

RECHERCHES
SUR
LES SUBSTANCES ALBUMINOÏDES
DU SÉRUM SANGUIN.

DEUXIÈME PARTIE.

LE POUVOIR ROTATOIRE DE L'ALBUMINE DU SANG DE CHIEN;

PAR

LÉON FREDERICQ.

Travail du laboratoire de physiologie de l'Université de Liège.

J'ai démontré dans un travail précédent (ARCHIVES DE BIOLOGIE, t. I, 1880, *Recherches sur les substances albuminoïdes du sérum sanguin*, et BULLETINS DE L'ACADÉMIE ROYALE DE BELGIQUE, 2^e série, t. L, n^o 7, juillet 1880, *Sur le dosage des substances albuminoïdes du sérum sanguin par circumpolarisation*), que les deux substances albuminoïdes qui existent en quantité notable dans le sérum sanguin, l'albumine et la paraglobuline, possèdent un pouvoir rotatoire spécifique notablement différent : $\alpha[D] = -47.8^\circ$ pour la paraglobuline et $\alpha[D] = -57.3^\circ$ pour l'albumine.

Il faut tenir compte de ce fait si l'on veut doser les albuminoïdes du sérum par circumpolarisation au moyen du polarimètre. On commencera par déterminer le degré de rotation que le liquide naturel (sérum) imprime au plan de la lumière polarisée. Le nombre que l'on obtient ainsi exprime la somme de la rotation produite par la paraglobuline et de celle produite par l'albumine. Une seconde opération a pour but de déterminer la part qui revient à la paraglobuline dans cette rotation. On y

arrive facilement en précipitant la paraglobuline au moyen du sulfate de magnésium dans un volume connu de sérum et en redissolvant le précipité convenablement lavé (avec une dissolution saturée de sulfate de magnésium) et égoutté dans un égal volume d'eau. La solution ainsi obtenue sert à déterminer optiquement le degré de rotation dû à la paraglobuline. Il suffira de soustraire ce nombre du premier pour avoir la part qui revient à l'albumine. Chacun de ces nombres divisé par celui qui représente le pouvoir rotatoire spécifique de la substance (respectivement 47.8° et 57.5 pour la paraglobuline et l'albumine) à laquelle il se rapporte indique la quantité de substance contenue dans 100 c. c. de sérum. On obtient ainsi le poids de la paraglobuline et celui de l'albumine. Leur somme représente le poids des albuminoïdes contenus dans 100 c. c. de sérum. J'ai publié des analyses de sérum de lapin et de bœuf montrant la concordance que présentent les nombres obtenus par cette méthode avec les résultats du dosage beaucoup plus long par l'alcool et la pesée du coagulum.

Comme le pouvoir rotatoire du sérum de lapin, de bœuf, de cheval représente exactement la somme des rotations produites par l'albumine et la paraglobuline qu'on peut en extraire, j'en avais conclu que ces substances y préexistent réellement et que la paraglobuline que l'on parvient à extraire en si grande quantité du sérum de cheval et de bœuf au moyen du sulfate de magnésium n'est pas un produit artificiel créé par l'action de ce sel, mais est contenue à l'avance dans le sérum naturel (1).

(1) Il s'est glissé page 470, ARCHIVES DE BIOLOGIE t. I. Sur les substances albuminoïdes du sérum, une erreur qui altère complètement le sens de la phrase.

Dans le passage : « Le pouvoir rotatoire de la paraglobuline est de 47.8° ; celui de sérine, la d'environ 57.5° ; les espèces de sérum où la première substance prédomine (Bœuf, Cheval) devront avoir un pouvoir rotatoire supérieur à $\frac{47.8^\circ + 57.5^\circ}{2} = 52.5^\circ$, pour l'ensemble des substances albuminoïdes coagulées

par l'alcool ou la chaleur. » Le mot supérieur doit évidemment être remplacé par inférieur.

De même au lieu de : ceux où la sérine prédomine dévieront moins, il faut lire : divieront plus le plan de la lumière polarisée qu'une solution d'égale concentration dont le pouvoir rotatoire spécifique serait — 52.5° .

Le mot Chien doit être supprimé.

Ces recherches m'ont également démontré que la paraglobuline et l'albumine présentent absolument les mêmes propriétés optiques, qu'elles aient été extraites du sang de bœuf, de lapin ou de cheval.

Il était naturel d'étendre ma méthode de dosage des albuminoïdes par circumpolarisation à d'autres espèces de sérum et notamment au sang de chien, animal de laboratoire par excellence.

Contrairement à mon attente, les analyses faites par le polarimètre fournirent toutes des chiffres notablement inférieurs à ceux des pesées directes :

TABLEAU I. — Dosage des substances albuminoïdes du sérum sanguin de Chien.

Numéros d'ordre.	A. — Par circumpolarisation.						B. — Par l'alcool bouillant et pesée du coagulum.			
	Rotation tube de 40 cent.	Rotation due à la paraglobuline	D'ou paraglobuline (α [D] = 47,8°)	Rotation due à l'albumine par référence.	D'ou albumine (α [D] = 37,5°)	Somme des albuminoïdes par circumpolarisation.	Nombre de c. c. analysés.	Poids du coagulum par l'alcool.	Poids des cendres.	Somme des albuminoïdes par pesée du coagulum alcoolique.
I.	3.22°	1.93°	gram. 4.08	1.29°	gram. 2.25	gram. 6.33	5	gram. 0.350	gram. 0.015	gram. 6.872
							5	0.3481		
							5	0.3479		
II.	2.60°	1.00°	2.09	1.60°	2.79	4.88	40	0.580	0.0245	5.863
							40	0.5935		
							40	0.599		
III.	2.47°	1.00°	2.09	1.47°	2.56	4.65	40	0.543	0.006	5.37
							40	0.7835		
IV.	3.87°	1.73°	3.62	1.74°	3.03	6.65	40	0.773	0.016	7.712
							40	0.773		

Ainsi dans les quatre analyses de sérum de chien dont le détail figure au tableau I, je trouve respectivement 6^{er}, 33, 4^{er}, 88, 4^{er}, 65, 6^{er}, 65 d'albuminoïdes dans 100 c. c. de sérum en opérant par circumpolarisation alors que la pesée directe du caillot fournit respectivement 6^{er}, 872, 5^{er}, 833, 5^{er}, 37, 7^{er}, 712 d'albuminoïdes.

La différence entre les deux séries de nombres se maintient dans le même sens et est d'ailleurs trop notable pour pouvoir être attribuée à des erreurs d'observation. Une assez longue expérience de deux méthodes m'a fait connaître les limites des erreurs que je suis exposé à commettre. Avec le polarimètre Laurent (grand modèle avec tubes de 5, 10, 20, 40 et 50 centimètres), dont je me sers actuellement, le zéro de l'instrument se détermine en peu d'instant à moins d'une minute près. Je ne crois pas que l'erreur de lecture dépasse une minute dans aucun des nombres des tableaux du présent travail (1). Les déterminations de poids de coagulum alcoolique ou autre sont toutes faites en triple avec toutes les précautions usitées en pareil cas (voir Hoppe-Seyler, *Handbuch der physiologisch-und pathologisch-chemischen Analyse*, Seröse Flüssigkeiten).

Puisque les nombres obtenus en divisant les degrés de rotation imprimés par le sérum de chien au rayon polarisé, par 57.3° et 47.8° (nombres censés représenter les pouvoirs rotatoires spécifiques des seules substances actives du sérum), sont notablement inférieurs à ceux fournis par l'expérience directe de la pesée, c'est évidemment que les bases du calcul qui fournit les premiers nombres sont inexactes. J'avais supposé tacitement que la paraglobuline et l'albumine étaient les seules substances actives existant en proportion notable dans le sérum de sang de chien et qu'en outre ces substances étaient optiquement identiques à celles du sang de bœuf, de lapin et de cheval. Mais chacune de ces hypothèses pouvait se trouver inexacte. Il était d'abord possible qu'à côté des substances albuminoïdes lévogyres coagulées par l'alcool et la chaleur, le sérum de chien contient des substances dextrogyres en quantité suffisante pour diminuer notablement les degrés de rotation à gauche et expliquer la différence trouvée.

Les expériences suivantes furent instituées pour vérifier cette première possibilité : 200 c. c. de sérum de chien furent coa-

(1) Les lectures se font en degrés et minutes à mon instrument. Je les ai convertis par le calcul en degrés et centièmes de degré. J'ai complètement abandonné le polaristrobomètre de Wild.

gulés par plusieurs volumes d'alcool ; l'alcool filtré, évaporé à un petit volume, puis refiltré.

Le liquide filtré réduit à environ 50 c. c. fut examiné dans le tube de 10 centimètres, il présentait une rotation insignifiante à droite.

Dans une autre expérience 40 centimètres cubes de sérum furent bouillis avec environ deux fois leur volume d'une solution de sulfate de magnésium légèrement acidulée par l'acide acétique. Le liquide filtré, examiné dans le tube de 500 millimètres (50 centimètres), présentait une trace de rotation à droite.

Enfin les liquides filtrés provenant de la coagulation par la chaleur de 60 c. c. de sérum débarrassés au préalable de leur paraglobuline par le sulfate de magnésium, furent réunis, réduits à 100 c. c. environ, filtrés et examinés dans le tube de 50 centimètres. Sous cette épaisseur, ils se montrèrent absolument inactifs.

Le sérum de chien débarrassé des substances coagulables par l'alcool ou la chaleur n'offre donc qu'une action dextrogyre imperceptible sur le plan de la lumière polarisée et c'est dans les substances albuminoïdes elles-mêmes qu'il faut chercher la cause du faible pouvoir rotatoire de ce sérum. Il restait donc à vérifier si, oui ou non, les substances albuminoïdes du sérum de chien sont différentes de celles du sang de cheval, de bœuf, de lapin.

Je commençai par déterminer le pouvoir rotatoire spécifique de la paraglobuline du sérum de chien, c'est-à-dire de la substance albuminoïde précipitée par le sulfate de magnésium. Une assez grande quantité de sérum de chien parfaitement clair (animal à jeun depuis la veille) fut saturée par $MgSO_4$, le précipité recueilli sur un filtre, égoutté, redissous dans l'eau et reprécipité par $MgSO_4$, puis la même série d'opérations répétée encore deux fois. Cette paraglobuline ainsi précipitée quatre fois servit à faire une solution opalescente qui, dans le tube de 10 centimètres, produisit une rotation à gauche de $5^{\circ}5'$ à $5^{\circ}6'$. Deux échantillons de 10 c. c. du même liquide furent analysés par ébullition en présence de quelques gouttes d'acide acétique dilué ; ils fournirent respectivement $0^{\circ},640$ et $0^{\circ},6395$ de sub-

stance coagulée. Le poids des cendres était insignifiant. Le pouvoir rotatoire $\alpha [D] = -48^{\circ}2$ obtenu ainsi pour la paraglobuline du chien est suffisamment voisin du chiffre 47.8° trouvé par moi précédemment pour la même substance extraite du sérum de bœuf et de cheval pour m'autoriser à en conclure à l'identité de leurs propriétés optiques. La paraglobuline du chien présente d'ailleurs toutes les autres propriétés physiques et chimiques de celle du sang de lapin, de bœuf; il n'y a donc aucune raison pour les considérer comme substances différentes.

TABLEAU II. — Détermination de $\alpha(D)$ pour l'albumine du sérum de Chien (liquides saturés de $MgSO_4$ (1).

Numéros d'ordre.	Rotation dans le tube de 40 centimètres.	Nombre de centim. cubes analysés.	Poids du coagulum obtenu par l'ébullition en présence de $C_2H_4O_2$.	Cendres.	Poids d'albumine dans 100 cent. cub. de liquide.	D'où $\alpha (D)$.	
I.	4.12°	10	grammes. 0.2415	grammes. ?	grammes. 2.415	44.5°	
			0.270	0.003			
II.	4.166°	10	0.286	0.0045	2.703	43.0°	
			0.2657				0.0035
			0.271				
III.	4.183°	10	0.275	0.006	2.753	42.9°	
			0.277				0.003
			0.283				
IV.	4.0°	20	0.452	0.015	2.25	44.44°	
			0.458				
			0.455				
V.	4.166°	20	0.535	0.041	2.65	44.0°	
			0.536				

Il ne me restait plus qu'à vérifier le pouvoir rotatoire de

(1) Dans chacun de ces dosages, la solution d'albumine saturée de sulfate de magnésium fut versée goutte à goutte dans l'eau acidulée par $C_2H_4O_2$ maintenue en ébullition dans un grand tube à réaction. On ne peut songer à la coagulation par l'alcool quand il s'agit de liquides saturés de $MgSO_4$.

l'albumine proprement dite, c'est-à-dire des substances albuminoïdes qui restent en solution dans le sérum débarrassé de paraglobuline par le sulfate de magnésium.

Le tableau II contient les détails de plusieurs analyses de sérum exempt de paraglobuline.

La moyenne des nombres exprimant le pouvoir rotatoire spécifique de l'albumine du sérum de chien est d'un peu moins de $\alpha[D] = -44^\circ$, tandis que pour le sérum de bœuf, de chien, de lapin la moyenne était de 57.5° , chiffre très différent.

L'albumine du sang de chien est donc une substance OPTIQUEMENT DIFFÉRENTE de celle du sang de lapin, de bœuf, de cheval.

Nous pouvons, à présent que nous connaissons le pouvoir rotatoire spécifique des substances albuminoïdes du sérum de chien, aborder à nouveau le problème de leur dosage par circumpolarisation. Reprenons les chiffres des analyses du tableau I, introduisons-y la nouvelle valeur $\alpha D = -44^\circ$ comme pouvoir rotatoire de l'albumine et nous constaterons cette fois un accord assez satisfaisant entre les nombres fournis par les deux méthodes comme le montre le tableau III.

TABLEAU III. — Dosages comparatifs des substances albuminoïdes du sérum de Chien par circumpolarisation et par coagulation (par l'alcool) (1).

Numéros d'ordre.	Rotation	Rotation	D'où	Rotation	D'où	Somme	Somme
	tube de 10 cent.	due à la paraglobuline.	paraglobuline ($\alpha D = 47.8^\circ$).	due à l'albumine (par différence).	albumine ($\alpha D = 44^\circ$).	des albuminoïdes par circumpolarisation.	des albuminoïdes par pesée du coagulum.
I	3.22°	1.93°	grammes. 4.08	1.29°	grammes. 2.92	7.00	6.872
II	2.60°	1.00°	2.09	1.60°	3.63	5.71	5.833
III	2.47°	1.00°	2.09	1.47°	3.34	5.43	5.37
IV	3.57°	1.73°	3.62	1.74°	3.93	7.57	7.712

(1) Voir tableau I.