

DE L'EXISTENCE
DANS
LE PLASMA SANGUIN

D'UNE SUBSTANCE ALBUMINOÏDE SE COAGULANT A $+ 56^{\circ}$ C.

ET

D'UNE MÉTHODE NOUVELLE DE DOSAGE DES ÉLÉMENTS ALBUMINOÏDES DU SANG
(COMMUNICATION PRÉALABLE);

PAR

le docteur **LÉON FREDERICQ.**

MEMBRE TITULAIRE.

Les méthodes de dosage des éléments albuminoïdes du sang sont toutes basées sur l'étude de ce liquide considéré après la production de la fibrine. Cette substance figure ainsi dans tous les résultats d'analyse, car nous ne possédons aucune méthode permettant l'analyse complète du sang avant sa coagulation spontanée. Cependant le plasma sanguin a très-probablement une constitution toute différente de celle du sérum, et l'on n'est nullement autorisé à conclure de l'une à l'autre.

Ma méthode d'analyse s'adresse au sang avant sa coagulation spontanée. Elle permet de reconnaître et de doser au moins trois substances albuminoïdes différentes dans le plasma sanguin. Elle est basée sur un fait nouveau : ces substances se coagulent par la chaleur à des températures différentes.

On sait depuis longtemps (Hewson) que le sang de cheval pris à la veine jugulaire, et reçu directement dans un vase dont la tem-

pérature est maintenue au-dessous de 0°, reste liquide pendant plusieurs heures et même plusieurs jours. Grâce à la densité élevée des globules rouges, il se sépare au bout de quelques instants en cruor et en plasma. Ce plasma doit être décanté et filtré à une basse température. Le froid ne fait que suspendre la production de la fibrine. Si l'on soustrait le liquide à cette influence, il se coagule spontanément au bout d'un quart d'heure, d'une demie heure, d'une heure ou d'un temps beaucoup plus long, suivant la température du milieu ambiant et quelques autres circonstances de l'expérience. Je puis ainsi le chauffer à toutes les températures comprises entre 0° et + 56°; il reste parfaitement clair et ne tarde pas à se coaguler par production de fibrine. Une température supérieure à + 56° c. lui fait brusquement et irrévocablement perdre ses propriétés fibrinogènes, qu'une addition de sérum est même incapable de rappeler. En même temps une substance albuminoïde (fibrinogène de Schmidt?) s'y précipite à l'état floconneux. Ce précipité se laisse facilement séparer par filtration : le liquide filtré passe parfaitement clair. On peut le chauffer jusqu'à + 67°, avant que les premiers signes d'une nouvelle coagulation se produisent (albumine ordinaire). Comme le sérum, ce liquide contient encore de l'albumine et de la paraglobuline. Il précipite en effet par le chlorure de sodium en poudre et par l'acide carbonique. La substance qui précipite à + 56° appartient au groupe des globulines et paraît devoir être rapportée au fibrinogène de Schmidt. Le chlorure de sodium en poudre la précipite complètement du plasma sanguin en même temps que la paraglobuline. Ce mélange (plasmine de Denis), redissout dans l'eau distillée à la faveur du peu de sel qui lui reste adhérent, et chauffé graduellement, se coagule une première fois comme le plasma sanguin vers + 55° c. Le liquide filtré qui est parfaitement clair, contient encore la paraglobuline et se trouble une seconde fois à partir de + 75° c. La paraglobuline paraît donc également avoir un point de coagulation différent de celui de l'albumine du plasma.

La nécessité d'employer de grandes quantités de glace pour ces expériences, constitue un inconvénient sérieux surtout en été. Il existe heureusement deux autres moyens de se procurer

du plasma sanguin. On peut, comme je l'ai fait souvent, isoler sur un cheval vivant ou récemment abattu; les veines jugulaires, les lier et les extraire (Glénard). Dans un tel vaisseau, le sang reste indéfiniment liquide. On le suspend verticalement; la séparation en globules et plasma ne tarde pas à s'effectuer; une ligature intermédiaire sert à isoler la portion supérieure qui renferme le plasma. On peut alors, soit ouvrir cette veine et employer le plasma comme il a été dit précédemment, soit chauffer ce liquide sans le sortir de son réceptacle naturel. La veine gonflée de plasma est introduite à côté d'un thermomètre dans un tube de verre à parois minces. Le tube, convenablement bouché, plonge dans un bain d'eau dont un second thermomètre indique la température. On chauffe lentement, de façon que le thermomètre intérieur ne soit jamais en retard de plus d'un ou deux dixièmes de degré sur le thermomètre plongé dans l'eau. Si l'on retire la veine, et si on l'ouvre avant d'avoir atteint le premier point de coagulation, le liquide qui s'en écoule est clair et ne tarde pas à se prendre en caillot à la façon du sang. Si l'on a dépassé $+ 56^{\circ}$, le liquide extrait de la veine a perdu la propriété de se coaguler spontanément et renferme un précipité floconneux. Ce procédé est élégant comme démonstration et d'une exécution facile, mais fort défectueux s'il s'agit d'une analyse quantitative, à cause de la difficulté de déterminer exactement le poids du liquide employé, et de l'erreur causée par la présence d'une certaine quantité de leucocytes qui se trouvent entraînés en même temps que la substance qui coagule à $+ 56^{\circ}$.

Le procédé le plus commode consiste à suspendre la coagulation spontanée par l'introduction dans le sang d'un sel à métal alcalin ou alcalin-terreux. Le sulfate de magnésium déjà employé par Alexandre Schmidt et par Hammarsten, est celui qui m'a le mieux réussi.

Le vase dans lequel je reçois le sang contient un poids ou un volume connu d'une solution de sulfate de magnésium (une partie $MgSO_4$, pour 3 parties H_2O) correspondant au tiers d'un volume de sang à recevoir. J'achève de le remplir avec le sang que je laisse couler directement de la veine. La séparation en globules et plasma s'effectue ici de la même façon que pour le

sang soumis au froid, quoique plus lentement. Le plasma recueilli au bout de quelques heures et filtré, offre toutes les propriétés du plasma naturel. La présence du sulfate de magnésium se borne à abaisser légèrement les points de coagulation. La première substance se coagule alors à $+ 54^{\circ},5$ c., la seconde commence vers $+ 66^{\circ}$ c. La première de ces coagulations se produit dans des limites fort étroites de température, n'atteignant certainement pas un demi degré pour le même sang. L'analyse complète des matières albuminoïdes du plasma avant sa coagulation spontanée comprend nécessairement trois opérations :

A) On chauffe au bain d'eau dans un tube fermé une cinquantaine de grammes au moins de plasma au sulfate de magnésium, à une température qui ne doit pas dépasser $+ 60^{\circ}$. Il est inutile d'aciduler. On lave le précipité dans un gobelet, on le recueille sur un filtre taré, on l'épuise par l'eau distillée, puis par l'alcool bouillant, jusqu'à ce que le liquide filtré ne précipite plus par le chlorure de baryum. On dessèche à $+ 110^{\circ}$ et on pèse lorsque la substance ne diminue plus de poids. On calcine ensuite le filtre et le précipité pour tenir compte du poids des cendres, qui est insignifiant si les lavages ont été bien conduits. On obtient ainsi le poids de la première substance (fibrinogène de Schmidt?)

B) Une seconde portion du même plasma, également d'une cinquantaine de grammes, est pesée dans un gobelet, puis additionnée de chlorure de sodium en poudre jusqu'à ce que ce sel refuse de se dissoudre. On achève de remplir le gobelet avec une solution saturée de chlorure de sodium à l'effet de laver le précipité qui s'est formé. On le recueille sur un filtre taré et on le lave avec de l'alcool faible bouillant. Pour le reste on opère comme précédemment. On obtient ainsi le poids de la première substance, plus celui de la paraglobuline (plasmine de Denis) (1).

(1) Le chiffre obtenu ainsi est trop faible. Une partie de la paraglobuline reste en solution. Mieux vaudrait sans doute doser la paraglobuline en la précipitant par l'acide carbonique et une goutte d'acide acétique dans les liquides filtrés de A.

c) Une troisième portion qui ne doit pas dépasser 20 gramm., est versée dans au moins 50 à 100 cc. d'eau en pleine ébullition. On ajoute avec une baguette de verre quelques gouttes d'acide acétique dilué, et on laisse bouillir quelques instants. On recueille sur un filtre, on lave à l'eau et à l'alcool bouillant, etc. On obtient ainsi le poids du fibrinogène, de la paraglobuline et de l'albumine réunis, et l'on possède tous les éléments du calcul de l'analyse du plasma, son degré de dilution ayant été déterminé. Je décrirai sous peu une méthode facile permettant d'arriver à ce dernier résultat. Je compte publier en même temps les chiffres des analyses de sang avant et après la coagulation spontanée, et les conclusions importantes qu'on peut en tirer relativement au rôle des diverses substances albuminoïdes du plasma dans le phénomène de la formation de la fibrine. Ces recherches se poursuivent actuellement au laboratoire de physiologie de M. le professeur Boddaert.

J'ai de vifs remerciements à adresser à M. Remy, directeur de l'abattoir de Gand, pour l'assistance qu'il m'a prêtée dans le cours de ces expériences.

c) Une troisième portion qui ne doit pas dépasser 20 gramm., est versée dans au moins 50 à 100 cc. d'eau en pleine ébullition. On ajoute avec une baguette de verre quelques gouttes d'acide acétique dilué, et on laisse bouillir quelques instants. On recueille sur un filtre, on lave à l'eau et à l'alcool bouillant, etc. On obtient ainsi le poids du fibrinogène, de la paraglobuline et de l'albumine réunis, et l'on possède tous les éléments du calcul de l'analyse du plasma, son degré de dilution ayant été déterminé. Je décrirai sous peu une méthode facile permettant d'arriver à ce dernier résultat. Je compte publier en même temps les chiffres des analyses de sang avant et après la coagulation spontanée, et les conclusions importantes qu'on peut en tirer relativement au rôle des diverses substances albuminoïdes du plasma dans le phénomène de la formation de la fibrine. Ces recherches se poursuivent actuellement au laboratoire de physiologie de M. le professeur Boddaert.

J'ai de vifs remerciements à adresser à M. Remy, directeur de l'abattoir de Gand, pour l'assistance qu'il m'a prêtée dans le cours de ces expériences.

sang soumis au froid, quoique plus lentement. Le plasma recueilli au bout de quelques heures et filtré, offre toutes les propriétés du plasma naturel. La présence du sulfate de magnésium se borne à abaisser légèrement les points de coagulation. La première substance se coagule alors à $+ 54^{\circ},5$ c., la seconde commence vers $+ 66^{\circ}$ c. La première de ces coagulations se produit dans des limites fort étroites de température, n'atteignant certainement pas un demi degré pour le même sang. L'analyse complète des matières albuminoïdes du plasma avant sa coagulation spontanée comprend nécessairement trois opérations :

A) On chauffe au bain d'eau dans un tube fermé une cinquantaine de grammes au moins de plasma au sulfate de magnésium, à une température qui ne doit pas dépasser $+ 60^{\circ}$. Il est inutile d'aciduler. On lave le précipité dans un gobelet, on le recueille sur un filtre taré, on l'épuise par l'eau distillée, puis par l'alcool bouillant, jusqu'à ce que le liquide filtré ne précipite plus par le chlorure de baryum. On dessèche à $+ 110^{\circ}$ et on pèse lorsque la substance ne diminue plus de poids. On calcine ensuite le filtre et le précipité pour tenir compte du poids des cendres, qui est insignifiant si les lavages ont été bien conduits. On obtient ainsi le poids de la première substance (fibrinogène de Schmidt?)

B) Une seconde portion du même plasma, également d'une cinquantaine de grammes, est pesée dans un gobelet, puis additionnée de chlorure de sodium en poudre jusqu'à ce que ce sel refuse de se dissoudre. On achève de remplir le gobelet avec une solution saturée de chlorure de sodium à l'effet de laver le précipité qui s'est formé. On le recueille sur un filtre taré et on le lave avec de l'alcool faible bouillant. Pour le reste on opère comme précédemment. On obtient ainsi le poids de la première substance, plus celui de la paraglobuline (plasmine de Denis) (1).

(1) Le chiffre obtenu ainsi est trop faible. Une partie de la paraglobuline reste en solution. Mieux vaudrait sans doute doser la paraglobuline en la précipitant par l'acide carbonique et une goutte d'acide acétique dans les liquides filtrés de A.