sodium à 10 p. 100. On agite et porte le tube au bain-marie à 35° pendant 10 minutes. On refroidit 5 minutes dans l'eau glacée et on ajoute 2,5 ml d'une solution à 20 p. 100 d'HCl. On agite alors 3 minutes à la température ordinaire et on mesure la coloration au photomètre avec une longueur d'onde de 540 m $\mu$ .

b) - *METHODE BIOLOGIQUE*. — *Acide L-glutamique* : l'isomère naturel de l'acide glutamique a été dosé spécifiquement par la méthode de GALE [18], qui consiste à faire agir des suspensions lavées de *Clostridium Welchii*, souche SR 12, qui décarboxyle l'acide glutamique et la glutamine naturels. Cette méthode est applicable directement au sérum sanguin après addition de fluorure (pour inhiber la pyruvo-décarboxylase). Le dégagement de CO<sub>2</sub> se mesure manométriquement selon la méthode de WARBURG.



### III - ACTION DE L'OXYGÈNE ET DE L'ANHYDRIDE CARBONIQUE SUR LES ÉCHANGES GLOBULO-PLASMATIQUES D'AMINO-ACIDES

Nous avons rapporté au début de cette première partie nos observations sur la diminution du taux plasmatique des amino-acides ajoutés au sang sous l'effet de l'oxygénation, à la température de 37,5°. Nous avons naturellement songé aussitôt à compléter ces premières données d'abord par des expériences en séries, réalisées à l'aide d'acides aminés différents, et ensuite à préciser l'action de la désoxygénation par le vide ou en atmosphère d'azote, ainsi que l'influence de l'anhydride carbonique. C'est cette étude systématique que nous allons décrire maintenant.

#### A — ESSAIS SUR LE SANG TOTAL

Notre technique expérimentale a été la suivante. On prélève à un chien ou éventuellement à un autre animal, 100 ml de sang que l'on recueille sur 10 ml d'une solution de citrate de sodium à 10 p. 100 (1). On ajoute l'acide aminé (100 à 300 mg) dissous dans la quantité minimum de sérum physiologique. On mélange avec soin et on prélève immédiatement un premier échantillon que nous appelons prise initiale. Le reste du sang est alors introduit dans l'appareil oxygénateur et brassé en présence d'oxygène durant 15 minutes à la température de 37,5°. Au bout de ce temps on prélève un nouvel échantillon. Le sang est alors traité soit par un courant d'azote, soit par un courant de CO<sub>2</sub> dans les mêmes conditions et pendant 20 minutes ; le sang prend tout à fait l'aspect du sang veineux ; un troisième prélèvement est alors effectué. Chaque échantillon est centrifugé immédiatement et les globules séparés du

(1) On pourrait nous objecter dès maintenant que l'addition de citrate de sodium à cette concentration est susceptible de modifier dans une certaine mesure l'équilibre globulo-plasmatique. Aussi avons-nous réalisé une partie de nos essais sur du sang rendu incoagulable par un anticoagulant qui soit sans influence sur la perméabilité de la membrane globulaire : *polyanétholsulfonate de sodium* (« liquoïde ») et surtout *héparine*. Les résultats ont été absolument superposables dans tous les cas.

plasma surnageant, pour éviter toute nouvelle diffusion dans un sens ou dans l'autre. L'acide aminé est alors dosé dans le plasma et éventuellement dans la purée globulaire selon l'une des techniques décrites précédemment.

1. — VARIATIONS DU TAUX D'AMINO-ACIDE PLASMATIQUE SOUS L'INFLUENCE DE O<sub>2</sub> ET DU CO<sub>2</sub> (D-alanine). —

	Plasma initial	Plasma après O <sub>2</sub>	Plasma après CO <sub>2</sub>
O <sub>2</sub> absorbé en µg par ml de plasma	268	185	243
NH <sub>3</sub> dégagé en µg par ml de plasma	222	161	219
D-alanine en µg par ml de plasma	<b>1161</b>	<b>842</b>	<b>1145</b>

L'oxygénation a entraîné une diminution du taux de l'alanine dans le plasma de l'ordre du cinquième environ et le passage prolongé de CO<sub>2</sub> rétablit sensiblement le taux initial.

Dans l'essai suivant, on a fait passer successivement un courant d'oxygène, d'azote, puis de CO<sub>2</sub>.

	Plasma initial	Plasma après O <sub>2</sub>	Plasma après N <sub>2</sub>	Plasma après CO <sub>2</sub>
NH <sub>3</sub> en µg par ml de plasma	190	170	170	190
D-alanine en µg par ml de plasma	<b>943</b>	<b>889</b>	<b>889</b>	<b>993</b>

On constate une diminution de l'alanine après oxygénation, le passage d'un courant d'azote ne modifiant pas l'équilibre, tandis que le gaz carbonique provoque un retour à l'état initial.

D'autres essais ont fourni des résultats analogues et nous ont prouvé que la nature de l'anticoagulant n'avait pas d'importance. Voici une expérience réalisée avec du sang hépariné (la précédente ayant été faite avec du sang citraté).

	Plasma du sang initial	Plasma du sang O <sub>2</sub>	Plasma du sang CO <sub>2</sub>
O <sub>2</sub> consommé en $\mu\text{g}$ par ml de plasma	428	339	371
H <sub>2</sub> libéré en $\mu\text{g}$ par ml de plasma	336	288	324
D-alanine en $\mu\text{g}$ par ml de plasma	<b>1757</b>	<b>1506</b>	<b>1694</b>

*Autre essai* : 100 ml de sang de cheval, prélevés sur citrate à 10 p. 100, sont additionnés de 100 mg d'alanine non naturelle dissoute dans 10 ml de sérum physiologique. Les temps d'oxygénation et de passage du CO<sub>2</sub> sont réduits ici chacun à 10 minutes, à 37,5°. La suite des opérations est la même que précédemment.

	Sang initial	Sang + O <sub>2</sub>	Sang + CO <sub>2</sub>
O <sub>2</sub> en $\mu\text{g}$ par ml de plasma	332	253	333
NH <sub>3</sub> en $\mu\text{g}$ par ml de plasma	264	229	259
Alanine en $\mu\text{g}$ par ml de plasma	<b>1380</b>	<b>1197</b>	<b>1354</b>

Les résultats sont donc les mêmes pour les deux espèces animales ; des expériences ultérieures ont d'ailleurs montré la généralité du processus. Le tableau ci-contre reproduit l'ensemble des résultats obtenus avec la D-alanine : on voit que leur concordance est parfaite.

(tableau page suivante)

SANG INITIAL			SANG + O <sub>2</sub>			SANG + CO <sub>2</sub>		
O <sub>2</sub> en µg par ml	NH <sub>3</sub> en µg par ml	Alanine en µg par ml	O <sub>2</sub> en µg par ml	NH <sub>3</sub> en µg par ml	Alanine en µg par ml	O <sub>2</sub> en µg par ml	NH <sub>3</sub> en µg par ml	Alanine en µg par ml
288	255	<b>1333</b>	176	201	<b>1051</b>	314	259	<b>1354</b>
432	337	<b>1762</b>	384	248	<b>1297</b>	476	316	<b>1652</b>
251	243	<b>1270</b>	211	206	<b>1077</b>	304	231	<b>1208</b>
310	286	<b>1495</b>	268	263	<b>1375</b>	344	287	<b>1501</b>
299	240	<b>1255</b>	219	154	<b>804</b>	338	218	<b>1140</b>
273	261	<b>1365</b>	210	214	<b>1119</b>	297	257	<b>1344</b>
208	175	<b>915</b>	169	154	<b>804</b>	220	173	<b>905</b>
200	171	<b>894</b>	153	155	<b>809</b>	246	175	<b>915</b>
446	308	<b>1610</b>	321	242	<b>1265</b>	428	295	<b>1548</b>
302	234	<b>1223</b>	233	187	<b>978</b>	300	237	<b>1239</b>
225	190	<b>993</b>	162	146	<b>763</b>	291	184	<b>962</b>
253	227	<b>1186</b>	147	161	<b>842</b>	325	224	<b>1171</b>
240	205	<b>1072</b>	170	188	<b>983</b>	290	201	<b>1051</b>
266	224	<b>1171</b>	181	176	<b>920</b>	320	215	<b>1124</b>
253	232	<b>1213</b>	166	161	<b>842</b>	348	233	<b>1218</b>
329	294	<b>1538</b>	218	226	<b>1181</b>	365	297	<b>1553</b>
350	241	<b>1261</b>	163	208	<b>1088</b>	311	239	<b>1251</b>

2. — VARIATIONS DU TAUX D'AMINO-ACIDE GLOBULAIRE SOUS L'INFLUENCE DE L'OXYGÈNE ET DU CO<sub>2</sub> : PREUVES DE LA MIGRATION INTRA-GLOBULAIRE. —

Il nous restait alors à préciser la nature même du phénomène et à rechercher la destinée de la fraction d'amino-acide disparue du plasma. Si la migration vers l'intérieur des hématies paraissait évidemment l'éventualité la plus probable, elle restait encore à démontrer et nous ne pouvions éliminer *a priori* l'hypothèse d'une transformation ou d'une combinaison, par exemple d'une désamination ou d'une intégration dans une molécule plus complexe. Nous avons donc réalisé l'expérience suivante.

Le culot de centrifugation globulaire du sang *oxygéné* de l'expérience précédente est repris dans un plasma « synthétique » constitué par une solution isotonique de polyvinylpyrrolidone. Les globules sont lavés plusieurs fois (5 fois) par centrifugation avec 30 ml de cette solution ; ces opérations ont pour but d'enlever toute trace de plasma sanguin. Après le dernier lavage, les globules sont remis en suspension dans un volume de solution de polyvinylpyrrolidone égale à deux fois le volume primitif de plasma sanguin (soit

30 ml).

On fait alors passer pendant 20 minutes dans ce sang reconstitué un courant de  $\text{CO}_2$  à la température de  $37,5^\circ$ . On sépare ensuite par centrifugation les globules du plasma synthétique, dans lequel on recherche la présence de l'acide aminé ajouté primitivement, en l'occurrence la D-alanine. Pour vérifier la rigueur du mode opératoire, on effectue également une détermination sur le dernier liquide de lavage, pour s'assurer qu'il ne renferme plus du tout d'acide.

Voici les résultats obtenus :

	Dernier liquide de lavage des globules (après oxygénation du sang initial)	Plasma « synthétique » après passage de $\text{CO}_2$ dans le sang reconstitué
$\text{O}_2$ fixé en $\mu\text{g}$ par ml de plasma	18	75
$\text{NH}_3$ libéré en $\mu\text{g}$ par ml de plasma	0	15
Alanine en $\mu\text{g}$ par ml de plasma	0	78

Le plasma synthétique final ayant un volume double du plasma sanguin initial, les résultats sont donc à multiplier par deux.

On voit que l'acide aminé disparu se retrouve dans les globules d'une façon presque quantitative. Remarquons que la « liaison » entre l'acide aminé et les globules est relativement stable : en effet, les lavages successifs ne l'ont pas rompue, bien qu'on n'ait pas pris la précaution de les réaliser en atmosphère d'oxygène. L'expérience précédente a été répétée à plusieurs reprises avec des résultats identiques.

Nous pouvons donc conclure de ces premiers essais que l'oxygénation d'un sang artificiellement enrichi en alanine provoque un passage rapide de l'acide aminé dans les hématies, tandis que l'action d'un courant de  $\text{CO}_2$  rétablit l'équilibre initial.

### 3. — VARIATIONS PAR OXYGÉNATION PUIS DESOXYGÉNATION PAR LE VIDE. —

L'influence des échanges gazeux sur la traversée de la mem-

brane globulaire par l'acide-amino paraît donc primordiale et cette constatation n'est pas en faveur d'un simple phénomène de diffusion « passive », si l'on peut dire, tel que l'ont admis implicitement les auteurs, en particulier USSING, qui jusqu'à présent se sont penchés sur ce problème. Tout semble se ramener à une question d'oxygénation : en effet, l'action du courant de CO<sub>2</sub> se traduit par la dissociation de l'oxyhémoglobine formée dans la première phase de l'expérience, avec départ de l'oxygène fixé. C'est ce que montrent les dosages d'oxygène pratiqués selon la méthode de HALDANE [19] sur les sangs prélevés au cours d'une expérience.

	Sang initial	Sang + O <sub>2</sub> 10 min.	Sang + CO <sub>2</sub> 15 min.
O <sub>2</sub> consommé en µg par ml de plasma	203	141	222
NH <sub>3</sub> formé en µg par ml de plasma	270	150	210
D-alanine en µg par ml de plasma	<b>1412</b>	<b>784</b>	<b>1098</b>
O <sub>2</sub> p. 100 en ml	17,79	20,2	13,3

Etant donnée l'importance de la nature de l'atmosphère gazeuse dans laquelle est placé le sang, il nous a semblé intéressant de reprendre les expériences de USSING en en modifiant les conditions de la manière suivante : on supprime l'action de l'oxygène en faisant le vide dans le récipient contenant le sang préalablement additionné d'alanine et on maintient ainsi ce sang sous pression réduite dans une étuve à 37°, pendant 24 heures. On ne constate pratiquement pas de diffusion de l'acide-amino dans les hématies. Au contraire, si on maintient le même sang 24 heures à l'étuve à 37°, simplement en présence d'air, sans oxygénation préalable, le taux de diffusion est analogue à celui des expériences précédentes, qui comportaient une oxygénation intense de 10 à 15 minutes à 37°. Le tableau ci-contre reproduit les chiffres obtenus, qui sont particulièrement démonstratifs.

	Plasma du sang initial	Plasma du sang oxygéné (10 min. à 37,5°)	Plasma du sang maintenu 24 h. à 37° dans le vide	Plasma du sang maintenu 24 h. à 37,5° dans l'air	Plasma du sang maintenu 24 h. à 37,5° sous CO <sub>2</sub>
O <sub>2</sub> en µg par ml de plasma	184	167	(236)*	164	(344)
NH <sub>3</sub> en µg par ml de plasma	165	148	168	151	171
Alanine en µg par ml de plasma	<b>863</b>	<b>773</b>	<b>878</b>	<b>788</b>	<b>894</b>

Le dosage par la méthode de WARBURG comportant une oxygénation du plasma préalablement à l'action de la D-acidaminodéhydrase, il nous a semblé utile de contrôler cette expérience par un essai réalisé avec un autre amino-acide dosable par une méthode colorimétrique. Nous avons ainsi employé dans l'essai suivant la phénylalanine non naturelle qui a été dosée simultanément par l'action de la D-acidaminodéhydrase et par colorimétrie selon KAPPELER-ADLER [20].

Les résultats sont rigoureusement parallèles :

(\*) On constate assez fréquemment, lorsqu'on fait agir sur le plasma sanguin la D-acidaminodéhydrase préparée comme nous l'avons exposé dans la première partie, une divergence entre le taux d'oxygène consommé et la quantité d'ammoniaque formée (dans les tableaux qui suivront, ces chiffres discordants seront encadrés de parenthèses). On sait en effet que l'action de la D-acidaminodéhydrase en présence de catalase s'accompagne théoriquement, pour chaque atome d'oxygène consommé, de la formation d'une molécule d'ammoniaque (voir 1ère partie, chapitre I). En pratique, l'ammoniaque libérée reste généralement parallèle à l'oxygène consommé ; les discordances peuvent s'expliquer à la fois par la complexité d'un substrat comme le plasma sanguin et par le degré peu élevé de purification de la préparation diastasique. BOULANGER, BISERTE et GRIFFIE [21] ont cherché à éliminer cette dernière cause d'erreur en utilisant de la D-acidaminodéhydrase purifiée en présence d'un excès de flavine-Adénine-dinucléotide pur ; on constate dans ces conditions une amélioration sensible du rapport de l'oxygène consommé à l'ammoniaque formée.

	Plasma du sang initial	Plasma du sang oxygéné (10 min. à 37°)	Plasma du sang maintenu 24 h. dans le vide	Plasma du sang maintenu 24 h. à 37° dans l'air	Plasma du sang maintenu 24 h. à 37° sous CO <sub>2</sub>
O <sub>2</sub> consommé en µg par ml de plasma	183	142	173	124	156
NH <sub>3</sub> en µg par ml de plasma	275	228	279	171	270
Phénylala- nine en µg par ml de plasma	<b>2667</b>	<b>2211</b>	<b>2706</b>	<b>1658</b>	<b>2619</b>
Phénylala- nine en µg par ml de plasma dosé colorimé- triquement	<b>2700</b>	<b>2150</b>	<b>2700</b>	<b>1700</b>	<b>2600</b>

L'action du vide est donc identique à celle du gaz carbonique.

#### B — ESSAIS SUR LE PLASMA ISOLÉ ET SUR LE PLASMA HÉMOGLOBINÉ

On sait que le plasma sanguin isolé, en l'absence d'hématies et d'hémoglobine, est apte à dissoudre et à fixer les gaz comme l'oxygène et le CO<sub>2</sub>. Le plasma dissout, lorsqu'il est mis en présence d'oxygène pur sous la pression atmosphérique, environ 2,3 cm<sup>3</sup> de O<sub>2</sub> pour 100 ml de sang à 38°, ce qui pratiquement est faible par rapport aux 20 cm<sup>3</sup> que l'on peut extraire d'un sang artériel total. Au contraire, le plasma renferme environ les deux tiers du CO<sub>2</sub> total du sang : celui-ci s'y trouve sous forme de bicarbonates, de CO<sub>2</sub> physiquement dissous, de traces de CO<sub>2</sub>H<sub>2</sub> et enfin de CO<sub>2</sub> combiné aux protéines ; le CO<sub>2</sub> physiquement dissous correspond environ au vingtième du CO<sub>2</sub> total du plasma. De plus, FAURHOLT [22] a montré qu'en présence d'une solution d'ammoniaque, d'amines ou d'amino-acides, voire même de polypeptides, la vitesse de fixation du CO<sub>2</sub> est beaucoup plus grande et comparable à celle observée dans le cas de l'hémoglobine. Comme d'autre part le CO<sub>2</sub> abaisse le pH du plasma seul aussi bien que le pH du sang total, il était nécessaire de vérifier si la présence des hématies expliquait

seule les variations du taux d'amino-acide provoquées par les échanges gazeux et si celles-ci ne se produiraient pas également en présence du plasma isolé et des protéines plasmatiques.

100 ml de sang de chien sont prélevés sur héparine et divisés en deux portions égales. La première, soit 50 ml, est additionnée de 50 mg d'alanine non naturelle dissoute dans 5 ml de sérum physiologique. On prélève un premier tiers que l'on centrifuge immédiatement. Dans les deux tiers restants, on fait passer un courant d'oxygène, comme dans les expériences précédentes, puis, après séparation du deuxième tiers, on fait passer CO<sub>2</sub> dans la troisième fraction. Les hématies du second tiers sont lavées plusieurs fois par centrifugation avec du sérum physiologique, repris finalement dans un volume de solution salée physiologique double du volume primitif du plasma sanguin, et soumis à l'action d'un courant de CO<sub>2</sub> pendant 30 minutes à 38°. Chaque échantillon est centrifugé et les plasmas et solutions physiologiques sont soumises à l'analyse.

La deuxième portion du sang est centrifugée ; on recueille le plasma surnageant, soit 28 ml, auxquels on ajoute 40 mg d'alanine dissous dans 4 ml de solution physiologique.

On prélève comme dans la première partie un témoin initial, puis on soumet le reste à l'action d'un courant d'oxygène pendant 15' minutes ; on prélève ensuite un nouvel échantillon de plasma avant de faire passer dans le reste un courant de CO<sub>2</sub> pendant 15 minutes également.

Les résultats sont condensés dans les tableaux ci-dessous.

	PLASMA DU SANG TOTAL		
	Initial	après O <sub>2</sub>	après CO <sub>2</sub>
O <sub>2</sub> en µg par ml de plasma	203	141	222
NH <sub>3</sub> en µg par ml de plasma	270	150	210
Alanine en µg par ml de plasma	<b>1412</b>	<b>784</b>	<b>1098</b>

SOLUTION DE LAVAGE DES GLOBULES	
	après CO <sub>2</sub>
O <sub>2</sub> en µg par ml de solution	67
NH <sub>3</sub> en µg par ml de solution	33
Alanine en µg par ml de solution	<b>172</b>

	PLASMA SEUL		
	Initial	après O <sub>2</sub>	après CO <sub>2</sub>
O <sub>2</sub> en µg par ml de plasma	249	257	209
NH <sub>3</sub> en µg par ml de plasma	214	197	203
Alanine en µg par ml de plasma	<b>1119</b>	<b>1050</b>	<b>1061</b>

Ici encore, le traitement par un courant de CO<sub>2</sub> des hématies lavées permet de retrouver sensiblement la quantité d'acide aminé disparue. Quant aux chiffres obtenus avec le plasma seul, ils montrent également des différences entre les échantillons, mais beaucoup plus faibles.

Plusieurs autres expériences ont été effectuées sur le plasma isolé, dans les mêmes conditions expérimentales, et ont conduit aux mêmes conclusions :

Plasma initial			Plasma + O <sub>2</sub>			Plasma + CO <sub>2</sub>		
O <sub>2</sub> en µg par ml de plasma	NH <sub>3</sub> en µg par ml de plasma	Alanine <sup>e</sup> en µg	O <sub>2</sub> en µg par ml de plasma	NH <sub>3</sub> en µg par ml de plasma	Alanine <sup>e</sup> en µg	O <sub>2</sub> en µg par ml de plasma	NH <sub>3</sub> en µg par ml de plasma	Alanine <sup>e</sup> en µg
273	261	<b>1365</b>	260	250	<b>1307</b>	288	263	<b>1375</b>
114	105	<b>549</b>	129	94	<b>491</b>	105	102	<b>533</b>
229	190	<b>993</b>	251	184	<b>962</b>	242	190	<b>993</b>
286	259	<b>1323</b>	301	246	<b>1286</b>	322	250	<b>1307</b>
187	163	<b>852</b>	194	156	<b>815</b>	176	160	<b>836</b>

Si l'on s'en rapporte aux chiffres des essais précédents, on voit que la disparition partielle de l'alanine n'est pas due exclusivement à une migration intra-globulaire, puisqu'on l'observe, avec une intensité évidemment beaucoup plus faible, dans le plasma isolé. Nous reviendrons sur ce point lors de la discussion générale des résultats, et nous nous efforcerons d'en donner une explication satisfaisante.

Nous avons cherché à préciser la forme sous laquelle l'acide se trouve dans le globule rouge, et en particulier à déterminer si on a affaire à un simple phénomène physique de diffusion ou à une liaison chimique définie entre l'hémoglobine et l'acide.

Nous avons alors essayé de réaliser les mêmes expériences non plus en utilisant du sang total mais une solution d'hémoglobine dans du plasma, ce qui revenait à exclure l'intervention de la « membrane » globulaire.

100 ml de sang contenant normalement environ 16 g d'hémoglobine, nous avons ajouté à 50 ml de plasma de cheval 8 g d'hémoglobine cristallisée (préparée selon la technique de Hoppe-Seyler), que nous avons fait dissoudre en portant le plasma à 37°. Cette solution de pigment a été mélangée à 50 mg d'alanine non naturelle dissous dans 5 ml de sérum physiologique.

Après prélèvement d'un échantillon initial, nous avons fait passer un courant d'oxygène pendant 15 minutes, et après un deuxième prélèvement, un courant de CO<sub>2</sub>, pendant 15 minutes également. Les déterminations habituelles ont été pratiquées sur ces différents plasmas et ont donné les résultats suivants :

	Plasma initial	Plasma + O <sub>2</sub>	Plasma + CO <sub>2</sub>
O <sub>2</sub> en µg par ml de plasma	(305)	187	(386)
NH <sub>3</sub> en µg par ml de plasma	189	177	195
Alanine en µg par ml de plasma	988	925	1019

Les différences en présence d'hémoglobine restent du même ordre de grandeur que celles que l'on constate dans le cas du plasma seul ; mais nous nous trouvons dans des conditions très défavorables

pour étudier le phénomène, car l'hémoglobine dissoute ne peut être séparée avant le dosage, et la désamination de la D-alanine nécessitant la présence d'oxygène, tous les échantillons de plasma hémoglobiné se trouvaient finalement soumis à l'action de ce gaz.

Aussi avons-nous repris ces expériences sur plasma seul et sur plasma additionné d'hémoglobine, en dosant l'alanine colorimétriquement, après oxydation en acétaldéhyde par la ninhydrine, sur le filtrat de défécation phosphotungstique du plasma, c'est-à-dire après élimination des protéines et de l'hémoglobine.

PLASMA SEUL							
50 ml de plasma de cheval + 30 mg d'alanine naturelle dissous dans 10 ml de sérum physiologique							
Alanine en $\mu\text{g}$ par ml	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Plasma initial</th> <th>Plasma + O<sub>2</sub></th> <th>Plasma + CO<sub>2</sub></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>500</td> <td>472</td> <td>505</td> </tr> </tbody> </table>	Plasma initial	Plasma + O <sub>2</sub>	Plasma + CO <sub>2</sub>	500	472	505
Plasma initial	Plasma + O <sub>2</sub>	Plasma + CO <sub>2</sub>					
500	472	505					
50 ml de plasma de cheval + 40 mg d'alanine naturelle dissous dans 10 ml de sérum physiologique							
Alanine en $\mu\text{g}$ par ml	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Plasma initial</th> <th>Plasma + O<sub>2</sub></th> <th>Plasma + CO<sub>2</sub></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>660</td> <td>625</td> <td>660</td> </tr> </tbody> </table>	Plasma initial	Plasma + O <sub>2</sub>	Plasma + CO <sub>2</sub>	660	625	660
Plasma initial	Plasma + O <sub>2</sub>	Plasma + CO <sub>2</sub>					
660	625	660					

Plasma Hémoglobiné							
50 ml de plasma de cheval + 10 g d'hémoglobine + 10 ml de sérum physiologique contenant 40 mg d'alanine non natur.							
1) Alanine en $\mu\text{g}$ par ml de plasma	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Plasma initial</th> <th>Plasma + O<sub>2</sub></th> <th>Plasma + CO<sub>2</sub></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>615</td> <td>503</td> <td>582</td> </tr> </tbody> </table>	Plasma initial	Plasma + O <sub>2</sub>	Plasma + CO <sub>2</sub>	615	503	582
Plasma initial	Plasma + O <sub>2</sub>	Plasma + CO <sub>2</sub>					
615	503	582					
50 ml de plasma de cheval + 15 g d'hémoglobine + 10 ml de sérum physiologique contenant 50 mg d'alanine non natur.							
2) Alanine en $\mu\text{g}$ par ml de plasma	<table border="1"> <tbody> <tr> <td>775</td> <td>635</td> <td>755</td> </tr> </tbody> </table>	775	635	755			
775	635	755					

On voit que les variations observées sont analogues dans le plasma hémoglobiné et le système plasma-globules. Il ne s'agit donc pas d'une simple diffusion de l'acide aminé à travers la membrane des globules et d'un équilibre entre les phases aqueuses plasmatique et globulaire. Nos résultats sont en faveur d'une « combinaison », dont nous ne préjurerons pas la nature, entre les acides aminés et l'oxyhémoglobine. Il est curieux de noter que nous rejoignons ici la conception défendue par SBARSKY [23], d'une combinaison entre les amino-acides et les « colloïdes » intra-globulaires.

### C — ETUDE COMPARATIVE DES DIFFERENTS AMINO-ACIDES

#### 1°) — ALANINE NATURELLE.

Les échanges globulo-plasmatiques et leurs modalités ne sont pas particuliers aux amino-acides de la série non naturelle. La L-alanine donne en effet les résultats suivants. La même technique générale a été employée, les dosages étant effectués par la méthode à l'hypochlorite de POLONOVSKI [24].

100 ml de sang de cheval, prélevé sur citrate, sont additionnés de 25 ml d'une solution contenant 100 mg d'alanine naturelle dans du sérum physiologique.

	Plasma initial	Plasma + O <sub>2</sub>	Plasma + CO <sub>2</sub>
N aminé en µg par ml de plasma	210	150	200
Alanine en µg par ml de plasma	<b>1350</b>	<b>970</b>	<b>1280</b>

120 ml de sang de chien prélevé sur héparine sont additionnés de 100 mg d'alanine naturelle dissoute dans 10 ml de sérum physiologique.

	Plasma initial	Plasma + O <sub>2</sub>	Plasma + CO <sub>2</sub>
N aminé en µg par ml de plasma	220	135	210
Alanine en µg par ml de plasma	<b>1400</b>	<b>860</b>	<b>1350</b>

2°) — PHÉNYLALANINE.

A 100 ml de sang, on ajoute 200 mg de phénylalanine non naturelle dissous dans 10 ml de solution ajustée à pH 7,5. La phénylalanine étant peu soluble en milieu neutre, il serait impossible de dissoudre une telle proportion d'acide-amino dans un aussi faible volume : on dissout donc d'abord 100 mg en milieu chlorhydrique concentré (2 ml d'HCl N complétés ensuite à 5 ml par du sérum physiologique), puis 100 mg en milieu sodique (2 ml de NaOH N complétés ensuite à 5 ml par du sérum physiologique) ; juste au moment de l'emploi, on mélange les solutions acide et alcaline et on ajuste à pH 7,5 par addition d'acide ou de base ; la phénylalanine reste en sursaturation suffisamment longtemps et c'est une solution limpide que l'on ajoute au sang. Ce mode opératoire a été adopté dans toutes les expériences ultérieures réalisées avec des acides-amino peu solubles.

Le reste de l'expérience est mené comme dans le cas général et les dosages sont effectués par la méthode à la D-acidaminodéhydrase.

	Sang initial	Sang + O <sub>2</sub>	Sang + CO <sub>2</sub>
O <sub>2</sub> en µg par ml de plasma	174	(336)	161
NH <sub>3</sub> en µg par ml de plasma	225	162	204
Phénylalanine en µg par ml de plasma	<b>2182</b>	<b>1571</b>	<b>1978</b>

	Sang initial	Sang + O <sub>2</sub>	Sang + CO <sub>2</sub>
O <sub>2</sub> en µg par ml de plasma	(367)	197	(456)
NH <sub>3</sub> en µg par ml de plasma	174	100	180
Phénylalanine en µg par ml de plasma	<b>1687</b>	<b>970</b>	<b>1746</b>

Les expériences suivantes, effectuées avec des quantités variables d'acide-amino, ont donné des résultats analogues.

Sang initial			Sang + O <sub>2</sub>			Sang + CO <sub>2</sub>		
O <sub>2</sub> consommé en µg par ml de plasma	NH <sub>3</sub> en µg par ml de plasma	Phénylalanine en µg	O <sub>2</sub> consommé en µg par ml de plasma	NH <sub>3</sub> en µg par ml de plasma	Phénylalanine en µg	O <sub>2</sub> consommé en µg par ml de plasma	NH <sub>3</sub> en µg par ml de plasma	Phénylalanine en µg
340	180	<b>1746</b>	221	122	<b>1183</b>	378	184	<b>1784</b>
408	223	<b>2163</b>	232	135	<b>1309</b>	460	218	<b>2114</b>
152	110	<b>1067</b>	94	78	<b>756</b>	230	113	<b>1096</b>
204	223	<b>2163</b>	332	192	<b>1862</b>	185	217	<b>2104</b>

La phénylalanine sous sa forme non naturelle se comporte comme l'alanine lorsque le sang est soumis à l'oxygénation : la fixation de l'acide aminé sur les globules atteint ici encore sensiblement le cinquième ou le quart (parfois même davantage) de la quantité totale initialement présente.

La variation est aussi nette avec la phénylalanine naturelle, que l'on dose dans le déféquat trichloracétique par la méthode à l'hypochlorite. a) On ajoute à 110 ml de sang, 300 mg de phénylalanine dissous dans 20 ml de sérum physiologique. b) On ajoute à 100 ml de sang, 100 mg de phénylalanine dissous dans 10 ml de sérum physiologique.

	Sang initial	Sang + O <sub>2</sub>	Sang + CO <sub>2</sub>
Phénylalanine dans le plasma en µg par ml a)	5030	4240	—
Phénylalanine dans le plasma en µg par ml b)	1240	730	1180

### 3°) — VALINE.

100 ml de sang de cheval prélevés sur citrate sont additionnés de 200 mg de valine non naturelle dissous dans 10 ml de sérum physiologique. Les déterminations sont faites par la méthode de WARBURG.

	Sang initial	Sang + O <sub>2</sub>	Sang + CO <sub>2</sub>
O <sub>2</sub> en µg par ml de plasma	(313)	(270)	260
NH <sub>3</sub> en µg par ml de plasma	196	172	210
Valine en µg par ml de plasma	<b>1348</b>	<b>1113</b>	<b>1444</b>

Le comportement de la valine naturelle ne diffère pas de celui de l'isomère non naturel.

A 100 ml de sang, on ajoute 100 mg de valine dissous dans 20 ml de sérum physiologique.

	Plasma initial	Plasma + O <sub>2</sub>	Plasma + CO <sub>2</sub>
N aminé en µg par ml de plasma	166	126	168
Valine en µg par ml de plasma	<b>1400</b>	<b>1060</b>	<b>1420</b>

#### 4°) — HISTIDINE.

100 ml de sang de cheval prélevés sur citrate sont additionnés de 150 mg d'histidine non naturelle dissous dans 20 ml de sérum physiologique. Le mode opératoire est le même que dans le cas de la phénylalanine.

L'histidine a été déterminée par la méthode à la D-acidaminodéhydrase, mais les résultats fournissent ici plutôt un élément de comparaison qu'un dosage proprement dit. En effet, les différents amino-acides ne sont pas tous oxydés à la même vitesse et dans les mêmes proportions par la D-acidaminodéhydrase : alors que la D-alanine, la D-phénylalanine, la D-valine sont très rapidement attaquées et presque complètement désaminées, avec la D-histidine le rendement de la réaction enzymatique est beaucoup moins satisfaisant. Voici, selon FELIX et ZORN [25], les quantités de NH<sub>3</sub> en p. 100 de la théorie que l'on obtient.

D-alanine	106,8 p. 100
DL-valine	99,8 p. 100
D-phénylalanine	99 p. 100
DL-histidine	20 p. 100

Nos résultats sont les suivants :

	Sang initial	Sang + O <sub>2</sub>	Sang + CO <sub>2</sub>
O <sub>2</sub> en µg par ml de plasma	74	26,5	48
NH <sub>3</sub> en µg par ml de plasma	<b>68</b>	<b>58</b>	<b>76</b>

L'essai a été renouvelé avec l'histidine naturelle, dans les mêmes conditions, mais avec un dosage final par l'hypochlorite. Voici les chiffres obtenus :

	Sang initial	Sang + O <sub>2</sub>	Sang + CO <sub>2</sub>
NH <sub>3</sub> en µg par ml de plasma	321	194	273
Histidine en µg par ml de plasma	<b>3530</b>	<b>2134</b>	<b>3003</b>

#### 5°) — GLYCOCOLLE.

Le glyocolle se comporte comme les autres amino-acides. L'azote aminé a été déterminé par la méthode à l'hypochlorite sur le déféquat trichloracétique du plasma, avant et après oxygénation et après passage de CO<sub>2</sub>. On ajoute à 100 ml de sang de cheval citraté 100 mg de glyocolle.

	Sang initial	Sang + O <sub>2</sub>	Sang + CO <sub>2</sub>
NH <sub>3</sub> en µg par ml de plasma	262	225	237
Glyocolle en µg par ml de plasma	<b>1410</b>	<b>1200</b>	<b>1270</b>

#### 6°) — TYROSINE.

Les essais ont été limités à la tyrosine naturelle.

100 ml de sang de cheval sont additionnés de 100 mg de tyrosine dissous dans 20 ml de sérum physiologique.

L-tyrosine en $\mu\text{g}$ par ml de plasma	Sang initial	Sang + O <sub>2</sub>	Sang + CO <sub>2</sub>
		1480	1180

Les différences sont du même ordre que pour l'alanine et la phénylalanine.

#### 7°) — METHIONINE.

L'oxygénation entraîne ici encore une diffusion intraglobulaire alors que le CO<sub>2</sub> l'entrave complètement.

Signalons à ce propos que selon POLONOVSKI et GAJDOS [26], « si l'on ajoute à un sang citraté de la méthionine exogène, le surplus se partage assez équitablement entre les globules et le plasma ».

Dans nos essais, la méthionine a été dosée par la méthode de HESS et SULLIVAN [27].

1) Méthionine en $\mu\text{g}$ par ml de plasma	Sang initial	Sang + O <sub>2</sub>	Sang + CO <sub>2</sub>
		1390	1300
2) Méthionine en $\mu\text{g}$ par ml de plasma			
	1430	1300	1430

Le comportement de la méthionine ne diffère donc pas de celui des autres amino-acides.

#### 8°) — LEUCINE.

Les expériences faites dans les mêmes conditions avec la D-leucine ont donné des résultats *négatifs*.

A 95 ml de sang de chien, prélevés sur citrate (10 ml), on ajoute 200 mg de leucine non naturelle dissous dans 20 ml de sérum physiologique (on a procédé comme pour la phénylalanine). L'acide a été dosé par la méthode de WARBURG.

## Essai n° 1

	Sang initial	Sang + O <sub>2</sub>
O <sub>2</sub> en µg par ml de plasma	192	174
NH <sub>3</sub> en µg par ml de plasma	118	120
Leucine en µg par ml de plasma	<b>908</b>	<b>924</b>

## Essai n° 2

	Sang oxygéné	Le même sang + CO <sub>2</sub> pendant 20 min.
O <sub>2</sub> en µg par ml de plasma	85	112
NH <sub>3</sub> en µg par ml de plasma	100	100
Leucine en µg par ml de plasma	<b>770</b>	<b>770</b>

A 140 ml de sang de chien, prélevés sur citrate (10 ml), on ajoute 250 mg de leucine non naturelle dissous dans 20 ml de sérum physiologique.

## Essai n° 3

	Sang oxygéné	Même sang traité 15 min. par CO <sub>2</sub>
O <sub>2</sub> en µg par ml de plasma	174	(99)
NH <sub>3</sub> en µg par ml de plasma	168	166
Leucine en µg par ml de plasma	<b>1293</b>	<b>1278</b>

Ce comportement particulier de la leucine méritait de retenir l'attention. Nous nous sommes demandé si le phénomène n'était pas plus lent que pour les autres acides aminés, peut-être par suite d'une perméabilité plus faible de la membrane globulaire vis-à-vis de la leucine. Dans ce cas, la durée de nos essais aurait été trop courte pour que les variations aient été décelables. Aussi avons-nous effectué des expériences dans lesquelles le contact plasma-globules en atmosphère d'oxygène et de gaz carbonique a été prolongé pendant 24 heures à 37°.

A 200 ml de sang, on ajoute 250 mg de D-leucine ; une fraction est immédiatement centrifugée ; le reste est divisé en deux portions dont l'une est maintenue 24 heures dans l'étuve à 37° en atmosphère d'oxygène et l'autre dans les mêmes conditions en atmosphère de gaz carbonique.

	D-Leucine en µg par ml de plasma		
	Sang initial	Sang + O <sub>2</sub>	Sang + CO <sub>2</sub>
Essai n° 1	1743	1413	1627
Essai n° 2	1685	1250	1560

On retrouve donc pour la leucine au bout de 24 heures des variations de même sens et de même ordre de grandeur qu'avec les autres acides mono-aminés mono-carboxyliques. Nos premiers résultats négatifs étaient donc dus uniquement à la lenteur relative des échanges érythroplasmiques de leucine.

#### 9°) — ACIDE ASPARTIQUE.

A 100 ml de sang de chien, recueillis sur 10 ml de citrate, on ajoute 300 mg d'acide aspartique non naturel dissous dans 20 ml de sérum physiologique (cette solution étant ajustée préalablement à pH 7,8 par addition de NaOH).

	Sang initial	Sang + O <sub>2</sub>	Sang + CO <sub>2</sub>
O <sub>2</sub> en µg par ml de plasma	(383)	309	336
NH <sub>3</sub> en µg par ml de plasma	280	294	297
Acide aspartique en µg par ml de plasma	<b>2184</b>	<b>2293</b>	<b>2316</b>

100 mg d'acide aspartique non naturel, dissous dans 20 ml de solution physiologique, sont, après ajustement à pH 7,8, ajoutés à 100 ml de sang de chien. Le dosage pratiqué sur le plasma avant et après oxygénation (15 min.) donne les chiffres suivants :

	Sang initial	Sang après oxygénation
O <sub>2</sub> en µg par ml de plasma	287	296
NH <sub>3</sub> en µg par ml de plasma	183	184
Acide aspartique en µg par ml de plasma	<b>1427</b>	<b>1435</b>

100 mg d'acide aspartique non naturel dissous dans 10 ml de sérum physiologique sont ajoutés de la même façon à 100 ml de sang de cheval citraté. Le passage de l'oxygène et du CO<sub>2</sub> s'effectue comme précédemment.

	Sang initial	Sang + O <sub>2</sub>	Sang + CO <sub>2</sub>
O <sub>2</sub> en µg par ml de plasma	194	258	235
NH <sub>3</sub> en µg par ml de plasma	224	230	219
Acide aspartique en µg par ml de plasma	<b>1747</b>	<b>1794</b>	<b>1708</b>

Un autre essai a été effectué sur sang de cheval citraté additionné de 100 mg d'acide aspartique non naturel.

	Sang initial	Sang + O <sub>2</sub>	Sang + CO <sub>2</sub>
O <sub>2</sub> en µg par ml de plasma	195	173	157
NH <sub>3</sub> en µg par ml de plasma	189	192	195
Acide aspartique en µg par ml de plasma	<b>1474</b>	<b>1497</b>	<b>1521</b>

Des expériences identiques réalisées avec l'acide aspartique naturel, dosé par la méthode de POLONOVSKI, n'ont montré aucune différence entre sangs artériel et veineux.

	Sang initial	Sang + O <sub>2</sub>	Sang + CO <sub>2</sub>
1) N aminé en µg par ml de plasma	127	127	130
2) N aminé en µg par ml de plasma	178	180	186

Le comportement de l'acide aspartique, *L* ou *D*, diffère donc de celui de tous les amino-acides précédemment envisagés (voir *USSING*). L'oxygénation, en effet, n'influe pas sur sa diffusion dans les hématies et le traitement par CO<sub>2</sub> ne modifie pas non plus l'imperméabilité des globules pour cet amino-acide.

#### 10°) — ACIDE GLUTAMIQUE.

A 100 ml de sang de cheval, on ajoute 200 mg d'acide glutamique non naturel, dissous préalablement à l'état de glutamate de sodium dans du sérum physiologique la solution étant ajustée à pH 7,6 en présence de bleu de bromothymol.

L'acide est dosé par la méthode de *WARBURG* qui ne fournit ici qu'un élément de comparaison.

	Sang initial	Sang + O <sub>2</sub>	Sang + CO <sub>2</sub>
O <sub>2</sub> en µg par ml de plasma	137	147	145
NH <sub>3</sub> en µg par ml de plasma	110	109	100
Acide glutami- que en µg par ml de plasma	<b>946</b>	<b>937</b>	<b>860</b>

Le dosage par la méthode à l'hypochlorite sur les mêmes sangs ne donne pas non plus de différences entre les trois échantillons.

	Sang initial	Sang + O <sub>2</sub>	Sang + CO <sub>2</sub>
Acide glutami- que en µg par ml de plasma	2720	2728	2604

Des expériences réalisées avec l'acide glutamique naturel ont donné des résultats aussi nets. On ajoute à 100 ml de sang 10 ml de sérum physiologique contenant en dissolution 100 mg d'acide glutamique naturel (sous forme de glutamate de sodium). Les dosages sont effectués par l'hypochlorite.

	Sang initial	Sang + O <sub>2</sub>	Sang + CO <sub>2</sub>
1) Acide glutamique en µg par ml de plasma	1155	1200	1155
2) Acide glutamique en µg par ml de plasma	1145	1150	1140

Dans d'autres expériences effectuées avec du sang de cheval, l'acide glutamique a été dosé par la méthode de GALE [28].

	Acide L-glutamique en µg par ml de plasma		
	Sang initial	Sang + O <sub>2</sub>	Sang + CO <sub>2</sub>
Oxygénation et CO <sub>2</sub> 10 min.	1228 1112	1239 1213	1241 1178
Oxygénation et CO <sub>2</sub> 30 min.	1414	1381	1434

Des essais de contact prolongé à l'étuve à 37°, en atmosphère d'oxygène, avec dosages consécutifs dans le plasma et les globules rouges (après hémolyse par l'éther), ont montré que les variations du taux de l'acide glutamique dans le plasma étaient insignifiantes et que les hématies ne contenaient pas d'acide glutamique libre après deux heures de contact.

	Acide L-glutamique en µg par ml	
	Oxygéné 5 min.	Oxygéné 30 min.
<i>Sang I</i>		
Plasma	920	830
Hématies	0	0
	Oxygéné 10 min.	Oxygéné 2 heures
<i>Sang II</i>		
Plasma	1528	1507
Hématies	0	0

Les essais effectués avec du plasma hémoglobiné sont restés négatif : on ajoute à 50 ml de plasma 50 mg d'acide L (+) glutamique dissous dans 10 ml de sérum physiologique. On prélève 10 ml de plasma et dans les 50 ml restants on dissout 10 g d'hémoglobine (non desséchée) ; sur une partie de ce plasma hémoglobiné on fait passer O<sub>2</sub> pendant 20 minutes et CO<sub>2</sub> sur l'autre partie pendant le même temps.

	Plasma initial	Plasma hémoglobiné + O <sub>2</sub>	Plasma hémoglobiné + CO <sub>2</sub>
Acide glutamique en $\mu\text{g}$ par ml de plasma	871	756	756

La diminution du taux plasmatique d'acide glutamique correspond sensiblement à la dilution provoquée par l'addition de la préparation non desséchée d'hémoglobine.

L'acide glutamique, comme son homologue inférieur l'acide aspartique, ne participe donc pas du tout aux équilibres érythro-plasmatiques sous l'influence de l'oxygénation.

#### 11°) — *LYSINE*.

Le comportement de la DL-lysine est analogue à celui des amino-acides dicarboxyliques et cet amino-acide bibasique ne diffuse pas non plus dans les globules rouges.

100 ml de sang de cheval citraté sont additionnés de 100 mg de DL-lysine, et traités selon le mode opératoire général.

	Sang initial	Sang + O <sub>2</sub>	Sang + CO <sub>2</sub>
N aminé en ml d' $\text{SO}_4\text{H}_2$ N/280 par ml de plasma	3,55	3,70	3,65
DL-lysine en $\mu\text{g}$ par ml de plasma	<b>1900</b>	<b>1920</b>	<b>1900</b>

Dans une autre expérience, on a ajouté 300 mg de DL-lysine à 100 ml de sang. Le passage de l'oxygène a été prolongé 30 minutes et celui du CO<sub>2</sub> également. Les résultats sont les suivants :

	Sang initial	Sang + O <sub>2</sub>	Sang + CO <sub>2</sub>
N aminé en ml d'SO <sub>4</sub> H <sub>2</sub> N/280 par ml de plasma	10,60	10,80	10,70
Lysine en µg par ml de plasma	<b>5520</b>	<b>5630</b>	<b>5570</b>

Un essai avec plasma hémoglobiné dans les mêmes conditions que précédemment n'a pas donné de différences marquées entre plasma hémoglobiné oxygéné et saturé de CO<sub>2</sub>.

A 100 ml de plasma on ajoute 150 mg de DL-lysine dissous dans 10 ml de sérum physiologique. On prélève 10 ml de ce mélange et dans les 100 ml restant on ajoute 10 g d'hémoglobine. On obtient un volume final de 107 ml. On le divise en deux parties égales : l'une est oxygénée 30 minutes, l'autre traitée par CO<sub>2</sub> pendant 30 minutes également.

	Plasma initial	Plasma hémoglobiné + O <sub>2</sub>	Plasma hémoglobiné + CO <sub>2</sub>
Lysine en µg par ml de plasma	1200	1150	1150



#### IV - INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

Avant de discuter l'ensemble des résultats précédents et d'essayer de les interpréter, nous résumerons schématiquement nos constatations.

1° - Le passage dans les hématies d'un acide aminé ajouté à du sang rendu incoagulable *in vitro* est considérablement accéléré par l'oxygénation ; l'équilibre érythro-plasmatique, qui exige plusieurs heures lorsque le sang est simplement abandonné à l'air à la température de 37°, est atteint en quelques minutes lorsqu'on fait barboter dans le sang à cette même température de l'oxygène pur.

2° - Lorsqu'on fait passer un courant de CO<sub>2</sub> dans le sang oxygéné, l'acide aminé traverse en sens inverse la membrane globulaire, et au bout de 10 à 15 minutes on retrouve dans le plasma le taux initial.

3° - L'action de CO<sub>2</sub> n'est pas spécifique et peut être attribuée simplement à la transformation de l'oxyhémoglobine en hémoglobine ; en effet, le même résultat est obtenu lorsque la désoxygénation est réalisée sous pression réduite.

4° - L'oxygénation intervient également dans l'établissement progressif et lent de l'équilibre érythro-plasmatique des amino-acides au cours du séjour du sang à l'étuve à 37° ; le passage de l'acide aminé dans les globules est en effet négligeable lorsque le sang est maintenu à l'abri de l'air sous atmosphère d'azote et *a fortiori* de CO<sub>2</sub>.

5° - L'intégrité des hématies n'est pas indispensable à la « dissimulation » de l'acide aminé : de l'hémoglobine dissoute dans le plasma « fixe » réversiblement sous l'effet de l'oxygénation une certaine proportion de l'acide aminé ajouté, à peine inférieure à la fraction qui, dans les mêmes conditions, passe dans les globules rouges intacts.

6° - L'oxygénation du plasma seul n'entraîne que de très

faibles variations du taux d'acide aminé ; les protéines plasmatiques n'ont donc pas une action comparable à celle de l'hémoglobine.

7° - Les différents acides aminés ne se comportent pas tous de façon identique. Le phénomène que nous avons décrit, se produit avec tous les acides mono-aminés monocarboxyliques étudiés. Au contraire, les acides mono-aminés dicarboxyliques d'une part, et la lysine d'autre part, ne passent pas dans les hématies ; quelle que soit la durée et l'intensité de l'oxygénation, nous n'avons pu mettre en évidence la présence d'une quantité appréciable de ces acides aminés dans les globules ; les expériences réalisées notamment avec l'acide L-glutamique, que l'on peut doser d'une façon rigoureusement spécifique au moyen de la décarboxylase bactérienne, ont été complètement négatives.

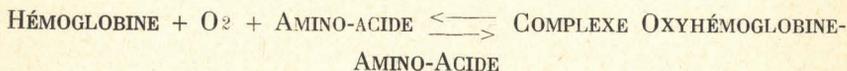
Ainsi que nous l'avons exposé au Chapitre I, l'équilibre érythro-plasmatique des acides aminés a déjà fait l'objet de plusieurs séries de travaux. Ceux de HAUSLER [29], SBARSKY [30], USSING [31] font ressortir la lenteur relative du passage des amino-acides dans les hématies et l'« imperméabilité » de ces dernières aux acides aminés dicarboxyliques. Mais l'effet de l'oxygénation, de la transformation de l'hémoglobine en oxyhémoglobine, n'a jamais été signalé et l'intérêt de notre constatation nous paraît justifier sa discussion.

La première idée qui vient à l'esprit lorsqu'on observe les actions opposées de l'oxygène et du gaz carbonique est celle d'un rapprochement avec le phénomène de HAMBURGER. Il s'agirait ici d'un processus inverse : l'oxygène, en chassant le  $\text{CO}_2$  du sang, provoquerait la migration intra-globulaire d'ions amino-acides, que le courant de  $\text{CO}_2$  ferait de nouveau sortir des hématies.

Mais l'analogie entre la chloropexie globulaire et les faits que nous avons décrits n'est qu'apparente. Nous avons vu en effet que le gaz carbonique n'intervenait pas par lui-même mais en favorisant la transformation de l'oxyhémoglobine en hémoglobine ; il suffit de désoxygéner le sang sous pression réduite pour aboutir au même résultat, sans que l'on puisse invoquer ici, bien au contraire, un accroissement du nombre des ions bicarboniques du plasma. D'autre part, des essais réalisés en modifiant le pH du sang par des solutions-tampons nous ont montré que des variations sensibles de l'acidité réelle n'avaient pratiquement pas d'influence sur la répartition érythroplasmatique des acides aminés.

Nous pouvons également exclure, pour les mêmes raisons, l'hypothèse d'une « concurrence » entre les acides aminés et l'acide carbonique, celui-ci chassant les radicaux amino-acides de leur combinaison avec l'hémoglobine.

La condition essentielle d'un passage rapide des amino-acides dans les hématies est donc la transformation de l'hémoglobine en oxyhémoglobine. Cependant, il ne semble pas que le mécanisme de cette action consiste en une modification de la perméabilité de la « membrane » globulaire, favorisant la diffusion des acides aminés à travers cette membrane et leur répartition dans l'eau des hématies suivant un équilibre du type DONNAN. En effet, la diminution de la concentration d'acide aminé s'observe *en l'absence de toute « membrane » globulaire*, dans du plasma additionné d'une quantité d'hémoglobine équivalente à celle que contient le volume d'hématies correspondant. De ce fait, la seule explication possible nous paraît être la formation d'une combinaison relativement stable entre l'oxyhémoglobine et les acides aminés, selon le processus réversible :



Si l'on admet cette façon de voir, il reste évidemment encore plusieurs points à éclaircir.

Tout d'abord, on peut se demander pourquoi la désoxygénation de l'oxyhémoglobine amène la dissociation du complexe acida-miné ; autrement dit pourquoi les acides aminés ont une affinité moindre pour l'hémoglobine que pour l'oxyhémoglobine. Pour répondre à cette question il faudrait connaître la nature de la liaison acide aminé-oxyhémoglobine, sur laquelle nous ne pouvons qu'émettre des hypothèses : liaison amide, liaison « saline », ou union plus labile encore...? Il faudrait également posséder des notions précises sur les modifications qu'entraîne la fixation d'oxygène et qui peuvent porter sur l'ensemble de la molécule d'hémoglobine. Dans ce domaine, nous savons au moins déjà que la transformation de l'hémoglobine en oxyhémoglobine élève la constante de dissociation « acide » de l'hémoglobine :

$$K. \text{Hb} = 10^{-8,18}$$

$$K. \text{HbO}_2 = 10^{-6,62}$$

L'oxyhémoglobine se comporte donc comme un acide plus « fort » que l'hémoglobine : peut-être y a-t-il une corrélation entre

ce fait et la fixation des acides aminés. Les points isoélectriques de l'hémoglobine et de l'oxyhémoglobine se situent respectivement au voisinage de pH 6,8 et de pH 6,7 ; ceux des acides mono-amino-carboxyliques sont très proches : alanine 6,1 , - phénylalanine 5,9 , - valine 6,0 , - tyrosine 5,7 , - méthionine 5,8. On conçoit donc que des modifications, même discrètes, des constantes de dissociation puissent avoir un retentissement sur les affinités des corps en présence. On comprendrait en même temps que les acides aminés dicarboxyliques, dont les  $pH_i$  sont beaucoup plus bas (3,2 pour l'acide glutamique et 3,0 pour l'acide aspartique) ne réagissent pas de la même façon et restent « indifférents », si l'on peut dire, à la transformation hémoglobine  $\rightleftharpoons$  oxyhémoglobine. Le cas de la lysine est moins explicable à première vue, puisque le  $pH_i$  est ici très élevé (9,7) et la basicité suffisamment forte pour que la combinaison ait lieu même avec l'hémoglobine. Mais le processus est sans doute plus complexe et d'autres facteurs encore indéterminés doivent entrer en jeu. Les résultats négatifs des essais de dissimulation de la lysine dans le plasma hémoglobiné montrent en tout cas que si une imperméabilité de la membrane globulaire pour le cation lysine peut être envisagée, elle n'est pas seule en cause, et que cet acide aminé basique ne paraît pas se combiner avec l'oxyhémoglobine comme le font les acides aminés « neutres ».

Si le mécanisme du phénomène reste encore mystérieux, son importance pratique n'en est pas moins considérable. Il a tout d'abord une signification physiologique évidente dans le transport des acides aminés : leur fixation dans les hématies constitue à l'intérieur des globules une sorte de réserve que la réduction de l'oxyhémoglobine pourra rendre disponible au niveau des tissus, c'est-à-dire précisément là où le besoin peut s'en faire sentir. Cette notion est également fondamentale pour l'appréciation correcte du taux normal de l'amino-acidémie. Celui-ci peut en effet varier sensiblement suivant le degré d'oxygénation du sang ; l'exemple numérique ci-dessous montre que les écarts observés ne sont pas négligeables.

	Plasma du sang Initial		Plasma du sang + O <sub>2</sub>		Plasma du sang + CO <sub>2</sub>	
	SO <sub>4</sub> H <sub>2</sub> N/280	N Aminé ug par ml	SO <sub>4</sub> H <sub>2</sub> N/280	N Aminé ug par ml	SO <sub>4</sub> H <sub>2</sub> N/280	N Aminé ug par ml
I	0,7	35	0,5	25	0,75	37
II	0,5	25	0,4	20	0,55	27
III	0,7	35	0,65	32	0,80	40
IV	0,65	32	0,55	27	0,80	40
V	0,80	40	0,60	30	0,85	42

La connaissance des échanges érythro-plasmiques d'acides aminés permettra d'autre part d'éviter de graves erreurs d'interprétation dans certaines expériences physiologiques, notamment quand on étudie le métabolisme d'un organe en comparant la composition du sang à l'entrée et à la sortie. Il est évident par exemple que la constatation d'un taux d'azote aminé plus élevé dans le sang efférent que dans le sang afférent ne signifie pas obligatoirement que des acides aminés ont été formés ou libérés au cours de la traversée de l'organe : en effet, la simple réduction de l'oxyhémoglobine consécutive à la respiration tissulaire peut suffire à rendre compte de l'enrichissement du plasma.

Il en est de même dans des expériences de perfusion d'organes isolés, comme celles que l'on trouvera décrites dans la seconde partie de notre travail. Si l'on veut que les variations de la teneur du plasma en amino-acide au cours de la perfusion puissent être interprétées correctement, il est indispensable de comparer entre eux soit les sangs « artérialisés », soit les sangs veineux, ou mieux encore de se placer toujours avant le dosage dans des conditions rigoureusement identiques : c'est pourquoi, avant de séparer par centrifugation le plasma des globules, nous traitons le sang par un courant de CO<sub>2</sub> à 37,5° pendant 15 minutes, de façon à réaliser les conditions où le taux plasmatique d'acide aminé est maximum, et la teneur des globules nulle ou négligeable.

Nous ne pouvons mieux illustrer ce que nous venons d'écrire qu'en rapportant les résultats d'une expérience choisie parmi beaucoup d'autres. Alors que le bilan général permet de conclure à une désamination de la D-alanine par le parenchyme rénal, atteignant au moins 25 p. 100 de la quantité ajoutée, la comparaison des taux « artériel » et « veineux » à la 90<sup>me</sup> minute révèle paradoxalement

une différence *en faveur du sang efférent*.

	Plasma du sang initial	Plasma du sang Artériel final	Plasma du sang Veineux final
1) Alanine en µg par ml de plasma	1359	1046	1098
2) Alanine en µg par ml de plasma	993	732	836

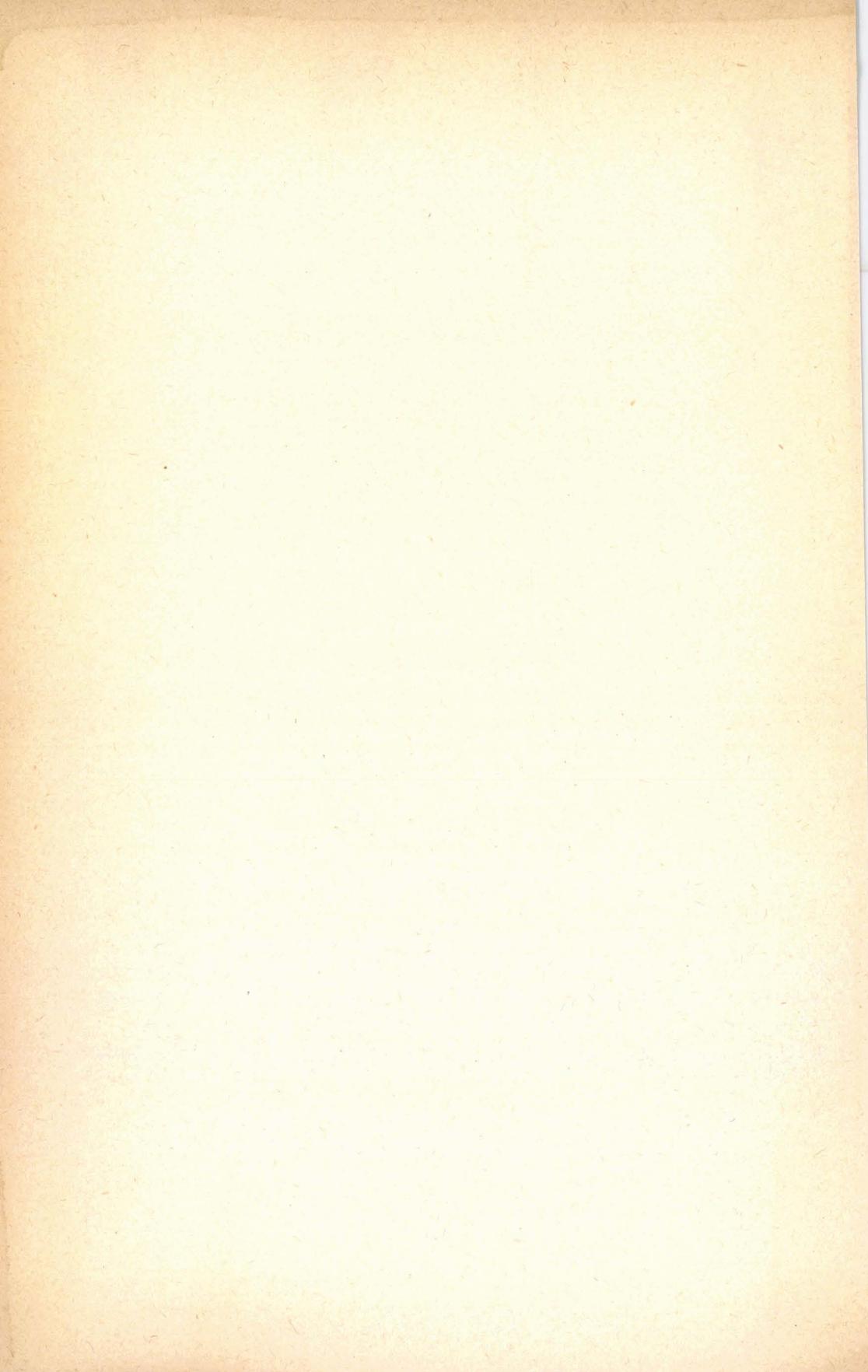
On voit donc que les rapports entre les échanges globulo-plasmatisques d'amino-acides et les échanges gazeux méritaient de retenir l'attention non seulement à cause de leur intérêt théorique mais aussi en raison de leur interférence dans le domaine de l'expérimentation physiologique et biochimique.

## DEUXIÈME PARTIE

---

Le comportement des D et L-amino-acides  
dans le rein perfusé

---



## I - Introduction

---

On sait que chez l'individu normal, l'élimination journalière de fortes quantités d'ammoniaque se trouve liée à l'excrétion de composés acides qui représentent l'équivalent d'environ 300 à 500 ml d'un acide N/10. Cette quantité peut d'ailleurs augmenter dans des proportions considérables, notamment au cours de l'acidose diabétique. Les travaux de NASH et BENEDICT [32] ont apporté la preuve de l'origine rénale de l'ammoniaque en montrant, par des dosages pratiqués simultanément sur le sang de l'artère et de la veine rénales, qu'il y avait toujours un excès d'ammoniaque dans le sang efférent du rein.

POLONOVSKI, BIZARD et BOULANGER [33] ont étudié les variations du taux de l'ammoniaque dans le sang artériel, le sang veineux rénal et l'urine chez le chien, après injection dans la circulation générale de quantités croissantes de sels ammoniacaux. On pouvait tout d'abord s'attendre à trouver un taux d'ammoniaque artificiellement très élevé dans l'artère rénale ; d'autre part, le rein n'ayant plus à jouer son rôle antiacidotique et recevant une grande quantité d'ammoniaque préformée, il était à prévoir, l'élimination urinaire continuant à s'effectuer normalement, que le taux d'ammoniaque dans le sang de la veine rénale serait alors plus bas que dans le sang afférent.

Il n'en a rien été et, contrairement à toute attente, l'écart entre les taux d'ammoniaque dans la veine et dans l'artère resta considérable. Ces expériences, répétées dans des conditions variées, ont toujours conduit à la même conclusion : quelle que soit la quantité d'ammoniaque introduite dans le sang artériel, le taux de l'ammoniac-

mie dans la veine rénale est toujours plus élevé.

POLONOVSKI, BIZARD et BOULANGER ont été amenés ainsi à envisager l'existence dans le sang circulant d'un composé ammoniogène, qui « dissimulerait » l'ammoniaque aux procédés de dosage classiques dans le sang artériel et le libérerait au cours de son passage dans le rein : c'est cette libération d'ammoniaque, de nature encore mystérieuse, qu'ils ont désignée par le terme d' « ammoniophanèrese ».

Les mêmes auteurs ont montré que cette faculté de libérer de l'ammoniaque n'était pas l'apanage exclusif du rein, mais qu'on la retrouvait au niveau du pancréas et qu'après injection d'un sel ammoniacal dans la circulation générale, le taux de l'ammoniaque dans la veine pancréatico-splénique était bien supérieur à celui du sang afférent, malgré une élimination notable par le suc pancréatique. C'est ce que fait ressortir le tableau suivant où, dans certaines expériences, le taux de l'ammoniaque dans la veine pancréatique est plus élevé même que dans la veine rénale.

	AMMONIEMIE en mg PAR LITRE		
	Artère fémorale	Veine rénale	Veine pancréatique
Normal	0,6	2,1	—
»	1,5	2,3	—
»	0,9	2,3	—
»	1,09	—	3,7
»	1,4	—	1,8
Après injection de $\text{CO}_3(\text{NH}_4)_2$	10,4	15,2	18,2
»	3,5	6,3	8,6
»	7,9	10,6	8,9
»	3,5	4,9	5,7

L'origine de l'ammoniaque formée dans le rein a fait l'objet de nombreuses discussions.

L'urée fut un moment considérée comme un précurseur possible de l'ammoniaque urinaire et en 1930 cette opinion avait encore ses défenseurs ; mais elle ne représentait qu'un essai d'explication et non la conclusion d'un fait expérimental.

KREBS [34] a donné une interprétation plus satisfaisante et

surtout mieux établie de cette apparition d'ammoniaque dans la veine rénale. On avait en effet déjà signalé (BORNSTEIN et ROESE) [35] que l'injection d'acides aminés dans la circulation générale était toujours suivie d'une élévation du taux de l'ammoniaque sanguine. KREBS, après avoir mis en évidence l'action ammoniogène des enzymes rénaux sur les acides aminés, étudia longuement *in vitro* le comportement des amino-acides soumis à l'action des enzymes du tissu rénal, dont il put isoler finalement la D-acidaminodéhydrase.

La présence de D-acidaminodéhydrase dans le tissu rénal de nombreux mammifères, son activité considérable *in vitro*, permettaient d'envisager la possibilité d'une origine D-amino-acide de l'ammoniaque rénale. C'était en effet avec les isomères non naturels des amino-acides que la formation d'ammoniaque *in vitro* sous l'action du parenchyme rénal (coupes minces ou homogénats) était la plus considérable. Ceci ressort avec évidence du Tableau suivant emprunté à KREBS [36] :

	Quantité de NH <sub>3</sub> formée en mm <sup>3</sup> par mg de tissu rénal et par heure
<i>Isomères naturels</i>	
L-alanine	3,36
L-valine	3,86
L-leucine	6,68
<i>Isomères non natur.</i>	
D-alanine	37,8
D-valine	57,8
D-leucine	34,9

Les recherches poursuivies *in vivo* ne devaient pas confirmer cette manière de voir : en effet, lorsqu'on fait ingérer ou que l'on injecte à des chiens des acides aminés racémiques ou des D-amino-acides, on retrouve dans les urines la majeure partie de l'isomère non naturel ; ce comportement a même été mis à profit pour la préparation de la forme D de l'acide aspartique, le lapin servant d'animal d'expérience. L'organisme paraît donc se débarrasser des formes non naturelles des amino-acides en les éliminant par l'urine bien plus qu'en les désaminant.

C'est ce que les recherches d'ABDERHALDEN et TETZNER

[37], de CORLEY [38] et ses collaborateurs, ont démontré, et le tableau ci-dessous reproduit quelques exemples des résultats obtenus.

	Quantité introduite (en g d'azote)	Quantité éliminée (en g d'azote)
DL-alanine	1,26	0,25
DL-alanine	2,35	0,52 (Uniquement sous forme non naturelle)
L-valine	0,60	0,00
D-valine	0,57	0,40
L-isoleucine	0,53	0,00
D-isoleucine	0,43	0,49

Il semblait donc y avoir au premier abord opposition complète entre le comportement des acides aminés non naturels en présence du tissu rénal isolé ou de la D-acidaminodéhydrase rénale purifiée et leur destinée dans l'organisme. Aussi a-t-on pu émettre des doutes quant à la similitude d'action *in vivo* et *in vitro* de la D-acidaminodéhydrase.

C'est POLONOVSKI, BIZARD et BOULANGER [39] qui ont pu démontrer l'existence d'une désamination oxydative chez l'animal « entier » et mettre en évidence le double processus de désamination et d'excrétion que subissent les isomères non naturels des amino-acides. Ces auteurs observèrent en effet que l'injection de la forme D ou racémique d'un amino-acide, notamment de l'alanine, était suivie immédiatement d'une accentuation considérable du phénomène qu'ils avaient décrit sous le nom d'ammoniophanèrèse. En effet, alors que l'injection de la forme D ou du racémique chez le chien est suivie d'une augmentation en flèche du taux de l'ammoniaque dans la veine rénale par rapport à celui de l'artère, l'injection de la forme naturelle au contraire n'entraîne guère qu'une légère élévation de l'ammoniémie rénale (voir tableau).

Alanine naturelle				
	N/NH <sub>3</sub> avant l'injection (en mg par litre)		N/NH <sub>3</sub> 2 min. après l'injection (en mg par litre)	
	Sang artériel rénal	Sang veineux rénal	Sang artériel rénal	Sang veineux rénal
Chien n° 181	0,8	1,6	1,5	2,3
183	1,2	2,4	2,8	4,0
186	-	-	2,3	3,1
Alanine racémique				
171	0,8	1,6	1,9	8,4
172	1,4	1,8	1,4	3,8
184	0,5	2,4	2,7	6,2
185	1,2	1,8	2,2	7,2
186	-	-	7,1	9,1

Il est donc établi que les D-amino-acides sont dans l'organisme et en particulier au niveau du rein, au moins partiellement désaminés ; les différents acides aminés étudiés se classent, lorsqu'on les range d'après l'intensité du phénomène, de la même façon que dans les expériences de KREBS [40] *in vitro*.

Dans le même ordre d'idées, BLISS [41] a constaté que l'hyperammoniémie provoquée chez le chien par ingestion d'acide chlorhydrique était accrue par administration simultanée d'alanine et de leucine et que l'élévation était plus forte avec les formes non naturelles de ces amino-acides.

Taux de l'ammoniaque éliminée dans l'urine après ingestion d'HCl 0,14 N et injection d'acidoamine

	N ammoniacal excrété en mg par heure	
	AVANT	APRES
L-alanine	6	15,6
»	7,9	17,1
»	8,7	26,2
»	7,5	19,6
D-alanine	6,3	25,2
»	12,8	28
»	13,3	30,6
»	7,8	19,7
»	10,1	25,9
L-leucine	9,9	21,9
»	20,4	29,9
»	15,2	25,9
D-leucine	9,3	25,2
»	10,4	21
»	9,9	23,1

(d'après Bliss)

POLONOVSKI, BIZARD et BOULANGER [42], continuant leurs recherches systématiques sur le comportement des acidoamines chez le chien ont conclu à l'impossibilité de définir une influence précise de la structure des acidoamines sur leur sort dans l'organisme. On constate simplement une concurrence entre les deux processus distincts de dégradation et d'excrétion des D-acidoamines. D'ailleurs, si l'excrétion l'emporte parfois nettement sur la désamination, celle-ci cependant n'est jamais nulle, même dans le cas de la D-lysine.

Enfin, les travaux de SCHÖNHEIMER et de ses collaborateurs [43], effectués avec des acidoamines marqués par du deutérium et par de l'azote lourd, sont venus confirmer d'une façon définitive les notions précédemment acquises sur le comportement des acidoamines D dans l'organisme. Après ingestion de D-leucine ou de D-lysine contenant de l'azote N<sup>15</sup>, on retrouve dans les protéines de l'organisme une fraction appréciable de l'azote isotopique, qu'une désamination préalable des acidoamines précités a rendu disponible pour de nouvelles synthèses (voir le tableau ci-dessous).

D'autre part, si l'on peut isoler de l'urine une fraction importante de l'acide D, éliminé tel quel, on constate également la présence dans l'ammoniaque urinaire d'une concentration élevée d'azote lourd, très supérieure à celle que l'on décèle dans l'urée excrétée ; ce fait, tout en écartant définitivement la possibilité d'une origine uréique de l'ammoniaque formée dans le rein, est en accord avec une désamination directe des D-amino-acides prédominant au niveau du parenchyme rénal lui-même (1).

#### D-leucine

*Fraction de l' $N^{15}$  ingéré retrouvée dans :*

Urine	58,3	p. 100
Matières fécales	1,7	p. 100
N non protéique	11,7	p. 100
N protéique (2)	34,4	p. 100

*Concentration de  $N^{15}$  dans :*

		(L-leucine)
Urée urinaire	4,19 p. 100	(2,43 p. 100)
Ammoniaque urinaire	15,76 p. 100	(2,90 p. 100)
N total (3) urinaire	4,77 p. 100	(2,30 p. 100)

#### D-lysine

*Fraction de l' $N^{15}$  ingéré retrouvée dans :*

Urine	69,1	p. 100
Matières fécales	1,5	p. 100
N non protéique	5,5	p. 100
N protéique (dans les acides aminés autres que la lysine)	21,4	p. 100

*Concentration de  $N^{15}$  dans :*

		(L-lysine)
Urée urinaire	1,0 p. 100	(2,4 p. 100)
Ammoniaque urinaire	4,3 p. 100	(2,6 p. 100)
N total (3) urinaire	5,8 p. 100	(2,1 p. 100)

(1) Nous n'envisagerons pas ici la formation d'ammoniaque dans le rein aux dépens de la glutamine, dont la démonstration a été donnée par l'École de van Slyke ; il s'agit en effet d'un aspect de la question qui sort du cadre de notre travail.

(2) L'azote lourd est réparti dans la plupart des acides aminés constituant des protéines.

(3) Le pourcentage plus élevé dans l'N total, que l'on ne constate pas après ingestion de L-leucine ni de L-lysine, s'explique, surtout dans le cas de la lysine, par l'élimination d'une fraction non modifiée de l'isomère D isotopique original ; on a réalisé l'isolement et l'identification de la D-lysine urinaire ; cette fraction excrétée directement est égale à 50 p. 100 environ de la dose ingérée.

Dans le cadre général des recherches réalisées au Laboratoire de Chimie Biologique de la Faculté de Médecine de Lille sur la signification physiologique de la D-acidaminodéhydrase, nous avons pensé qu'il serait intéressant d'aborder la question de la destinée des D-amino-acides au moyen d'une technique présentant à la fois les avantages de la méthode des coupes ou des extraits *in vitro*, c'est-à-dire surtout le contact prolongé entre le tissu ou l'enzyme et le substrat, et ceux de l'expérimentation sur l'animal intact, qui fait intervenir la totalité de l'organe et n'exclut pas la fonction excrétrice. La perfusion rénale réalisée sur le rein du chien, grâce au dispositif et selon la technique décrits par P. BOULANGER et R.A. GRIFFIÉ [44], nous a semblé répondre à ces conditions : c'est ainsi notamment que la faible quantité de sang nécessaire à l'opération garantissait l'action prolongée du parenchyme rénal sur l'acide aminé étudié.

Le liquide de perfusion n'est autre que le sang de l'animal lui-même, recueilli sur 10 p. 100 de son volume d'une solution de citrate de sodium à 10 p. 100 ou hépariné, et additionné de 200 à 300 mg de l'amino-acide envisagé.

Dans certaines expériences témoins, et pour éviter les variations dues aux échanges globulo-plasmatiques, on s'est servi de liquide de RINGER-KREBS comme liquide de perfusion.

Les prélèvements de sang sont effectués quelques minutes après la mise en route de la circulation artificielle (pour éviter toute cause d'erreur consécutive à la dilution par le sérum physiologique citraté restant dans l'appareil après lavage, et dans le rein lui-même), puis à des intervalles variables au cours de l'opération. Nous avons plusieurs fois comparé le sang « veineux » efférent du rein au sang « artériel » sortant de l'appareil après brassage et oxygénation.

Le taux d'acide D-aminé est déterminé par la formation d'ammoniaque et la consommation d'oxygène sous l'action de la D-acidaminodéhydrase, dans le dispositif manométrique de WARBURG, ainsi que nous l'avons exposé dans la première partie. Lorsqu'il s'agit d'un acide aminé naturel, il est dosé par la méthode à l'hypochlorite de M. POLONOVSKI [45] ou par une méthode spécifique. Les mêmes dosages sont effectués sur les urines sécrétées pendant l'expérience.

## II - RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX

### 1° D-ALANINE

EXPERIENCE DU 18/2/48. —

Chien 5 Kg.

Perfusion du rein avec 100 ml de sang additionnés de 10 ml d'une solution de citrate de sodium à 10 p. 100 et de 250 mg de D-alanine dissous dans 10 ml de soluté physiologique citraté.

Durée de l'expérience : deux heures.

La circulation satisfaisante au début, se ralentit progressivement.

Prises de sang afférent initiale et au bout de 60 et 120 min..

Prise de sang efférent au bout de 120 min..

On recueille en fin d'expérience 5,5 ml d'une urine hématique.

Le rein pesait, après l'expérience, 17,5 g.

	Sang afférent initial		Sang afférent 60 min.		Sang afférent 120 min.		Sang efférent 120 min.	
	T.	S + D-AAAD	T.	S + D-AAAD	T.	S + D-AAAD	T.	S + D-AAAD
O <sub>2</sub> en µg par ml de plasma	6	277	11	229	2	198	7	(276)*
NH <sub>3</sub> en µg par ml de plasma	7	217		174	18	158	44	97
Alanine en µg par ml de plasma	<b>1234</b>		<b>910</b>		<b>878</b>		<b>507</b>	

(\*) Voir note de la page 23.

URINE

NH <sub>3</sub> libre en µg par ml d'urine	NH <sub>2</sub> D-AAD en µg par ml d'urine	Alanine en µg par ml d'urine	Alanine totale excrétée en mg
28	147	768	<b>4.2</b>

Le rein a métabolisé pendant les deux heures de l'expérience environ les deux tiers de l'acide aminé ajouté et en a éliminé une très faible partie par l'urine.

EXPERIENCE DU 25/2/48. —

Chien 11 Kg.

Perfusion du rein avec 105 ml de sang additionnés de 10 ml d'une solution de citrate de sodium à 10 p. 100 et de 250 mg de D-alanine dissous dans 10 ml de soluté physiologique citraté.

Durée de l'expérience : 90 min..

Le débit, très rapide au début, se ralentit progressivement : 15 ml en 14 sec. les premières 15 min. ; 15 ml en 35 sec. au bout de 45 min.

Prises de sang afférent initiale et après 45 et 90 min..

On recueille après 35 min., 14 ml d'urine claire et non hématurique, puis 9 autres ml en fin d'expérience. Le rein pesait 29 g.

	Sang afférent 5 min.		Sang afférent 45 min.		Sang afférent 90 min.		Sang efférent 90 min.	
	T.	S + D-AAD	T.	S + D-AAD	T.	S + D-AAD	T.	S + D-AAD
O <sub>2</sub> en µg par ml de plasma	0	292	0	280	0	(301)	0	(268)
NH <sub>3</sub> en µg par ml de plasma	18	340	19	230	30	160	97	150
Alanine en µg par ml de plasma	<b>1778</b>		<b>1202</b>		<b>836</b>		<b>784</b>	

URINE

	NH <sub>3</sub> libre en µg par ml d'urine	NH <sub>3</sub> D-AAD en µg par ml d'urine	Alanine en µg par ml d'urine	Alanine totale excrétée en mg
Urine 0 à 35 min.	51	280	1464	<b>20.5</b>
Urine 35 à 80 min.	<b>54</b>	270	1412	<b>12.7</b>



On recueille en fin d'expérience 14 ml d'urine.

Le rein pesait 22 g.

	Liquide afférent initial		Liquide efférent initial		Liquide afférent 90 min		Liquide efférent 90 min	
	T.	L + D-AAD	T.	L + D-AAD	T.	L + D-AAD	T.	L + D-AAD
O <sub>2</sub> en µg par ml de plasma	0	205	0	209	3	156	2	174
NH <sub>3</sub> en µg par ml de plasma	6	190	8	170	40	140	45	160
Alanine en µg par ml de plasma	<b>993</b>		<b>889</b>		<b>732</b>		<b>836</b>	

#### URINE

NH <sub>3</sub> libre en µg par ml d'urine	NH <sub>3</sub> D-AAD en µg par ml d'urine	Alanine en µg par ml d'urine	Alanine totale excrétée en mg
36	160	836	<b>11.70</b>

#### EXPERIENCE DU 8/7/48. —

Chien 5 Kg.

Perfusion du rein avec 110 ml de sang hépariné et additionné de 150 mg de D-alanine dissous dans 10 ml de liquide de Krebs.

Durée de l'expérience : 80 min..

Débit faible.

Prises de sang afférent initiale et finale.

Prise de sang efférent finale.

On recueille en fin d'expérience une très faible quantité d'urine.

Le rein pesait 19 g.

	Sang afférent initial		Sang afférent 90 min.		Sang efférent 90 min.	
	T.	S + D-AAD	T.	S + D-AAD	T.	S + D-AAD
O <sub>2</sub> en µg par ml de plasma	6	306	4	213	11	204
NH <sub>3</sub> en µg par ml de plasma	7,2	260	18	200	28	210
Alanine en µg par ml de plasma	<b>1359</b>		<b>1046</b>		<b>1098</b>	

EXPERIENCE DU 13/7/48. —

Chienne 4,5 Kg.

Perfusion du rein avec 80 ml de sang additionnés de 10 ml d'une solution de citrate de sodium à 10 p. 100 et de 300 mg de D-alanine dissous dans 15 ml de liquide de Krebs. On ajoute 20 autres ml de liquide de Krebs.

Durée de l'expérience : 55 min..

La circulation est satisfaisante pendant toute l'expérience (15 ml en 20 sec.).

Prises de sang afférent et efférent initiales et après 55 min..

On recueille 28 ml d'urine après 25 min. de perfusion, puis 11,75 nouveaux ml en fin d'expérience.

Le rein pesait 21 g.

	Sang afférent initial		Sang efférent initial		Sang afférent final		Sang efférent final	
	T.	S + D-AAD	T.	S + D-AAD	T.	S + D-AAD	T.	S + D-AAD
O <sub>2</sub> en µg par ml de plasma	1	272	5	253	2	138	0	134
NH <sub>3</sub> en µg par ml de plasma	4	240	6	200	22	130	27	100
Alanine en µg par ml de plasma	<b>1255</b>		<b>1046</b>		<b>679</b>		<b>523</b>	

URINE

	NH <sub>3</sub> libre en µg par ml d'urine	H <sub>3</sub> D-AAD en µg par ml d'urine	Alanine en µg par ml d'urine	Alanine totale excrétée en mg
Urine 25 min.	30	280	1464	<b>30,8</b>
Urine 55 min.	31	240	1249	<b>14,6</b>

En dépit d'une élimination relativement considérable, de l'ordre du cinquième de la quantité totale d'acide aminé, on constate une désamination intense, qui atteint au moins une quantité d'alanine double de celle excrétée dans l'urine.

EXPERIENCE DU 5/12/46. —

Chien 11 Kg.

Perfusion du rein avec 110 ml de sang citraté et additionnés de 75 ml de soluté physiologique citraté auxquels après la prise initiale on ajoute 250 mg de D-alanine dissous dans 15 ml de soluté physiologique.

Durée de l'expérience : 60 min..

Prises de sang afférent avant l'addition d'alanine et après 30 et 60 min.

Le rein en fin d'expérience pesait 71 g.

	Sang initial (avant l'addition d'alanine)		Sang afférent 30 min.		Sang afférent 60 min.	
	S.T.	S + D-AAD	S.T.	S + D-AAD	S.T.	S + D-AAD
O <sub>2</sub> en µg par ml de plasma	10	(143)	12	185	6	(225)
NH <sub>3</sub> en µg par ml de plasma	4	0	39	118	53	81
Alanine en µg par ml de plasma			<b>618</b>		<b>424</b>	

EXPERIENCE DU 12/12/46. —

Chien 4,5 Kg.

Perfusion du rein avec 82 ml de sang additionnés de 60 ml de sérum physiologique citraté et de 8 ml d'une solution de citrate de sodium à 10 p. 100.

Après une première prise, on ajoute 250 mg de D-alanine dissous dans 15 ml de soluté physiologique.

Durée de l'expérience : 90 minutes.

Le débit, très rapide au début, se ralentit progressivement pour devenir presque nul dans les dernières 20 min..

Prises de sang avant l'addition d'alanine et afférent après 20, 60 et 90 min..

On recueille 1,8 ml d'urine initiale avant l'addition d'alanine, puis 5 ml pendant la première heure de perfusion, puis 4,8 autres ml pendant la dernière demie-heure.

Le rein pesait 26 g.

Les dosages dans l'urine sont faits par la méthode à l'hypochlorite.

	Sang initial (avant l'addition d'alanine)		Sang afférent 20 min.		Sang afférent 60 min.		Sang afférent 90 min.	
	S.T.	S + D-AAD	S.T.	S + D-AAD	S.T.	S + D-AAD	S.T.	S + D-AAD
O <sub>2</sub> en µg par ml de plasma	14	0	12	238	20	216	12	113
NH <sub>3</sub> en µg par ml de plasma	7	0	7	290	12	228	14	201
Alanine en µg par ml de plasma			<b>1518</b>		<b>1193</b>		<b>1047</b>	

#### URINE

	NH <sub>3</sub> libre en µg par ml d'urine	NH <sub>3</sub> D-AAD en µg par ml d'urine	Alanine en µg par ml d'urine	Alanine totale excrétée en mg
Urine avant l'addition d'alanine	9	24		
Urine 60 min.	28	98	512	<b>2.5</b>
Urine 120 min.	32	168	878	<b>4.2</b>

EXPERIENCE DU 17/12/46. —

Chien 5,5 Kg.

Perfusion du rein avec 80 ml de sang additionnés de 8 ml d'une solution de citrate de sodium à 10 p. 100 et de 30 ml de solution de Krebs.

Après une première prise de sang qui servira de témoin, on ajoute 250 mg de D-alanine dissous dans 8 ml de liquide de Krebs.

Durée de l'expérience : 30 min..

Le débit est satisfaisant pendant toute l'expérience.

Prises de sang afférent initiale avant l'addition d'alanine et après 5 et 30 min..

Pas d'urine.

Le rein pesait 28 g.

	Sang initial (avant l'addition d'alanine)		Sang afférent 5 min.		Sang afférent 30 min.	
	S.T.	S + D-AAD	S.T.	S + D-AAD	S.T.	S + D-AAD
O <sub>2</sub> en µg par ml de plasma	10	0	14	437	14	276
NH <sub>3</sub> en µg par ml de plasma	42	69	85	221	88	157
Alanine en µg par ml de plasma			<b>1156</b>		<b>827</b>	

EXPERIENCE DU 14/2/49. —

Chien 7 Kg.

Perfusion du rein avec 80 ml de sang additionnés de 8 ml d'une solution de citrate de sodium à 10 p. 100 et de 250 mg de D-alanine dissous dans 38 ml de liquide de Krebs.

Durée de l'expérience 63 min..

La circulation reste satisfaisante pendant toute l'expérience.

Prises de sang afférent 20, 55 et 63 min. après l'addition de l'alanine.

On recueille en fin d'expérience 5 ml d'urine.

Le rein pesait 25,5 g.

	Sang afférent 20 min.		Sang afférent 55 min.		Sang afférent 65 min.	
	T.	S + D-AAD	T.	S + D-AAD	T.	S + D-AAD
O <sub>2</sub> en µg par ml de plasma	10	231	20	143	14	121
NH <sub>3</sub> en µg par ml de plasma	87	250	100	187	82	175
Alanine en µg par ml de plasma	<b>1308</b>		<b>979</b>		<b>916</b>	

URINE

NH <sub>3</sub> libre en µg par ml d'urine	NH <sub>3</sub> D-AAD en µg par ml d'urine	Alanine en µg par ml d'urine	Alanine totale excrétée en mg
120	180	941	<b>4.70</b>

La consommation d'oxygène baisse de moitié ; les variations de l'ammoniaque D-acidaminodéhydrasique sont parallèles à celles de la respiration. Excrétion négligeable.

EXPERIENCE DU 10/3/47. —

Chienne 6,5 Kg.

Perfusion du rein avec 90 ml de sang additionnés de 10 ml de citrate de sodium à 10 p. 100 et 250 mg de D-alanine dissous dans 35 ml de soluté physiologique.

Durée de l'expérience : 40 min..

La circulation reste satisfaisante pendant toute l'expérience..

Prises de sang afférent initiale et après 25 et 40 min..

On recueille en fin d'expérience 6,5 ml d'urine non hématique.

Le rein pesait 31 g.

	Sang afférent initial		Sang afférent 25 min.		Sang afférent 40 min.	
	T.	S + D-AAD	T.	S + D-AAD	T.	S + D-AAD
O <sub>2</sub> en µg par ml de plasma	23	290	21	207	20	178
NH <sub>3</sub> en µg par ml de plasma	7	157	22	78	33	58
Alanine en µg par ml de plasma	<b>821</b>		<b>409</b>		<b>303</b>	

URINE

NH <sub>3</sub> libre en µg par ml d'urine	NH <sub>3</sub> D-AAD en µg par ml d'urine	Alanine en µg par ml d'urine	Alanine totale excrétée en mg
20	31	162	<b>1.06</b>

EXPERIENCE DU 6/6/47. —

Chien 5,5 Kg.

Perfusion du rein avec 160 ml de soluté physiologique citraté contenant en dissolution 200 mg de D-alanine.

Durée de l'expérience : 80 min..

Circulation satisfaisante.

Prises de liquide afférent initiale et finale.

On recueille en fin d'expérience 24,6 ml d'urine limpide.

Le rein pesait 24,7 g.

	Liquide afférent initial		Liquide afférent final	
	T.	L + D-AAD	T.	L + D-AAD
O <sub>2</sub> en µg par ml de liquide	8	303	7	144
NH <sub>3</sub> en µg par ml de liquide	7	214	33	159
Alanine en µg par ml de liquide	<b>1120</b>		<b>832</b>	

URINE

NH <sub>3</sub> libre en µg par ml d'urine	NH <sub>3</sub> D-AAD en µg par ml d'urine	Alanine en µg par ml d'urine	Alanine totale excrétée en mg
30	162	847	<b>20.8</b>

La désamination est normale, l'ammoniaque préformée quintuple en 80 min. ; la diminution de l'alanine est plus faible que lorsqu'on utilise le sang total. L'excrétion par l'urine concurrence de façon non négligeable le processus désaminant. Néanmoins, lorsqu'on élimine toute intervention du sang lui-même par l'utilisation de sérum physiologique comme liquide perfusant, on constate encore une disparition partielle de l'amino-acide.

EXPERIENCE DU 31/5/47. —

Chien 3,5 Kg.

Perfusion du rein avec 90 ml de sang additionnés de 10 ml d'une solution de citrate de sodium à 10 p. 100 et de 250 mg de D-alanine dissous dans 35 ml de soluté physiologique.

Durée de l'expérience : 90 min..

La circulation se ralentit dès la première demie heure et il en résulte une

surpression non négligeable.

Prises de sang afférent initiale et après 90 min..

Prise de sang efférent après 90 min..

On recueille en fin d'expérience une trop faible quantité d'urine pour permettre les dosages habituels.

Le rein pesait 18 g.

	Sang afférent initial		Sang afférent 90 min.		Sang efférent 90 min.	
	T.	S + D-AAD	T.	S + D-AAD	T.	S + D-AAD
O <sub>2</sub> en µg par ml de plasma	0	318	3	237	2	248
NH <sub>3</sub> en µg par ml de plasma	7	249	20	234	24	212
Alanine en µg par ml de plasma	<b>1302</b>		<b>1224</b>		<b>1109</b>	

## 2° L-ALANINE

EXPERIENCE DU 21/3/47. —

Chien 3,5 Kg.

Pérfusion du rein avec 85 ml de sang additionnés de 8 ml de citrate de sodium à 10 p. 100 et de 250 mg de l-alanine dissous dans 40 ml de soluté physiologique.

Durée de l'expérience : 90 min..

Circulation parfaite.

Prises de sang afférent initiale et après 20, 45 et 90 min..

On recueille en fin d'expérience 5,2 ml d'urine parfaitement claire.

Le rein pesait 30 g.

	Sang afférent initial	Sang afférent 20 min.	Sang afférent 45 min.	Sang afférent 90 min.
NH <sub>3</sub> hypochlorite en µg par ml de plasma	367	360	360	352
Alanine correspondante en µg par ml de plasma	<b>1922</b>	<b>1884</b>	<b>1884</b>	<b>1842</b>

URINE

NH <sub>3</sub> libre en µg par ml d'urine	NH <sub>3</sub> hypochlorite en µg par ml d'urine	Alanine en µg par ml d'urine	Alanine totale excrétée en mg
96	330	1727	<b>8.98</b>

On note une *très faible* diminution de l'aminoacide, qu'explique d'une part l'excrétion dans l'urine (où d'ailleurs le taux n'est pas plus élevé que dans le plasma : défaut de concentration), d'autre part la diffusion dans le tissu rénal.

EXPERIENCE DU 28/3/47. —

Chien 5,5 Kg.

Perfusion du rein avec 90 ml de sang additionnés de 9 ml d'une solution de citrate de sodium à 10 p. 100 et de 250 mg de L-alanine dissous dans 35 ml de soluté physiologique citraté.

Durée de l'expérience : 90 min..

Circulation satisfaisante.

Prises de sang afférent initiale et après 30, 60 et 90 min..

On recueille 0,4 ml d'urine.

Le rein pesait après expérience 22 g.

	Sang afférent initial	Sang afférent 30 min.	Sang afférent 60 min.	Sang afférent 90 min.
NH <sub>3</sub> hypochlorite en µg par ml de plasma	358	330	300	358
Alanine en µg par ml de plasma	<b>1874</b>	<b>1727</b>	<b>1570</b>	<b>1874</b>

URINE

NH <sub>3</sub> libre en µg par ml d'urine	NH <sub>3</sub> hypochlorite en µg par ml d'urine	Alanine en µg par ml d'urine	Alanine totale excrétée en mg
360	426	2230	<b>0.892</b>

La diminution de l'amino-acide au cours de la perfusion est faible. On remarque en fin d'expérience une élévation du taux d'azote aminé en rapport probablement avec une autolyse tissulaire.

Excrétion urinaire négligeable.

EXPERIENCE DU 31/3/47. —

Chienne 6 Kg.

Perfusion du rein avec 90 ml de sang recueillis sur 10 ml d'une solution de citrate de sodium à 10 p. 100 et additionnés de 250 mg de L-alanine dissous dans 35 ml de soluté physiologique citraté.

Durée de l'expérience : 60 min..

Prises de sang afférent initiale et après 15, 25 et 60 min..

On recueille après 25 min. 2 ml d'urine claire et dans les dernières 35 min. 0,4 ml d'urine hématique.

Le rein pesait 26 g.

	Sang afférent initial	Sang afférent 15 min.	Sang afférent 25 min.	Sang afférent 60 min.
NH <sub>3</sub> hypochlorite en µg par ml de plasma	367	360	360	352
Alanine en µg par ml de plasma	<b>1922</b>	<b>1884</b>	<b>1884</b>	<b>1842</b>

URINE 0 A 25 MIN.

NH <sub>3</sub> libre en µg par ml d'urine	NH <sub>3</sub> hypochlorite en µg par ml d'urine	Alanine en µg par ml d'urine	Alanine totale excrétée en mg
110	370	1935	<b>3.87</b>

EXPERIENCE DU 14/5/47. —

Chienne 7 Kg.

Perfusion du rein avec 100 ml de sang additionnés de 10 ml d'une solution de citrate de sodium à 10 p. 100 et de 250 mg de L-alanine dissous dans 40 ml de soluté physiologique.

Durée de l'expérience : 75 min..

Prise de sang initiale avant mise en circulation du rein.

Prises de sang afférent et efférent après mise en circulation du rein, après 30 et 75 min..

On recueille dans la première demie heure 12 ml d'urine non hématique et dans la seconde partie 4,8 ml d'urine légèrement hématique.

Le rein pesait 31 g.

	Sang initial avant mise en circulation du rein	Sang afférent 15 min.	Sang afférent 30 min.	Sang afférent 75 min.
NH <sub>3</sub> hypo- chlorite en µg par ml de plasma	262	262	240	225
Alanine en µg par ml de plasma	<b>1371</b>	<b>1371</b>	<b>1256</b>	<b>1177</b>

	Sang efférent 15 min.	Sang efférent 30 min.	Sang efférent 75 min.
NH <sub>3</sub> hypo- chlorite en µg par ml de plasma	217	202	217
Alanine en µg par ml de plasma	<b>1136</b>	<b>1057</b>	<b>1136</b>

#### URINE

	NH <sub>3</sub> libre en µg par ml d'urine	NH <sub>3</sub> hypo- chlorite en µg par ml d'urine	Alanine en µg par ml d'urine	Alanine totale excrétée en mg
Urine 0 à 30 min.	27	207	1083	<b>13.01</b>
Urine 30 à 75 min.	18	204	1067	<b>5.12</b>

### 3° D-PHENYLALANINE

EXPERIENCE DU 3/3/48. —

Chienne 7 Kg.

Perfusion du rein avec 120 ml de sang additionnés de 10 ml d'une solution de citrate de sodium à 10 p. 100 et de 300 mg de D-phénylalanine dissous dans 20 ml de soluté physiologique.

Durée de l'expérience : 85 min..

Le débit d'abord moyen (15 ml en 76 sec.), se ralentit progressivement pour tomber vers la fin à 15 ml en 3 minutes.

Prises de sang afférent initiale, au bout de 45 et 60 min..

Prise de sang efférent au bout de 85 min..

On recueille au bout de 45 min., 4 ml d'urine.

Le rein pesait après l'expérience 28 g.

	Sang afférent initial		Sang afférent 45 min.		Sang afférent 60 min.		Sang efférent 85 min.	
	T.	S + D-AAD						
O <sub>2</sub> en µg par ml de plasma	0	252	0	173	2	203	0	172
NH <sub>3</sub> en µg par ml de plasma	12	114	15	99	22	87	42	90
Phénylalanine en µg par ml de plasma	<b>1105</b>		<b>961</b>		<b>843</b>		<b>873</b>	

#### URINE

NH <sub>3</sub> libre en µg par ml d'urine	NH <sub>3</sub> D-AAD en µg par ml d'urine	Phénylalanine en µg par ml d'urine	Phénylalanine totale excrétée en mg
45	181	1755	<b>7.10</b>

Le comportement de la phénylalanine est analogue à celui de l'alanine. L'excrétion est faible, probablement par suite du faible débit sanguin ; la fraction métabolisée reste ici encore beaucoup plus importante.

#### EXPERIENCE DU 10/3/48. —

Chien 8,4 Kg.

Perfusion du rein avec 130 ml de sang additionnés de 10 ml d'une solution de citrate de sodium à 10 p. 100 et de 300 mg de D-phénylalanine dissous dans 20 ml de soluté physiologique.

Durée de l'expérience : 80 min..

Le débit très rapide au début (15 ml en 25 sec.) se ralentit peu à peu pour atteindre 15 ml en 3 min. en fin d'expérience.

Prises de sang afférent initiale, après 45 et 80 min..

On recueille au bout de 45 min. 4,3 ml d'urine claire et non hématique.

De 45 min. à la fin on recueille 0,6 ml d'urine hématique, quantité insuffisante pour permettre les dosages habituels.

Le rein pesait 34 g.

	Sang afférent initial		Sang afférent 45 min.		Sang afférent 80 min.	
	T.	S + D-AAD	T.	S + D-AAD	T.	S + D-AAD
O <sub>2</sub> en µg par ml de plasma	2	152	1	114	0	106
NH <sub>3</sub> en µg par ml de plasma	63	87	78	75	102	36
Phénylalanine en µg par ml de plasma	<b>843</b>		<b>727</b>		<b>349</b>	

URINE

NH <sub>3</sub> libre en µg par ml d'urine	NH <sub>3</sub> D-AAD en µg par ml d'urine	Phénylalanine en µg par ml d'urine	Phénylalanine totale excrétée en mg
159	110	1060	<b>4.55</b>

EXPERIENCE DU 22/3/48. —

Chienne 5 Kg.

Perfusion du rein avec 90 ml de sang additionnés d'une solution de citrate de sodium à 10 p. 100 et de 300 mg de D-phénylalanine dissous dans 30 ml de solution physiologique.

Durée de l'expérience : 52 min..

Le débit rapide au début (15 ml en 60 sec.) après 15 min. se ralentit de plus en plus.

Prises de sang afférent initiale et après 52 min..

Pas d'urine.

Le rein pesait après l'expérience 27 g.

	Sang afférent initial		Sang afférent 52 min.	
	T.	S + D-AAD	T.	S + D-AAD
O <sub>2</sub> en µg par ml de plasma	0	(168)	0	198
NH <sub>3</sub> en µg par ml de plasma	12	312	18	234
Phénylalanine en µg par ml de plasma	<b>3026</b>		<b>2269</b>	

Malgré une circulation ralentie, et une élimination urinaire nulle, le taux de phénylalanine métabolisé par le rein atteint le tiers de la quantité d'aminoacide ajoutée.

EXPERIENCE DU 2/4/48. —

Chien 7 Kg.

1) Perfusion du rein gauche avec 100 ml de sang additionnés de 10 ml d'une solution de citrate de sodium à 10 p. 100 et de 300 mg de D-phénylalanine dissous dans 20 ml de soluté physiologique citaté.

Durée de l'expérience : 75 min..

Le débit satisfaisant au début se ralentit peu à peu pour atteindre au bout de 30 minutes 15 ml en 3 min. 15 sec.. La circulation cesse presque au bout de 75 min..

Prises de sang afférent initiale et après 75 min..

Le rein gauche pesait après l'expérience 28 g.

Pas d'urine.

	Sang afférent initial		Sang afférent 75 min.	
	T.	S + D-AAD	T.	S + D-AAD
O <sub>2</sub> en µg par ml de plasma	5	168	5	171
NH <sub>3</sub> en µg par ml de plasma	7	151	10	99
Phénylalanine en µg par ml de plasma	<b>1464</b>		<b>961</b>	

II) Avec le sang restant on irrigue le rein droit.

Durée de l'expérience : 45 min..

La circulation faible dès le début (15 ml en 2 min. 10 sec.) se maintient sensiblement constante jusque la fin.

Pas d'urine.

Prises de sang artériel initiale et finale.

Le rein pesait 30 g après l'expérience.

#### SECOND REIN

	Sang afférent initial		Sang afférent 45 min.	
	T.	S + D-AAD	T.	S + D-AAD
O <sub>2</sub> en $\mu\text{g}$ par ml de plasma	5	200	1	173
NH <sub>3</sub> en $\mu\text{g}$ par ml de plasma	12	3	12	59
Phénylalanine en $\mu\text{g}$ par ml de plasma	<b>805</b>		<b>572</b>	

Une désamination des deux tiers de la quantité initiale d'acide aminé, tel est le bilan d'une expérience prolongée pendant deux heures sans élimination d'urine.

#### EXPERIENCE DU 14/4/48. —

Chiienne 6 Kg.

Perfusion du rein avec 110 ml de sang additionnés de 10 ml d'une solution de citrate de sodium à 10 p. 100 et de 300 mg de D-phénylalanine dissous dans 20 ml de soluté physiologique citraté.

Durée de l'expérience : 2 heures.

Le débit très rapide au début s'accélère au cours de la perfusion. Il se ralentit faiblement vers la fin de la deuxième heure.

Prises de sang afférent initiale et finale.

On recueille à la fin de la première heure 4 ml d'urine et à la fin de la perfusion 2,4 autres ml d'urine.

Le rein pesait en fin d'expérience 35 g.

	Sang afférent initial		Sang afférent 120 min.	
	T.	S + D-AAD	T.	S + D-AAD
O <sub>2</sub> en µg par ml de plasma	0	116	0	123
NH <sub>3</sub> en µg par ml de plasma	15	102	24	84
Phénylalanine en µg par ml de plasma	<b>989</b>		<b>814</b>	

### URINE

	NH <sub>3</sub> libre en µg par ml d'urine	NH <sub>3</sub> D-AAD en µg par ml d'urine	Phénylalanine en µg par ml d'urine	Phénylalanine totale excrétée en mg
Urine 0 à 60 min.	25	141	1353	<b>4.32</b>
Urine 60 à 120 min.	33	130	1248	<b>3.0</b>

#### EXPERIENCE DU 21/4/48. —

Chien 5 Kg.

Perfusion du rein avec 100 ml de sang additionnés de 10 ml d'une solution de citrate de sodium à 10 p. 100 et de 300 mg de D-phénylalanine dissous dans 20 ml de soluté physiologique citraté.

Durée de l'expérience : 2 heures.

Le débit rapide dès le début se maintient jusqu'à la fin.

Prises de sang artériel initiale, après 60 et 120 min..

On recueille 1 ml d'urine.

	Sang afférent initial		Sang afférent 60 min.		Sang afférent 120 min.	
	T.	S + D-AAD	T.	S + D-AAD	T.	S + D-AAD
O <sub>2</sub> en µg par ml de plasma	7	208	8	148	2	165
NH <sub>3</sub> en µg par ml de plasma	13	128	18	102	30	86
Phénylalanine en µg par ml de plasma	<b>1241</b>		<b>989</b>		<b>834</b>	

Le bilan est le suivant : le tiers de l'aminoacide ajouté est métabolisé. Une très faible partie est éliminée par l'urine.

#### 4° L-PHENYLALANINE

EXPERIENCE DU 19/5/48. —

Chien 8 Kg.

Perfusion du rein avec 110 ml de sang additionnés de 10 ml d'une solution de citrate de sodium à 10 p. 100 et de 300 mg de L-phénylalanine dissous dans 25 ml de soluté physiologique.

Durée de l'expérience : 90 min..

Le débit initial très rapide se ralentit peu à peu mais reste satisfaisant.

Prise de sang avant mise en circuit du rein.

Prises de sang afférent après 5, 60 et 90 min..

On recueille au bout d'une heure 11 ml d'urine claire et en fin d'expérience 8 autres ml d'urine légèrement hématique.

Le rein pesait 33 g.

	Sang avant mise en circuit	Sang afférent 5 min.	Sang afférent 60 min.	Sang afférent 90 min.
NH <sub>3</sub> hypochlorite en µg par ml de plasma	172	146	160	187
Phénylalanine en µg par ml de plasma	<b>1670</b>	<b>1418</b>	<b>1559</b>	<b>1815</b>

URINE

	NH <sub>3</sub> libre en µg par ml d'urine	NH <sub>3</sub> hypo- chlorite en µg par ml d'urine	Phénylalanine en µg par ml d'urine	Phénylalanine totale excrétée en mg
Urine 0 à 60 min.	52	120	1164	<b>12.80</b>
Urine 60 à 90 min.	67	127	1231	<b>9.84</b>

EXPERIENCE DU 12/5/48. —

Chien 6 Kg.

Perfusion du rein avec 110 ml de sang additionnés de 10 ml d'une solution de citrate à 10 p. 100 et de 300 mg de l-phénylalanine dissous dans 25 ml de soluté physiologique.

Durée de l'expérience : 90 min..

Le débit reste satisfaisant (15 ml en 25 sec.).

Prises de sang afférent initiale et finale.

On recueille au bout de 20 min. 26 ml d'urine limpide et en fin de perfusion 29 autres ml d'urine légèrement hématique.

	Sang afférent initial	Sang afférent final
NH <sub>3</sub> hypo- chlorite en µg par ml de plasma	145	175
Phénylala- nine en µg par ml de plasma	<b>1414</b>	<b>1706</b>

URINE

	NH <sub>3</sub> libre en µg par ml d'urine	NH <sub>3</sub> hypo- chlorite en µg par ml d'urine	Phénylalanine en µg par ml d'urine	Phénylalanine totale excrétée en mg
Urine 0 à 20 min.	82	228	2217	<b>57.6</b>
Urine 20 à 90 min.	26	165	1600	<b>46.4</b>

EXPERIENCE DU 5/5/48. —

Chien 7 Kg.

Perfusion du rein avec 110 ml de sang citratés et additionnés de 300 mg de L-phénylalanine dissous dans 10 ml de soluté physiologique.

Au bout de 60 min. de perfusion, le débit se ralentissant fortement on met alors en circulation le second rein.

Durée de l'expérience :

Premier rein : 60 min..

Second rein : 30 min..

Prise de sang :

Premier rein : sang afférent initial et après 60 min..

Second rein : sang afférent après 70 et 90 min..

Pas d'urine.

	PREMIER REIN		SECOND REIN	
	Sang afférent initial	Sang afférent 60 min.	Sang afférent 70 min.	Sang afférent 90 min.
NH <sub>3</sub> hypo-chlorite en µg par ml de plasma	150	135	138	138
Phénylalanine en µg par ml de plasma	<b>1455</b>	<b>1309</b>	<b>1338</b>	<b>1338</b>

5° D-LEUCINE

EXPERIENCE DU 22/7/48. —

Chien 5 Kg.

Perfusion du rein avec 140 ml de sang additionnés de 10 ml d'une solution de citrate de sodium à 10 p. 100 et de 250 mg de D-leucine dissous dans 20 ml de liquide de Krebs.

Durée de l'expérience : 90 min..

Le débit se ralentit très vite (15 ml en 3 min. 30 sec. au bout de 20 min.).

Prises de sang afférent initiale et finale.

On recueille en fin d'expérience 0,9 ml d'urine.

	Sang afférent initial		Sang afférent final	
	T.	S + D-AAD	T.	S + D-AAD
O <sub>2</sub> en µg par ml de plasma	2	174	0	165
NH <sub>3</sub> en µg par ml de plasma	9	170	40	150
Leucine en µg par ml de plasma	<b>1309</b>		<b>1155</b>	

URINE

NH <sub>3</sub> libre en µg par ml d'urine	NH <sub>3</sub> D-AAD en µg par ml d'urine	Leucine en µg par ml d'urine	Leucine excrétée en mg
47	23	1024	<b>0,92</b>

EXPERIENCE DU 12/10/48.

Chien 4,5 Kg.

Perfusion du rein avec 105 ml de sang additionnés de 10 ml d'une solution de citrate de sodium à 10 p. 100 et de 200 mg de D-leucine dissous dans 20 ml de liquide de Krebs.

Durée de l'expérience : 90 min..

Circulation se ralentissant progressivement pour presque cesser à la fin.

Prises de sang afférent initiale et finale.

On recueille en fin d'expérience 1 ml d'urine non hématique.

	Sang afférent initial		Sang afférent final	
	T.	S + D-AAD	T.	S + D-AAD
O <sub>2</sub> en µg par ml de plasma	0	85	2	159
NH <sub>3</sub> en µg par ml de plasma	15	104	21	80
Leucine en µg par ml de plasma	<b>770</b>		<b>616</b>	

URINE

NH <sub>3</sub> libre en µg par ml d'urine	NH <sub>3</sub> D-AAD en µg par ml d'urine	Leucine en µg par ml d'urine	Leucine excrétée en mg
120	360	2772	<b>2,77</b>

EXPERIENCE DU 15/10/48. —

Chien 6 Kg.

Perfusion du rein avec 100 ml de sang héparinés et additionnés de 250 mg de D-leucine dissous dans 20 ml de soluté physiologique.

Durée de l'expérience : 60 min..

Le débit se ralentit très vite.

Prises de sang afférent initiale et finale.

Pas d'urine.

Le rein pesait 43 g.

	Sang afférent initial		Sang afférent 60 min.	
	T.	S + D-AAD	T.	S + D-AAD
O <sub>2</sub> en µg par ml de plasma	1	—	0	164
NH <sub>3</sub> en µg par ml de plasma	4	155	7	140
Leucine en µg par ml de plasma	<b>1193</b>		<b>1078</b>	

**6° L-LEUCINE**

EXPERIENCE DU 6/10/48. —

Chien 5,5 Kg.

Perfusion du rein avec 110 ml de sang additionnés de 10 ml d'une solution de citrate de sodium à 10 p. 100 et de 150 mg de L-leucine dissous dans 20 ml de soluté physiologique.

Durée de l'expérience : 90 min..

Prises de sang afférent initiale et finale.

Le débit se ralentit très vite.

Pas d'urine.

Le rein pesait 25 g.

	Sang afférent initial		Sang afférent 90 min.	
NH <sub>3</sub> en µg par ml de plasma	217		240	
Leucine en µg par ml de plasma	<b>1670</b>		<b>1848</b>	

### 7° D-VALINE

EXPERIENCE DU 17/11/48.

Chien 5 Kg.

Perfusion du rein avec 100 ml de sang additionnés de 10 ml d'une solution de citrate de sodium à 10 p. 100 et de 150 mg de D-valine dissous dans 20 ml de soluté physiologique.

Durée de l'expérience : 60 min..

Débit très satisfaisant : 15 ml en 35 sec..

Prises de sang afférent initiale et finale.

On recueille en fin d'expérience 9,5 ml d'urine.

	Sang afférent initial		Sang afférent final	
	T.	S + D-AAD	T.	S + D-AAD
O <sub>2</sub> en µg par ml de plasma	0	83	0	79
NH <sub>3</sub> en µg par ml de plasma	6	110	4	80
Valine en µg par ml de plasma	<b>748</b>		<b>544</b>	

### URINE

NH <sub>3</sub> libre en µg par ml d'urine	NH <sub>3</sub> D-AAD en µg par ml d'urine	Valine en µg par ml d'urine	Valine excrétée en mg
29	110	748	<b>7.10</b>

EXPERIENCE DU 14/5/49. —

Chien 6 Kg.

Perfusion du rein avec 150 ml de sang héparinés et additionnés de 300 mg de D-valine dissous dans 20 ml de liquide de Krebs.

Durée de l'expérience : 60 min..

Le débit satisfaisant au début se ralentit bientôt pour atteindre 15 ml en 2 min. 35 sec. au bout de 30 min..

Prises de sang afférent initiale et finale.

Très faible quantité d'urine : 0,15 ml.

Le rein pesait en fin d'expérience 18 g.

	Sang afférent initial		Sang afférent final	
	T.	S + D-AAD	T.	S + D-AAD
O <sub>2</sub> en µg par ml de plasma	17	303	24	143
NH <sub>3</sub> en µg par ml de plasma	4	231	14	147
Valine en µg par ml de plasma	<b>1589</b>		<b>1011</b>	

### 8° ACIDE D-ASPARTIQUE

EXPERIENCE DU 3/6/48. —

Chienne 6,5 Kg.

Perfusion du rein avec 100 ml de sang additionnés de 10 ml d'une solution de citrate de sodium à 10 p. 100 et de 300 mg d'acide D-aspartique dissous dans 20 ml de soluté physiologique et neutralisé par addition de NaOH N/1.

Durée de l'expérience : 75 min..

Le débit est rapide : 15 ml en 30 sec..

Prises de sang afférent initiale et finale.

On recueille au bout de 30 min. 21 ml d'urine limpide et en fin d'expérience 26 autres ml d'urine.

Le rein pesait 37 g.

	Sang afférent initial		Sang afférent final	
	T.	S + D-AAD	T.	S + D-AAD
O <sub>2</sub> en µg par ml de plasma	4	246	0	165
NH <sub>3</sub> en µg par ml de plasma	6	131	15	43
Acide aspar- tique en µg par ml de plasma	<b>1021</b>		<b>335</b>	

### URINE

	NH <sub>3</sub> libre en µg par ml d'urine	NH <sub>3</sub> D-AAD en µg par ml d'urine	Acide aspar- tique en µg par ml d'urine	Acide aspar- tique excrété en mg
Urine 0 à 30 min.	18	206	1606	<b>33.7</b>
Urine 30 à 75 min.	18	263	2651	<b>68.9</b>

Il s'est éliminé par l'urine environ un tiers de l'acide aminé ajouté ; néanmoins, la désamination est élevée car il faut tenir compte de la concentration sanguine due à l'élimination de 47 ml d'urine, à partir d'un volume initial d'environ 130 ml.

#### EXPERIENCE DU 9/6/48. —

Chien 6 Kg.

Perfusion du rein avec 80 ml de sang additionnés de 8 ml d'une solution de citrate de sodium à 10 p. 100 et de 300 mg d'acide D-aspartique dissous dans 20 ml de soluté physiologique et préalablement neutralisé.

Durée de l'expérience : 90 min.. \*

Débit rapide pendant toute l'expérience (15 ml en 15 sec.).

Prises de sang afférent initiale et après 90 min..

On recueille en fin d'expérience 16 ml d'urine faiblement hématurique.

Le rein pesait 26 g.

	Sang afférent initial		Sang afférent 90 min.	
	T.	S + D-AAD	T.	S + D-AAD
O <sub>2</sub> en µg par ml de plasma	0	240	0	138
NH <sub>3</sub> en µg par ml de plasma	22	229	72	161
Acide aspar- tique en µg par ml de plasma	<b>1786</b>		<b>1255</b>	

URINE

NH <sub>3</sub> libre en µg par ml d'urine	NH <sub>3</sub> D-AAD en µg par ml d'urine	Acide aspartique en µg par ml d'urine	Acide aspartique excrété en mg
45	211	1645	<b>26.3</b>

La désamination oxydative et l'excrétion sont d'importance à peu près égale.

EXPERIENCE DU 20/7/48. —

Chien 6 Kg.

Perfusion du rein avec 110 ml de sang additionnés de 10 ml d'une solution de citrate de sodium à 10 p. 100 et de 200 mg d'acide D-aspartique dissous dans 30 ml de liquide de Krebs et neutralisés par addition de NaOH N/1.

Débit satisfaisant (25 ml en 15 sec.).

Prises de sang afférent initiale et après 60 min..

On recueille au bout de 20 min. 22 ml d'urine et en fin d'expérience 8 autres ml d'urine.

Le rein pesait 38 g.

	Sang afférent initial		Sang afférent 60 min.	
	T.	S + D-AAD	T.	S + D-AAD
O <sub>2</sub> en µg par ml de plasma	4	173	2	96
NH <sub>3</sub> en µg par ml de plasma	5	134	26	72
Acide aspar- tique en µg par ml de plasma	<b>1045</b>		<b>561</b>	

### URINE

	NH <sub>3</sub> libre en µg par ml d'urine	NH <sub>3</sub> D-AAD en µg par ml d'urine	Acide aspar- tique en µg par ml d'urine	Acide aspar- tique excrété en mg
Urine 0 à 20 min.	22	320	2496	<b>54,9</b>
Urine 20 à 60 min.	18	224	1647	<b>13,1</b>

Le bilan est le suivant : 200 mg d'acide aspartique au départ, 69 mg à la fin ; soit une différence de 131 mg dont 64 mg désaminés et 67 mg excrétés par l'urine.

### 9° ACIDE L-ASPARTIQUE

EXPERIENCE DU 28/4/48. —

Chien 7 Kg.

Perfusion du rein avec 105 ml de sang additionnés de 10 ml d'une solution de citrate de sodium et de 200 mg d'acide L-aspartique dissous dans 20 ml de liquide de Krebs et neutralisés.

Durée de l'expérience : 120 min..

Débit satisfaisant (15 ml en 18 sec.), se ralentissant vers la fin.

Prises de sang afférent initiale, après 60 et 120 min..

On recueille après 60 min. 5,5 ml d'urine et 4 autres ml après la seconde heure.

Le rein pesait 32 g.

	Sang afférent initial	Sang afférent 60 min.	Sang afférent 120 min.
NH <sub>3</sub> hypochlorite en µg par ml de plasma	200	198	224
Acide aspartique en µg par ml de plasma	<b>1563</b>	<b>1544</b>	<b>1747</b>

URINE

	NH <sub>3</sub> libre en µg par ml d'urine	NH <sub>3</sub> hypochlorite en µg par ml d'urine	Acide aspartique en µg par ml d'urine	Acide aspartique excrété en mg
Urine 0 à 60 min.	134	828	6440	<b>35.4</b>
Urine 60 à 120 min.	98	360	2808	<b>11.2</b>

EXPERIENCE DU 26/3/49. —

Chienne 6,5 Kg.

Perfusion avec 155 ml de sang additionnés de 2 ml de la solution d'héparine et de 250 mg de l'acide L-aspartique dissous dans 10 ml de soluté physiologique préalablement neutralisés.

Durée de l'expérience : 90 min..

Circulation très rapide.

Prises de sang afférent initiale et au bout de 90 min..

On recueille en fin d'expérience 2,5 ml d'urine hématurique.

Le rein pesait 38 g.

	Sang afférent initial	Sang afférent 90 min.
NH <sub>3</sub> hypochlorite en µg par ml de plasma	153	135
Acide aspartique en µg par ml de plasma	<b>1193</b>	<b>1053</b>

## URINE

NH <sub>3</sub> libre en µg par ml d'urine	NH <sub>3</sub> hypochlorite en µg par ml d'urine	Acide aspartique en µg par ml d'urine	Acide aspartique excrété en mg
21	126	982	<b>2.45</b>

L'action de la D-acidaminodéhydrase sur les sangs précédents a fourni les chiffres suivants :

	Sang afférent initial		Sang afférent 90 min.		Sang efférent 90 min.	
	T.	S + D-AAD	T.	S + D-AAD	T.	S + D-AAD
O <sub>2</sub> en µg par ml de plasma	14	9,3	22	45	17	29
NH <sub>3</sub> en µg par ml de plasma	3	15	46	34	28	37

## 10° ACIDE D-GLUTAMIQUE

EXPERIENCE DU 1/4/49.

Chien 9 Kg.

Perfusion du rein avec 105 ml de sang hépariné et additionnés de 140 mg du chlorhydrate d'acide D-glutamique dissous dans 5 ml de soluté physiologique et neutralisés.

Durée de l'expérience : 60 min.,

Débit se ralentissant au cours de l'expérience (15 ml en 1 min. 30 sec. au bout de 25 min.).

Prises de sang afférent initiale et après 60 min.,

On recueille 1 ml d'urine.

Le rein pesait 74 g.

	Sang afférent initial		Sang afférent 60 min.	
	T.	S + D-AAD	T.	S + D-AAD
O <sub>2</sub> en µg par ml de plasma	55	0	84	0
NH <sub>3</sub> en µg par ml de plasma	15	216	19	129
Acide glutamique en µg par ml de plasma	<b>1824</b>		<b>1123</b>	

URINE

NH <sub>3</sub> libre en µg par ml d'urine	NH <sub>3</sub> hypochlorite en µg par ml d'urine	Acide glutamique en µg par ml d'urine	Acide glutamique excrété en mg
44	144	1245	<b>1.2</b>

EXPERIENCE DU 27/4/49. —

Chien 7 Kg.

Perfusion du rein avec 150 ml de sang héparinés et additionnés de 200 mg du chlorhydrate de l'acide D-glutamique dissous dans 10 ml de soluté physiologique et neutralisés.

Débit diminuant peu à peu (15 ml en 1 min. 40 sec. au bout de 45 min.).

Prises de sang afférent initiale et après 60 min..

Le rein pesait 41 g.

On recueille en fin d'expérience 7,5 ml d'urine fortement hématiche.

	Sang afférent initial		Sang afférent 60 min.	
	T.	S + D-AAD	T.	S + D-AAD
O <sub>2</sub> en µg par ml de plasma	0	43	0	16
NH <sub>3</sub> en µg par ml de plasma	3	46,2	9	12
Acide glutamique en µg par ml de plasma	<b>400</b>		<b>103</b>	

URINE

NH <sub>3</sub> libre en µg par ml d'urine	NH <sub>3</sub> hypochlorite en µg par ml d'urine	Acide glutamique en µg par ml d'urine	Acide glutamique excrété en mg
108	318	2747	<b>20.6</b>

EXPERIENCE DU 2/5/49. —

Chien 10 Kg.

Perfusion du rein avec 155 ml de sang héparinés et additionnés de 200 mg du chlorhydrate de l'acide D-glutamique dissous dans 20 ml de soluté physiologique et neutralisés.

Durée de l'expérience : 60 min..

Le débit se ralentit peu à peu pour tomber à 15 ml en 4 min. au bout de 45 min. de perfusion.

Prises de sang afférent initiale et après 60 min..

On recueille en fin d'expérience 1 ml d'urine.

Le rein pesait 38 g.

	Sang afférent initial		Sang afférent 60 min.	
	T.	S + D-AAD	T.	S + D-AAD
O <sub>2</sub> en µg par ml de plasma	0	61	0	48
NH <sub>3</sub> en µg par ml de plasma	12	52	12	19
Acide gluta- mique en µg par ml de plasma	<b>450</b>		<b>164</b>	

URINE

NH <sub>3</sub> libre en µg par ml d'urine	NH <sub>3</sub> hypochlorite en µg par ml d'urine	Acide glutamique en µg par ml d'urine	Acide glutamique excrété en mg
41	100	864	<b>0.86</b>

## 11° ACIDE L-GLUTAMIQUE

EXPERIENCE DU 4/3/49. —

Chien 7 Kg.

Perfusion du rein avec 110 ml de sang héparinés et additionnés de 150 mg d'acide L-glutamique dissous dans 15 ml de soluté physiologique et neutralisés.

Durée de l'expérience : 60 min..

Prises de sang afférent initiale, après 30 et 60 min..

Débit satisfaisant pendant toute l'expérience.

Pas d'urine.

Le rein pesait 40 g.

ACIDE L-GLUTAMIQUE (selon Gale)

	Sang afférent initial	Sang afférent 30 min.	Sang afférent 60 min.
CO <sub>2</sub> en $\mu$ l par ml de plasma	215,3	144,2	156,4
Acide gluta- mique en $\mu$ g par ml de plasma	1412	946	1025

EXPERIENCE DU 11/3/49. —

Chien 13 Kg.

Perfusion du rein avec 120 ml de sang héparinés et additionnés de 250 mg d'acide L-glutamique dissous dans 15 ml de soluté physiologique et neutralisés.

Débit rapide se ralentissant vers la fin (15 ml en 32 sec. au bout de 45 min.).

Prises de sang afférent initiale, après 30 et 60 min..

Le rein en fin d'expérience pesait 41 g.

ACIDE L-GLUTAMIQUE (selon Gale)

	Sang afférent initial	Sang afférent 30 min.	Sang afférent 60 min.
CO <sub>2</sub> en $\mu$ l dégagé par ml de plasma	153	97,4	111,28
Acide gluta- mique en $\mu$ g par ml de plasma	<b>1013</b>	<b>657</b>	<b>737</b>

EXPERIENCE DU 18/5/49. —

Chien 15 Kg.

Perfusion du rein avec 150 ml de sang héparinés et additionnés de 150 mg d'acide L-glutamique dissous dans 5 ml de soluté physiologique et neutralisés.

Le débit se ralentit vers la fin (15 ml en 85 sec. au bout de 45 min.).

Prises de sang afférent initiale, après 30 et 60 min..

Pas d'urine.

Le rein pesait 88 g.

ACIDE L-GLUTAMIQUE (selon Gale)

	Sang afférent initial	Sang afférent 30 min.	Sang afférent 60 min.
CO <sub>2</sub> en $\mu$ l par ml de plasma	165,9	128	145,8
Acide glutamique en $\mu$ g par ml de plasma	<b>1088</b>	<b>839</b>	<b>956</b>

EXPERIENCE DU 24/6/49. —

Chien 6 Kg.

Perfusion du rein avec 150 ml de sang héparinés et additionnés de 150 mg d'acide L-glutamique dissous dans 10 ml de soluté physiologique et neutralisés.

Durée de l'expérience : 60 min..

Le débit reste satisfaisant au cours de l'expérience (15 ml en 30 sec. au bout de 45 min.).

Prises de sang afférent initiale et après 60 min..

On recueille en fin d'expérience 0,4 ml d'urine.

Le rein pesait 33 g.

	Sang afférent initial	Sang afférent 60 min.
CO <sub>2</sub> en $\mu$ l par ml de plasma	183,8	128
Acide glutamique en $\mu$ g par ml de plasma	<b>1206</b>	<b>839</b>

EXPERIENCE DU 1/7/49. —

Chienne 25 Kg.

Perfusion du rein avec 150 ml de sang héparinés et additionnés de 150 mg d'acide L-glutamique dissous dans 10 ml de soluté physiologique et neutralisés.

Débit satisfaisant.

Durée de l'expérience : 60 min..

Prises de sang afférent initiale et après 60 min..

On recueille en fin d'expérience 4 ml d'urine.

Le rein pesait 83 g.

	Sang afférent initial	Sang afférent 60 min.
CO <sub>2</sub> dégagé en µl par ml de plasma	136,6	121
Acide glutamique en µg par ml de plasma	<b>910</b>	<b>794</b>

URINE

Acide glutamique en µg par ml d'urine	Acide glutamique excrété par l'urine en mg
1524	<b>6.1</b>

EXPERIENCE DU 8/7/49. —

Chien 7 Kg.

Perfusion du rein avec 140 ml de sang héparinés et additionnés de 300 mg d'acide L-glutamique dissous dans 10 ml de soluté physiologique et neutralisés.

Durée de l'expérience : 55 min..

Débit rapide : 15 ml en 9 sec. au bout de 55 min..

Prises de sang afférent initiale et au bout de 55 min..

On recueille en fin d'expérience 33 ml d'urine non hématique.

Le rein pesait 34 g.

	Sang afférent initial	Sang afférent 55 min.
CO <sub>2</sub> dégagé en µl par ml de plasma	290,6	224,8
Acide glutamique en µg par ml de plasma	<b>1906</b>	<b>1475</b>

URINE

Acide glutamique en µg par ml d'urine	2978	Acide glutamique total excrété par l'urine	<b>98,2</b>
--	------	--	-------------

12° TEMOINS

EXPERIENCE DU 16/1/48. —

Chien 7 Kg.

Perfusion du rein avec 110 ml de sang additionnés de 10 ml d'une solution de citrate de sodium à 10 p. 100.

Durée de l'expérience : 120 min..

Débit satisfaisant.

Prises de sang afférent initiale et après 10, 60 et 120 min..

Pas d'urine.

Le rein pesait après l'expérience 48 g.

	Sang afférent initial		Sang afférent 10 min.		Sang afférent 60 min.		Sang afférent 120 min.	
	S.T.	S + D-AAD	S.T.	S + D-AAD	S.T.	S + D-AAD	S.T.	S + D-AAD
O <sub>2</sub> en µg par ml de plasma	0	17	0	17	0	13	0	14
NH <sub>3</sub> en µg par ml de plasma	18	11	18	37	24	0	21	8

EXPERIENCE DU 20/1/48. —

Chien 5 Kg.

Perfusion du rein avec 100 ml de sang additionnés de 10 ml d'une solution de citrate de sodium à 10 p. 100.

Durée de l'expérience : 120 min..

Prises de sang afférent initiale, après 60 et 120 min.:

On recueille en fin d'expérience 4,5 ml d'urine fortement hématique.

Le débit est rapide jusque la fin,

Le rein pesait 24 g.

	Sang afférent initial		Sang afférent 60 min.		Sang afférent 120 min.	
	T.	S + D-AAD	T.	S + D-AAD	T.	S + D-AAD
O <sub>2</sub> en µg par ml de plasma	0	0	0	0	0	7,8
NH <sub>3</sub> en µg par ml de plasma	10	0	12	0	12	0

EXPERIENCE DU 6/2/47. —

Chienne 4,8 Kg.

Perfusion du rein avec 125 ml de sang additionnés de 8 ml d'une solution de citrate de sodium à 10 p. 100 et de 25 ml de soluté physiologique.

Durée de l'expérience : 75 min..

Prise de sang avant mise en circuit du rein.

Prises de sang afférent 10, 50 et 75 min. après.

Le débit rapide au début diminue après la première demie heure.

Pas d'urine.

Le rein pesait 23 g.

	Sang afférent initial		Sang afférent 20 min.		Sang afférent 50 min.		Sang afférent 75 min.	
	T.	S + D-AAD						
O <sub>2</sub> en µg par ml de plasma	7	20	7	28	14	16	10	30
NH <sub>3</sub> en µg par ml de plasma	15	0	16	13	15	6	16	0

EXPERIENCE DU 4/6/47. —

Chien 9 Kg.

Perfusion du rein avec 120 ml de sang additionnés de 10 ml d'une solution de citrate de sodium à 10 p. 100 et de 50 ml de soluté physiologique.

Durée de l'expérience : 120 min..

Circulation satisfaisante pendant toute la durée de l'expérience.

Prises de sang afférent initiale et après 30 min..

Prise de sang efférent après 30 min..

Prises de sang afférent et efférent après 90 min..

Prise de sang efférent après 120 min..

Le rein pesait 51 g.

	Sang afférent initial		Sang afférent 30 min.		Sang efférent 30 min.	
	T.	S + D-AAD	T.	S + D-AAD	T.	S + D-AAD
O <sub>2</sub> en µg par ml de plasma	3	41	10	20	8	26
NH <sub>3</sub> en µg par ml de plasma	12	27	20	53	18	52

	Sang afférent 90 min.		Sang efférent 90 min.		Sang efférent 120 min.	
	T.	S + D-AAD	T.	S + D-AAD	T.	S + D-AAD
O <sub>2</sub> en µg par ml de plasma	17	34	24	28	3	47
NH <sub>3</sub> en µg par ml de plasma	21	71	18	70	42	82

EXPERIENCE DU 11/7/47. —

Chien 4,5 Kg.

Perfusion du rein avec 110 ml de sang additionnés de 50 ml de soluté physiologique et de 10 ml d'une solution de citrate de sodium à 10 p. 100.

Durée de l'expérience : 105 min..

Prises de sang afférent initiale, après 60 et 105 min..

Prise de sang efférent après 105 min..

On recueille en fin d'expérience 4 ml d'urine.

Le rein pesait 22 g.

	Sang afférent 5 min.		Sang afférent 60 min.		Sang afférent 105 min.		Sang efférent 105 min.	
	T.	S + D-AAD	T.	S + D-AAD	T.	S + D-AAD	T.	S + D-AAD
O <sub>2</sub> en µg par ml de plasma	7	16	7	24	4	35	6	27
NH <sub>3</sub> en µg par ml de plasma	12	23	23	9	18	20	18	17

URINE

NH <sub>3</sub> libre en µg par ml d'urine	NH <sub>3</sub> totale excrétée par l'urine en µg
14	56

### III - INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

---

L'ensemble de nos résultats montre que les D-amino-acides sont l'objet dans le rein en perfusion d'un double processus de *désamination* et d'*excrétion*. Les chiffres ne sont naturellement pas rigoureusement superposables d'une expérience à l'autre, ainsi qu'il arrive fréquemment lorsque les conditions dans lesquelles on opère ne dépendent pas uniquement de l'expérimentateur et ne sont pas elles-mêmes strictement reproductibles. L'état du parenchyme rénal, le débit sanguin, le volume d'urine excrété ne sont pas constants ; il y a d'un rein à un autre des variations très sensibles, qui suffisent largement à expliquer les différences entre les chiffres expérimentaux.

Si l'on compare les acides aminés entre eux, il est possible de faire un certain nombre de déductions que l'on peut résumer de la façon suivante.

La désamination de la D-alanine l'emporte sur son excrétion. Le taux de l'acide aminé dans l'urine reste souvent du même ordre que dans le sang : autrement dit, il n'y a pas de *concentration* au cours du processus d'excrétion ; cela peut s'expliquer par les conditions particulières de l'expérience, l'organe perfusé, qui est complètement énérvé, ne se comportant pas comme un organe en place. Cela n'est cependant pas toujours le cas, et certains chiffres révèlent un pouvoir de concentration notable du rein vis-à-vis de l'acide aminé. La même remarque s'applique à la plupart des D-amino-acides étudiés.

La D-phénylalanine et la D-valine ne diffèrent pas essentiellement de la D-alanine ; le processus désaminant est très actif, et cela concorde avec les constatations faites par KREBS sur les coupes, les homogénats ou les extraits de rein *in vitro*.

La D-leucine apparaît au contraire comme une exception et sa désamination est ici négligeable alors qu'*in vitro* elle figure parmi les plus rapides.

La destinée des deux acides dicarboxyliques est intéressante à considérer. La chute du taux de l'acide D-aspartique dans le sang perfusant est très importante ; cela est dû évidemment à une désamination intense, et s'accorde parfaitement avec les données antérieures obtenues avec la D-acidaminodéhydrase. Mais d'autre part on observe un contraste assez frappant avec les autres D-amino-acides, en ce sens que l'élimination est relativement considérable : l'acide aspartique est en effet excrété à des taux supérieurs à ceux du sang perfusant, malgré des débits urinaires très élevés, bien plus importants que ceux que nous avons pu noter au cours des autres expériences.

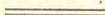
L'acide D-glutamique ne présente pas la même particularité, malgré son analogie de structure et de propriétés avec son homologue inférieur. Mais sa désamination, qui rejoint en intensité celle de la D-alanine et de la D-phénylalanine, rapproche son comportement de celui de ces mono-acides aminés, alors qu'*in vitro* l'acide D-glutamique n'est que lentement et très partiellement dégradé sous l'action de la D-acidaminodéhydrase. Nous retrouvons ici une discordance analogue à celle que nous avons signalée plus haut à propos de la leucine, mais en sens contraire.

Si nous comparons maintenant aux résultats précédents ceux des expériences réalisées avec des L-amino-acides, la différence apparaît très nette. La désamination est ici pratiquement négligeable, comme dans les essais réalisés *in vitro*. On retrouve dans l'urine une certaine proportion de l'amino-acide, mais la concentration reste toujours inférieure à celle du sang perfusant. Cette élimination, que l'on n'observe pas chez l'animal entier peut évidemment s'expliquer par le taux élevé de l'acide aminé, maintenu artificiellement dans le liquide de perfusion, l'intervention des autres organes et tissus étant ici exclue.

Seul fait exception l'acide L-glutamique, dont le taux subit une diminution appréciable que l'excrétion urinaire ne suffit pas à expliquer : cela n'est pas surprenant étant donnée l'activité métabolique de cet acide aminé, dont la position parmi les autres est tout à fait privilégiée.

Le sort des acides aminés dans le rein perfusé est donc en

quelque sorte intermédiaire à ceux qu'ils subissent d'une part dans l'organisme intact et d'autre part au contact du tissu rénal ou de ses extraits *in vitro*. Notre étude montre que la technique de perfusion des organes isolés, qui a fourni déjà tant d'indications précieuses, peut encore, malgré le développement des méthodes nouvelles d'exploration comme celle des traceurs isotopiques, contribuer efficacement à la solution des nombreux problèmes qui restent sans réponse dans le champ illimité du métabolisme intermédiaire.





## Conclusions générales

---

La première partie de ce travail établit les modalités de la diffusion des amino-acides libres du plasma dans les hématies. Ce phénomène est considérablement accéléré par l'oxygénation du sang. Il est au contraire entravé par la désoxygénation réalisée par un courant de gaz carbonique ou sous pression réduite. L'hémoglobine dissoute dans le plasma fixe réversiblement dans les mêmes conditions une certaine proportion d'acide aminé ; l'intervention de la perméabilité de la membrane globulaire dans ces échanges érythroplasmatiques paraît donc accessoire, le phénomène consistant essentiellement en la formation d'une combinaison labile entre les acides aminés et l'oxyhémoglobine.

Alors que la majorité des amino-acides suit cette règle, les amino-acides dicarboxyliques et diaminés ne participent pas aux échanges et il n'a pas été possible de mettre en évidence leur fixation sur l'hémoglobine, oxygénée ou non.

La seconde partie de notre thèse est la continuation des recherches de POLONOVSKI, BIZARD et BOULANGER sur le comportement des amino-acides dans le parenchyme rénal. Elle confirme le double processus de désamination et d'excrétion que subissent les acides aminés de la série non naturelle tels que la D-alanine, la D-phénylalanine, la D-valine, l'acide D-aspartique et l'acide D-glutamique, la D-leucine constituant une exception que les travaux antérieurs ne laissaient pas prévoir. Elle établit que, parmi les acides naturels, l'acide L (+) glutamique seul est catabolisé d'une façon appréciable, ce qui peut s'expliquer par le rôle privilégié joué par cet amino-acide dans le métabolisme intermédiaire.



## BIBLIOGRAPHIE

---

- ABDERHALDEN et KURTEN, **Pflug. Archiv. ges. Physiol.**, 1921, **189**, 311 [2]
- ABDERHALDEN et TETZNER, **Zeitschr. f. physiol. Chemie**, 1935, **232**, 79 [37].
- ALEXANDER et SELIGMAN, **Journ. Biol. Chem.**, 1945, **159**, 9 [14].
- BLISS, **Journ. Biol. Chem.**, 1941, **137**, 217 [41].
- BORNSTEIN et ROESE, **Biochem. Zeit.**, 1929, **212**, 127 [35].
- BOULANGER, BISERTE et GRIFFIE, Congrès International de Chimie de Londres, Juillet 1947, et **Experientia**, 1949, **5**, 448 [21].
- BOULANGER et GRIFFIE, **Journ. de Physiol.**, 1948, **40**, 127 A - 128 A [1, 44].
- CHRISTENSEN, COOPER, JOHNSON et LYNCH, **Journ. Biol. Chem.**, 1947, **168**, 191 [8].
- CONWAY, Microdiffusion Analysis and Volumetric Error, CROSBY LOCKWOOD, éd., LONDON, 1947 [11, 13].
- CORLEY et SNYDER, **Journ. Biol. Chem.**, 1938, **122**, 491 [38].
- DANIELSON, **Journ. Biol. Chem.**, 1933, **101**, 505 [5].
- FAURHOLT, **Journ. Chim. Phys.**, 1925, **22**, 1 [22].
- FELIX et ZORN, **Zeitschr. f. physiol. Chemie**, 1939, **258**, 16 [25].
- FOLIN et MARENZI, **Journ. Biol. Chem.**, 1923, **83**, 89 [16].
- GALE, **Biochem. Journ.**, 1941, **35**, 66 et 1945, **39**, 46 [18, 28].
- HALDANE, cf. DAUTREBANDE, **Les Echanges respiratoires**, Presses Universitaires de France, éd., 1930 [19].

- HAUSLER, **Arch. exp. Path. Pharmac.**, 1926, **115**, 173 [4, 29].
- HESS et SULLIVAN, **Journ. Biol. Chem.**, 1943, **151**, 635 [17, 27].
- KAPPELER et ADLER, **Biochem. Zeit.**, 1932, **252**, 185 [15, 20].
- KREBS, **Zeitschr. f. physiol. Chemie**, 1933, **217**, 190 et 1933, **218**, 157 [9].
- KREBS, **Biochem. Journ.**, 1935, **29**, 1620 [34, 36, 40].
- NASH et BENEDICT, **Journ. Biol. Chem.**, 1921, **48**, 463 [32].
- OKAMURA, in **Chemical Abstracts**, 1943, **37**, 683 [7].
- POLONOVSKI, **Bull. Soc. Chim. Biol.**, 1937, **19**, 773 [12, 24, 45].
- POLONOVSKI, BIZARD et BOULANGER, **Bull. Soc. Chim. Biol.**, 1933, **15**, 863 [33, 39].
- POLONOVSKI et BOULANGER, **C.R. Ac. Sciences**, 1938, **207**, 308 [42].
- POLONOVSKI et BOULANGER, **Bull. Soc. Chim. Biol.**, 1935, **17**, 944 [10].
- POLONOVSKI et GAJDOS, **Exposés annuels de Biochimie Médicale**, 1948 **8<sup>ème</sup> Série**, 109 [26].
- SBARSKY, **Biochem. Zeit.**, 1923, **141**, 33 et **Enzymologia**, 1941, **9**, 302 [3, 23, 30].
- SCHENHEIMER, RATNER et RITTENBERG, **Journ., Biol. Chem.**, 1940, **134**, 653 [43].
- SCHENHEIMER, RATNER et WEISMAN, **Journ. Biol. Chem.**, 1943, **147**, 549 [43].
- USSING, **Acta Physiol. Scandin.** 1943, **5**, 335 et 1943, **6**, 222 [6, 31].
-

# Table des matières

	<u>Pages</u>
AVANT-PROPOS	
PREMIERE PARTIE : ECHANGES D'AMINO-ACIDES ENTRE LE PLASMA ET LES HEMATIES	
I - <b>Historique</b> .....	1
II - <b>Techniques expérimentales.</b>	
A - Dosage des D-amino-acides .....	9
B - Dosage des amino-acides de la série naturelle .....	13
III - <b>Action de l'oxygène et de l'anhydride carbonique sur les échanges globulo-plasmatiques d'amino-acides.</b>	
A - Essais sur le sang total .....	17
B - Essais sur le plasma isolé et sur le plasma hémoglobiné .	24
C - Etude comparative des D-amino-acides .....	29
IV - <b>Interprétation des résultats</b> .....	43
DEUXIEME PARTIE : LE COMPORTEMENT DES D ET L-AMINO-ACIDES DANS LE REIN PERFUSE	
I - <b>Introduction</b> .....	51
II - <b>Résultats expérimentaux.</b>	
1° D-alanine .....	59
2° L-alanine .....	69
3° D-phénylalanine .....	72
4° L-phénylalanine .....	78
5° D-leucine .....	80
6° L-leucine .....	82
7° D-valine .....	83
8° Acide D-aspartique .....	84
9° Acide L-aspartique .....	87
10° Acide D-glutamique .....	89
11° Acide L-glutamique .....	92
12° Témoins .....	95
III - <b>Interprétation des résultats</b> .....	99
CONCLUSIONS GENERALES .....	103
BIBLIOGRAPHIE .....	105

## SECONDE THÈSE

---

### PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ

---

- 1 - Emploi des isotopes en biologie végétale.
- 2 - Situation géologique et origine des lacs français.

VU ET APPROUVÉ  
LILLE, LE 18 FÉVRIER 1950

*Le Doyen :*  
P. PRUVOST

VU ET PERMIS D'IMPRIMER  
LILLE, LE 27 FÉVRIER 1950

*Le Recteur de l'Académie  
de Lille :*

M. SOURIAU