

84
Reçu le 28 mars 1950.

LES CONSTITUANTS INORGANIQUES DU PLASMA SANGUIN DE L'ANODONTE AU COURS DE L'INANITION

PAR

Marcel FLORKIN, Ghislaine DUCHATEAU et Jean LECLERCQ
(Institut Léon Fredericq, Laboratoire de Chimie physiologique,
Université de Liège)

3 figures

L'étude des constituants inorganiques du plasma sanguin de l'Homme au cours de l'inanition a été faite par BENEDICT (1915) qui a observé après quelques jours une diminution de la teneur du plasma sanguin en ions chlore et en sodium. GAMBLE, ROSS et TISDALL (1923) ont montré qu'un jeûne de quinze jours entraîne une diminution progressive de la teneur du plasma en ions chlore. Le sodium est abaissé au 6^e jour, mais remonte, aux environs du 15^e jour, à une valeur voisine de celle du début de l'expérience, bien que située un peu en dessous de cette valeur. Les auteurs admettent qu'un jeûne de quinze jours ne modifie pas sensiblement la teneur du plasma en base totale.

HARTMAN et ses collaborateurs (1941) ont fait quelques observations sur les constituants inorganiques du plasma sanguin de *Raia erinacea*. Ils ont observé au cours d'un jeûne de trente-cinq jours un accroissement progressif du sodium, du magnésium et du chlore, et une diminution progressive de l'urée. D'autre part, ils ont montré qu'une injection d'urée amène un abaissement de la teneur du plasma en sodium. En ce qui concerne les Invertébrés dulcicoles, l'étude de l'inanition prolongée est particulièrement intéressante. Soumis au jeûne, l'animal recourt non seulement à une partie de ses tissus pour couvrir la perte continue de constituants inorganiques par les excreta, mais encore utilise le mécanisme d'absorption active.

On peut donc espérer voir les variantes de ce dernier se traduire par des variantes du déroulement des modifications de la formule inorganique du milieu intérieur au cours de l'inanition prolongée. SCHWABE (1933) n'a pas observé, chez *Potamobius astacus* soumis à un jeûne de cinq mois, de diminution sensible de la valeur de l'abaissement cryoscopique, tandis que chez *Eriocheir sinensis* adapté à l'eau douce, la variation est, selon le même auteur, très nette (Animaux alimentés : 1.18 ; Animaux en inanition depuis sept mois : 0.67). SCHOLLES (1933) a étudié un peu plus en détail les variations des constituants inorganiques. Chez les Ecrevisses *Potamobius astacus* et *Potamobius leptodactylus*, l'abaissement cryoscopique reste pratiquement normal pendant un jeûne de plusieurs semaines. Si la concentration des ions chlore et magnésium reste pratiquement normale, il y a une augmentation de la calcémie. Les chiffres ne permettent pas de tirer de conclusion quant au potassium, et le sodium n'a pas été dosé. Chez *Eriocheir sinensis* adapté à l'eau douce, la valeur de l'abaissement cryoscopique est, selon SCHOLLES comme selon SCHWABE, nettement diminuée après cinq mois d'inanition. La teneur du sang en ions chlore est abaissée de 43 p. 100 environ, tandis que les teneurs en calcium, en magnésium et en potassium restent dans les limites des valeurs normales. Le sodium n'a pas été dosé.

Si intéressantes que soient les données que nous venons de rapporter au sujet des Invertébrés d'eau douce, elles incitent surtout à une étude plus approfondie de la question. C'est ce qu'on a tenté de faire, dans le présent travail, en ce qui concerne l'Anodonte (*Anodonta cygnea*, L.). L'un de nous (FLORKIN, 1938) a montré que l'abaissement cryoscopique du plasma sanguin de l'Anodonte peut se maintenir longtemps, au cours de l'inanition, à sa valeur normale. On n'a observé de diminution notable de cette valeur qu'au 22^e mois. A ce moment, chez les animaux ayant survécu à ce jeûne prolongé, et qui présentaient un aspect normal, la valeur la plus faible était de 0.057^o alors que l'abaissement cryoscopique normal est de 0.1^o environ.

Méthodes

Dosage du Sodium :

Déprotéinisation à l'acide trichloracétique à 20 %. La précipitation est réalisée ensuite au moyen du réactif de KAHANE (1930). On lave le précipité selon les indications de LAMBRECHTS et DELTOMBE (1941) et on le redissout dans l'eau. On titre l'acide acétique par la soude 0.02 N en présence de phénolphthaleine (modification de la méthode de WEINBACH, 1935).

Dosage du Potassium :

Incinération et dosage selon la méthode de SHOHL et BENNETT modifiée par FENN et COBB (1934).

Dosage du Calcium :

Précipitation de l'oxalate selon VAN SLYKE et SENDROY (1936). Lavages par un mélange, à volumes égaux, d'eau, d'alcool et d'éther additionné de 2 cm³ d'ammoniaque concentrée par 98 cm³ de mélange (WANG, 1935). Titrage au permanganate.

Dosage du Magnésium :

Dans le filtrat de précipitation du calcium, précipitation du magnésium sous forme de phosphate ammoniaco-magnésien par la méthode de BRIGGS (1924). Dosage au moyen du photomètre de PULFRICH (filtre S 72).

Dosage des Chlorures :

Méthode de VAN SLYKE et SENDROY (VAN SLYKE, 1923).

Discussion statistique des résultats :

La comparaison statistique des moyennes a été faite grâce au calcul du *t*, suivant la formule de SIMPSON et ROE (1939) dans laquelle M₁ et M₂ sont les moyennes arithmétiques à comparer, N₁ et N₂ les nombres d'observations correspondantes et σ_{m₁} et σ_{m₂} les erreurs correspondantes calculées suivant $\sigma_m = \frac{\sigma}{\sqrt{N}}$.

Dans ces conditions :

$$t = \frac{M_2 - M_1}{\sqrt{\frac{N_1 \times \sigma_{m_1}^2}{N_2} + \frac{N_2 \times \sigma_{m_2}^2}{N_1}}}$$

Dans aucun cas, il ne s'est avéré nécessaire de recourir à la comparaison des moyennes géométriques du fait que les valeurs individuelles se sont toujours réparties dans chaque cas suivant un mode symétrique impliquant une distribution probable en

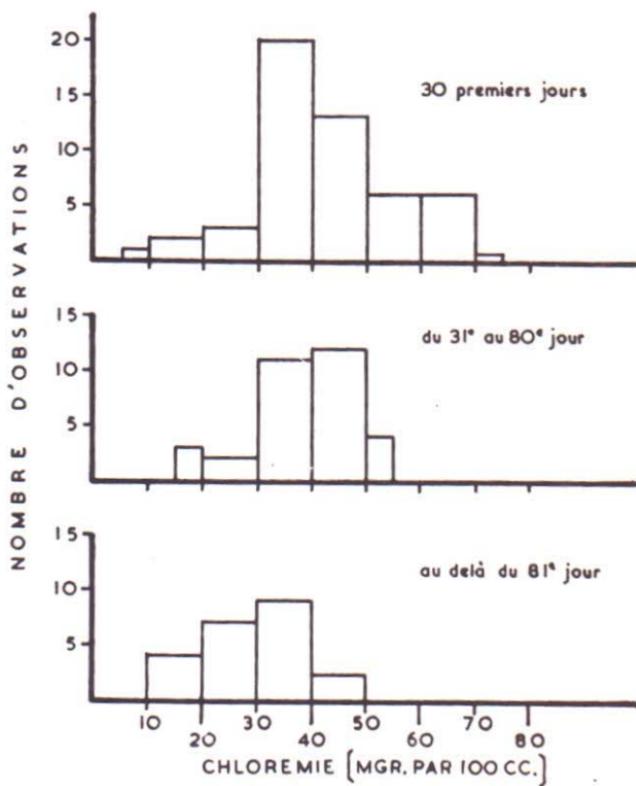


FIG. 1.

Distribution des valeurs individuelles de la chlорémie.

courbe de GAUSS (cf. fig. 1). La probabilité à l'équivalence des moyennes a été indiquée suivant le tableau de SIMPSON et ROE (1939, p. 206).

TABLEAU I.

Date de réception	Date de prélèvement	mgr. p. 100 cc.				
		Na	K	Ca	Mg	Cl
17-5-46	20- 5-46	36.03	1.10	31.0		35.3
	20- 5-46	36.03	1.40	33.2		35.3
	27- 5-46	32.8	1.00	50.4		20.4
	27- 5-46	35.0		39.4		25.1
	24- 6-46	25.4		53.2		30.0
	24- 6-46	25.9	0.66	45.6		30.4
	29- 1-47	15.8		50.0	0.78	25.7
	10- 2-47	16.8	0.83	51.5	0.60	26.8
	10- 2-47	18.1		55.4	0.47	25.4
	10- 2-47	11.7		54.8		24.6
	10- 3-47		1.44		0.78	28.4
	18-11-47	7.2	0.84	53.5		31.3
	10-12-47	17.8	0.09	44.5	1.18	32.6
	18-12-47	9.1		46.0		12.0
	7-10-48	11.3	0.35	38.7	0.60	11.1
22-3-47	7-10-48	11.9	0.78	48.0	0.60	29.5
	7-10-48	11.5	0.50	40.2	0.60	30.5
	4-11-48	10.5	1.25	35.2	0.64	22.4
	10-11-48	13.0	0.71	43.0	0.68	31.2
	10-11-48	12.4	0.74	50.0	0.68	31.6
8-11-47	10-11-48	13.8	0.66	47.3	0.68	32.0
	18-11-47	44.0	1.17	32.5		47.8
	2-12-47	39.5	0.54	33.0	0.9	47.0
10-4-48	10-12-47	34.5	0.38	38.4	0.84	47.8
	18-12-47	34.5		44.2		48.6
	18- 5-48	32.0	1.09	44.2	0.76	36.8
	18- 5-48	35.5	0.90	41.6	0.72	39.2
28-9-48	18- 5-48	32.5	1.13	35.6	0.75	36.6
	18- 5-48	39.0	0.80	39.6	0.82	41.8
	18- 5-48	37.0	1.10	42.1	0.81	37.8
	22-11-48	37.9	1.09	37.2		54.3
	22-11-48	38.6	0.83	37.7		47.9
	22-11-48	38.0	1.37	36.2		49.0
	1-12-48	36.2	1.40	38.5	0.61	53.1
	1-12-48	28.2	0.97	41.7	0.55	47.3
	1-12-48	40.0	1.72	37.5	0.69	53.7
	6-12-48	30.0	1.20	37.1	0.85	47.8
	6-12-48	30.0	1.30	40.4	0.67	50.8
	6-12-48	30.0	1.30	47.0	0.51	48.9
	6-12-48	31.7	1.00	43.4	0.75	51.6
	6-12-48	31.0	1.80	41.7	0.71	47.0
	6-12-48	32.0	0.72	39.4	0.71	46.6

TABLEAU II.

Chlorémie (mgr. par litre)

Epoque des observations	Nombre d'observations	Moyenne	Erreur standard
Valeurs initiales du 1 ^{er} au 30 ^e jour après réception .	52	427 (M_1)	± 20
Du 31 ^e au 80 ^e jour	32	364 (M_2)	± 19
Du 81 ^e au 130 ^e jour	4	389 (M_3)	± 34
Du 231 ^e au 280 ^e jour	4	259 (M_4)	± 2.5
297 ^e jour	1	210	
347 ^e jour	1	150	
389 ^e jour	1	180	
Du 531 ^e au 580 ^e jour	3	250 (M_5)	± 54
Du 581 ^e au 630 ^e jour	3	316 (M_6)	± 2
873 ^e jour	3	237 (M_7)	± 52
901 ^e jour	1	225	
Sommation des valeurs du 81 ^e au 901 ^e jour	21	274 (M_8)	± 19

Comparaison des moyennes

Moyennes comparées	Valeur du « <i>t</i> » suivant SIMPSON and ROE	Probabilité à l'équivalence des moyennes
M_1 et M_2	2.1	< 0.05
M_1 et M_3	> 1	> 0.10
M_1 et M_4	2.3	< 0.05
M_1 et M_5	2.1	< 0.05
M_1 et M_6	1.3	> 0.10
M_1 et M_7	2.2	< 0.05
M_1 et M_8	4.5	< 0.01
M_2 et M_8	3.7	< 0.01

Conclusion. — Diminution significative mais faible, ne se marquant bien qu'après plus de 6 mois de jeûne dans les conditions de l'expérience.

TABLEAU III.

Sodium (mgr. par litre)

Époque des observations	Nombre d'observations	Moyenne	Erreur standard
Valeur initiale du 1 ^{er} au 30 ^e jour après réception .	6	372 (M_1)	± 14
Du 31 ^e au 80 ^e jour	15	343 (M_2)	± 12
Du 81 ^e au 130 ^e jour	6	308 (M_3)	± 3.3
Du 231 ^e au 280 ^e jour	4	155 (M_4)	± 12
Du 531 ^e au 580 ^e jour	3	114 (M_5)	± 27
598 ^e jour	3	130 (M_6)	± 3.3
873 ^e jour	3	116 (M_7)	± 1.4
901 ^e jour	1	105	

Comparaison des moyennes

Moyennes comparées	Valeur du « t » suivant SIMPSON and ROE	Probabilité à l'équivalence des moyennes
M_1 et M_2	1.4	> 0.10
M_1 et M_3	4.5	< 0.01
M_1 et M_4	11	< 0.01
M_1 et M_5	9.4	< 0.01
M_1 et M_6	12	< 0.01
M_1 et M_7	12	< 0.01

Conclusion — Diminution très importante et continue dépassant les 2/3 de la teneur initiale ; se manifeste déjà d'une façon absolument significative dès après les deux premiers mois.

TABLEAU IV.

Potassium (mgr. par litre)

Époque des observations	Nombre d'observations	Moyenne	Erreur standard
Valeurs initiales du 1 ^{er} au 30 ^e jour	5	10.0 (M_1)	± 1.2
Du 31 ^e au 80 ^e jour	19	10.9 (M_2)	± 0.79
269 ^e jour	1	8.3	
297 ^e jour	1	14.0	
Du 531 ^e au 580 ^e jour	2	1.0	
598 ^e jour	3	7.0 (M_3)	± 0.2
873 ^e jour	3	5.4 (M_4)	± 1.0
901 ^e jour	1	12.5	
Sommation des valeurs du 81 ^e au 901 ^e jour	11	6.7 (M_5)	± 1.2

Comparaison des moyennes

Moyennes comparées	Valeurs de « t »	Probabilité à l'équivalence des moyennes
M_1 et M_2	> 1	> 0.10
M_1 et M_3	1.9	0.10
M_1 et M_4	2.6	> 0.05
M_2 et M_4	2.6	0.02
M_1 et M_5	1.6	> 0.10

Conclusion. — Grande variabilité se maintenant au cours des expériences, tendance faible et très tardive (après plus d'un an) à une diminution chez un certain nombre de sujets.

TABLEAU V.
Calcium (mgr. par litre)

Époque des observations	Nombre d'observations	Moyenne	Erreur standard
Valeurs initiales du 1 ^{er} au 30 ^e jour après réception .	6	365 (M_1)	± 27
Du 31 ^e au 80 ^e jour	21	410 (M_2)	± 9
Du 231 ^e au 280 ^e jour	4	529 (M_3)	± 11
Du 531 ^e au 580 ^e jour	3	480 (M_4)	± 23
598 ^e jour	3	468 (M_5)	+ 17
873 ^e jour	3	423 (M_6)	± 24
901 ^e jour	1	352	
Sommation des valeurs du 231 ^e au 901 ^e jour	14	470 (M_7)	+ 16
Sommation des valeurs du 530 ^e au 901 ^e jour	10	446 (M_8)	± 17
Sommation des valeurs du 873 ^e au 901 ^e jour	4	* 405 (M_9)	± 23

Comparaison des moyennes

Moyennes comparées	Valeur du « t »	Probabilité à l'équivalence des moyennes
M_1 et M_2	2.0	0.05
M_1 et M_3	4.8	< 0.01
M_1 et M_4	2.7	< 0.05
M_1 et M_5	2.5	< 0.05
M_1 et M_6	1.1	> 0.10
M_1 et M_7	2.7	< 0.02
M_1 et M_8	2.7	< 0.02
M_2 et M_8	2.1	< 0.05
M_3 et M_6	4.2	< 0.01
M_1 et M_9	1.1	< 0.10

Conclusion. — Augmentation significative jusqu'au-delà de 1 ½ an, puis diminution progressive.

TABLEAU VI. — *Magnésium* (mgr. par litre)

Époque des observations	Moyenne	Nombre d'observations
Valeur initiale du 24 ^e jour	9.0	1
Du 31 ^e au 80 ^e jour	7.1 (\pm 0.2)	15
Du 231 ^e au 280 ^e jour	7.0	2
297 ^e jour	8.0	1
572 ^e jour	12.0	1
598 ^e jour	6.8 (\pm 0)	3
873 ^e jour	6.0 (\pm 0)	3
901 ^e jour	6.4	1
Sommation des résultats postérieurs au 230 ^e jour	7.1 (\pm 0.5)	11

Conclusion. — Aucune modification.

TABLEAU VII. — *Bases totales* (Na + K + Ca + Mg)
(milliéquivalents par 100 cm³)

Époque des observations	Nombre d'observations	Moyenne	Erreur standard
Valeurs initiales du 1 ^{er} au 30 ^e jour	1	3.440	
Du 31 ^e au 80 ^e jour	10	3.479 (M_1)	+ 0.046
Du 231 ^e au 280 ^e jour	1	3.371	
Du 531 ^e au 580 ^e jour	1	3.080	
598 ^e jour	3	2.947 (M_2)	± 0.080
873 ^e jour	3	2.686 (M_3)	± 0.122
901 ^e jour	1	2.295	

Comparaison des moyennes

Moyennes comparées	Valeurs de « <i>t</i> » suivant SIMPSON and ROE	Probabilité à l'équivalence des moyennes
M_1 et M_2	5	< 0.01
M_1 et M_3	7	< 0.01
M_2 et M_3	1.7	> 0.10

Conclusion. — Diminution progressive tout à fait significative à partir du 17^e mois.

TABLEAU VIII.

 $Na + Ca$ (milliéquivalents par 100 cm³)

Époque des observations	Nombre d'observations	Moyenne	Erreur standard
Valeurs initiales du 1 ^{er} au 30 ^e jour	5	3.43 (M_1)	± 0.13
Du 31 ^e au 80 ^e jour	12	3.44 (M_2)	± 0.05
Du 231 ^e au 280 ^e jour	4	3.32 (M_3)	± 0.07
Du 531 ^e au 580 ^e jour	3	2.89 (M_4)	± 0.08
598 ^e jour	3	2.90 (M_5)	± 0.08
873 ^e jour	3	2.62 (M_6)	± 0.12
901 ^e jour	1	2.21	

Comparaison des moyennes

Moyennes comparées	Valeurs du «t» suivant SIMPSON and ROE	Probabilité à l'équivalence des moyennes
M_2 et M_3	1.2	> 0.10
M_2 et M_4	5	< 0.01
M_2 et M_5	5	< 0.01
M_2 et M_6	7	< 0.01
M_1 et M_5	2.9	< 0.05

Conclusion. — La diminution des valeurs de $Na + Ca$ devient très marquée et tout à fait significative à partir du 17^e mois.

Résultats et Discussion

Les Anodontes ont été laissées dans un grand bac d'eau courante de la conduite et des individus de chacun des cinq lots utilisés ont fourni à différents intervalles les échantillons qui ont servi aux analyses dont les résultats sont réunis dans le Tableau I. En outre, un certain nombre de dosages des chlorures ont été faits à différents stades de l'inanition et les valeurs obtenues dans ces dosages, en même temps que celles correspondant aux chlorures dans le Tableau I sont rassemblés dans les histogrammes de la figure 1. Les tableaux II à VIII rapportent l'analyse statistique des résultats de l'ensemble des dosages des quatre constituants inorganiques

basiques et des ions chlore et les conclusions de cette étude apparaissent aussi dans les figures 2 et 3.

Au cours de l'inanition, un Invertébré dulcicole comme l'Anodonte peut compenser, en ce qui concerne la composition de son milieu intérieur, la perte continue d'éléments inorganiques due à l'excrétion, par les substances que fournit la fonte des tissus, et par une absorption active à partir du milieu aquatique.

A ses tissus, l'Anodonte peut, parmi les éléments dont il est question dans le présent travail, emprunter du potassium, du magnésium, et du calcium. Elle peut en outre emprunter du calcium à

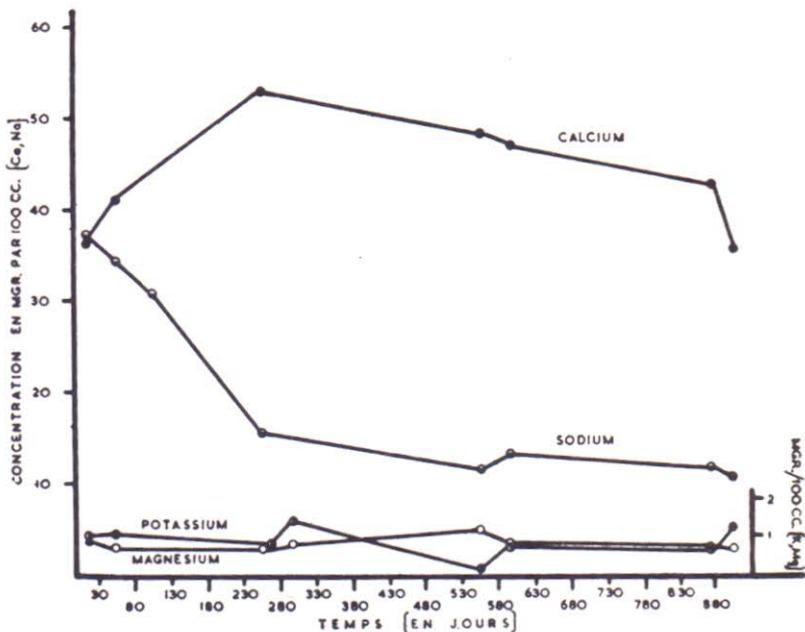


FIG. 2. — Les constituants inorganiques basiques du plasma sanguin de l'Anodonte au cours de l'inanition.

sa coquille. En ce qui concerne les ions extracellulaires (sodium et anions chlore), l'animal ne peut guère compter, éventuellement, que sur l'absorption active dont l'existence a été mise en évidence par KROGH (1939).

La chute rapide du sodium, déjà manifestée d'une façon absolument significative dès les deux premiers mois, montre qu'à

supposer qu'il existe chez l'Anodonte un mécanisme d'absorption active du sodium, ce mécanisme n'est pas capable de compenser la perte de sodium résultant de l'excrétion. Au contraire, le fait que la chlorémie est maintenue pendant plusieurs mois montre le caractère efficace, pendant cette période au moins, du mécanisme d'absorption active du chlore.

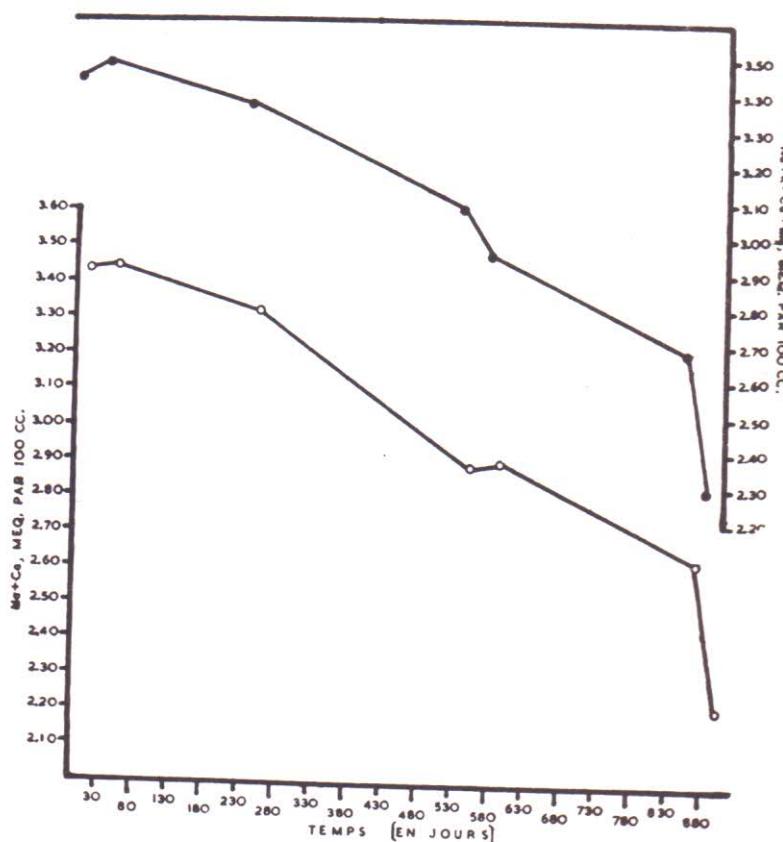


FIG. 3. — La base totale ($\text{Na} + \text{K} + \text{Ca} + \text{Mg}$) et la somme $\text{Na} + \text{Ca}$ du plasma sanguin de l'Anodonte au cours de l'inanition.

Si le potassium et le magnésium du plasma sont maintenus au voisinage de leur taux normal pendant l'inanition, et si le sodium marque une chute rapide, le taux du calcium, au contraire, augmente dès le début et cette augmentation reste significative pendant plus d'un an et demi.

En dépit des variations en sens divers des cations qui composent la base totale, cette dernière, bien que montrant une tendance progressive à la diminution, ne présente d'abaissement tout à fait significatif qu'à partir du 17^e mois. Comme la valeur de l'abaissement cryoscopique, celle de la base totale se maintient donc à un taux voisin de la normale pendant un temps très long, voisin d'un an et demi.

Le maintien du taux de la base totale résulte de la compensation approximative de la chute du sodium par la hausse du calcium. Cette compensation n'est complète à aucun moment, puisque la base totale a dès le début tendance à diminuer progressivement. Mais cette diminution n'est tout à fait significative qu'à partir d'environ un an et demi et elle se marque alors parallèlement sur la base totale et sur la somme sodium + calcium (voir fig. 3).

Conclusions

Au cours d'une inanition prolongée, les constituants inorganiques basiques du milieu intérieur de l'Anodonte ne se comportent pas de la même manière. Alors que le magnésium et le potassium restent à un taux à peu près normal, le sodium diminue dès le début, alors que le calcium augmente. La somme des bases, bien que marquant une tendance à la diminution continue, ne présente d'abaissement significatif qu'après un an et demi environ, au moment où la somme du sodium et du calcium le présente aussi.

Le maintien de la valeur de la chlорémie, dont un abaissement significatif ne se marque qu'après plus de six mois, indique l'existence au cours de cette période, d'un mécanisme efficace d'absorption active, tandis que la chute rapide du sodium montre que, s'il existe, le mécanisme d'absorption du sodium est beaucoup moins efficace que celui de l'anion chlore et est incapable de compenser la perte de sodium résultant de l'excration.

BIBLIOGRAPHIE

- BENEDICT, F. G. — *Carnegie Inst. Wash. Publ.*, 1915, **203**, 1.
BRIGGS, A. P. — *Journ. of Biol. Chem.*, 1924, **59**, 255.
FENN, W. O. et COBB, D. M. — *Journ. of gen. Physiol.*, 1934, **17**, 629.
FLORKIN, M. — *Arch. internat. Physiol.*, 1938, **47**, 125.
GAMBLE, J. L., ROSS, S. G. et TISDALL, F. F. — *Journ. of Biol. Chem.*, 1923, **57**, 633.

- HARTMAN, F. A., LEWIS, L. A., BROWNELL, K. A., SHELDEN, F. F. et WALTHER, R. F. — *Physiol. Zool.*, 1941, **14**, 476.
- KAHANE, E. — *Bull. Soc. Chim.*, 1930, **47**, 382.
- KROGH, A. *Osmotic regulation in aquatic animals*, Cambridge, 1939.
- LAMBRECHTS, A. et DELTOMBE, J. — *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1941, **23**, 411.
- SCHOLLES, W. — *Z. für vergl. Physiol.*, 1933, **19**, 522.
- SCHWABE, E. — *Z. für vergl. Physiol.*, 1933, **19**, 183.
- SIMPSON, G. G. et ROE, A. — *Quantitative Zoology*, New York, 1939.
- VAN SLYKE, D. D. — *Journ. of Biol. Chem.*, 1923, **58**, 523.
- VAN SLYKE, D. D. et SENDROY, J. — *Journ. of Biol. Chem.*, 1936, **114**, 147.
- WANG, C. C. — *Journ. of Biol. Chem.*, 1935, **111**, 443.
- WEINBACH, A. P. — *Journ. of Biol. Chem.*, 1935, **110**, 95.