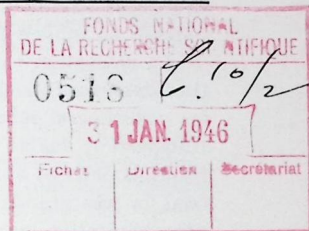


INSTITUT DE CLINIQUE MÉDICALE DE L'UNIVERSITÉ  
DE LIÈGE.  
PROFESSEUR L. BRULL.



## RÉPARTITION DU GLUCOSE DANS LES MILIEUX NON VASCULARISÉS DE L'OEIL.

Par Roger Weekers.

Aspirant du Fonds National de la Recherche Scientifique.

L'existence d'un métabolisme cornéen et cristallinien est démontrée depuis peu de temps. Cette activité métabolique comporte l'apport de substances nutritives et l'élimination de déchets. Ces échanges, s'effectuant dans des tissus non vascularisés, présentent certaines particularités dont l'étude est instructive, tant au point de vue physiologique que clinique.

Le but de ce travail est de déterminer la teneur relative en glucose de la cornée, du cristallin et des milieux environnants. Ces dosages apportent une nouvelle contribution à l'étude du mode de nutrition des tissus non vascularisés.

### *Technique.*

La mesure du glucose tissulaire se heurte à deux difficultés majeures: le manque de spécificité de la technique de dosage et la précocité des changements post-mortem.

La méthode de Hagedorn-Jensen précédée d'une défécation au sulfate de Cadmium n'a pas encore été, à notre connais-

\*) Reçu le 19ième Mars 1940.

sance tout au moins, appliquée à la détermination du glucose des tissus oculaires. Tous les dosages de ce travail ont été obtenus au moyen de cette technique.

La défécation cadmique est plus spécifique que la défécation zincique. Elle élimine du sang de certains animaux toutes les substances réductrices non fermentescibles (Roche et Dumazert<sup>1</sup>). En ce qui concerne la glycémie humaine, les résultats obtenus après déprotéinisation par le cadmium, sont, dans la très grande majorité des cas, moins élevés qu'après déprotéinisation par le zinc (L. Brull, résultats inédits). Il serait cependant imprudent de conclure à la spécificité absolue de cette méthode appliquée à l'extrait aqueux d'un tissu. Le dosage par fermentation reste, actuellement, la méthode de choix mais est d'une application malaisée à des quantités très réduites.

La mesure de la teneur en glucose d'organes vascularisés, très sensibles à l'anoxémie tels le cerveau, le foie, le muscle et le rein sont entachés d'une erreur considérable si l'on ne prévient pas les modifications post-mortem en congelant les tissus *in vivo*. (Kerr, Ghantus,<sup>2</sup> Blatherwick et collab.<sup>3</sup>) Cette précaution n'est pas indispensable en ce qui concerne des organes non vascularisés et à métabolisme lent comme le sont la cornée et le cristallin.

Des lapins d'un poids moyen d'1 Kg. 750 sont tués par un violent coup dans la région cervicale.

Du sang citraté ou non est prélevé au coeur ou à la jugulaire et centrifugé à 0° C. Le plasma est décanté et additionné de fluorure de Na.

L'humeur aqueuse des deux yeux est ponctionnée, additionnée de fluorure de Na et refroidie à 0° C.

Les deux cornées sont isolées par une incision limbique, découpées en fines languettes et introduites dans un pèse-filtre taré et contenant 5 cmc. d'une solution de fluorure de Na à 1 ou 2 %. Le poids du tissu est déterminé par différence.

Les deux cristallins sont prélevés sans léser la capsule et introduits dans un pèse-filtre taré contenant un agitateur et 5 cmc. d'une solution de fluorure de Na à 1 ou 2 %. Le tissu est soigneusement broyé et pesé par différence.

Les deux pèse-filtres sont portés à l'étuve à 37° C. et y séjournent pendant une heure. Au cours de cette extraction, le liquide est

homogénéisé à 2 ou 3 reprises par agitation. A la sortie de l'étuve, l'extrait aqueux de cristallin est débarassé, par une courte centrifugation, des particules solides qu'il tient en suspension. Plusieurs contrôles ont montré qu'un séjour d'une heure à 37° C. suffisait à une extraction totale et que la glycolyse était inhibée par la présence de fluorure. L'extraction à une température plus élevée clive des glycoprotéines et doit, pour cette raison, être abandonnée.

0,2 cmc. de plasma ou d'humeur aqueuse, 2 cmc. d'extrait aqueux de cornée ou de cristallin suffisent pour une mesure. Chaque échantillon est additionné de 2 cmc. d'une solution de sulfate de Cadmium (13,6 gr.  $\text{CaSO}_4$  + 60,5 cmc.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  N ad 1000 cmc.) puis après 5 minutes d'1 cmc. d'une solution de soude N/4 et soigneusement agité. Les tubes sont bouchés et centrifugés pendant 15 minutes. Une partie aliquote est prélevée (2 cmc. pour le plasma et l'humeur aqueuse; 4 cmc. pour la cornée; 3-4 cmc. pour le cristallin) et soumise au dosage titrimétrique classique de la méthode Hagedorn-Jensen.

Les concentrations sont calculées en mgr. de glucose par 100 cmc. pour le plasma et l'humeur aqueuse; en mgr. de glucose par 100 gr. de tissus frais pour la cornée et le cristallin.

D'une façon systématique, les dosages sont effectués en double. Les résultats en sont toujours parfaitement concordants.

### *Résultats expérimentaux.*

Ces recherches comportent trois séries d'expériences.

Les dosages de la première série ont été effectués sur des animaux dont la glycémie n'avait pas été modifiée expérimentalement.

La deuxième série groupe des lapins en hyperglycémie (3 à 6 gr. de glucose par Kilog. d'animal, en une ou deux injections sous-cutanées quelques heures avant le dosage).

La troisième enfin a été réalisée sur des animaux en hypoglycémie insulinique (2 à 4 unités par Kilog. d'animal en une ou deux injections sous-cutanées quelques heures avant le moment du dosage).

#### *1<sup>o</sup> série: glycémie normale.*

La détermination du glucose plasmatique importe seule dans l'étude du mode de formation de l'humeur aqueuse. Pour une raison mal connue, l'addition de citrate au sang,



abaisse, de 15 à 20 %, le pouvoir réducteur du plasma et entache le dosage d'une erreur par défaut. Le plasma centrifugé à 0° C. sans addition d'anticoagulant contient en moyenne 145 mgr. de glucose par 100 cmc.

La concentration de ce sucre dans l'humeur aqueuse de lapin est voisine de 100 mgr. par 100 cmc. Ce chiffre est quelque peu inférieur à ceux mentionnés dans la littérature (Holi,<sup>4</sup> Ask,<sup>5</sup> Duke-Elder,<sup>6</sup> James, Siefker.<sup>7</sup>) Cette différence est vraisemblablement due, à la spécificité de la défécation cadmique et à l'emploi d'une technique prévenant toute élévation anormale de la glycémie.\*) Ces dosages confirment un fait bien démontré antérieurement déjà: la teneur en glucose de l'humeur aqueuse est inférieure à celle du plasma (Ask,<sup>5</sup> de Haan, van Creveld,<sup>8</sup> Brull,<sup>9</sup> Walker.<sup>10</sup>)

La cornée contient, en moyenne, 90 mgr. de substances réductrices, exprimées en glucose, par 100 gr. de tissus frais. La marge de variation de ces dosages est assez étendue mais ne doit cependant pas être attribuée à un défaut de technique car, d'une façon constante, les résultats sont proportionnels à ceux obtenus pour le plasma.

La teneur en glucose du cristallin est moindre que celle de la cornée; elle atteint à peine, en moyenne, 60 mgr. par 100 gr. de tissus frais. Ce chiffre concorde avec celui obtenu par Lottrup-Andersen<sup>11</sup> pour le cristallin humain. Le pouvoir réducteur de la lentille varie dans des limites assez larges mais reste toujours en rapport étroit avec celui de l'humeur aqueuse.

Les résultats des dosages effectués sur des animaux à glycémie normale sont groupés dans le tableau 1. Les bases du calcul tenant compte de l'espace non dissolvant et établissant la teneur en glucose du liquide intratissulaire seront données plus loin.

---

\*) Une courte narcose à l'éther suffit pour augmenter considérablement la teneur en glucose du plasma, de l'humeur aqueuse, de la cornée et du cristallin.

Tableau I.

No de l'expér.	Poids	Plasma				Humeur aqueuse		Cornée		Cristallin		
		à 0° C.		citraté		(1)	(3)	(2)	(3)	(2)	(3)	
	Kg.	(1)	(3)	(1)	(3)	(1)	(3)	(2)	(3)	(2)	(3)	
lapin	80	1,700	—	—	—	—	—	91	123	38	59	
—	81	1,850	—	—	—	—	—	76	103	56	87	
—	82	1,750	—	—	—	—	—	132	178	61	95	
—	84	1,500	—	—	—	81	82	71	96	46	72	
—	85	1,600	—	—	—	83	84	73	99	51	79	
—	86	1,700	151	166	—	—	—	66	89	—	—	
—	88	2,000	—	—	121	133	116	117	116	157	67	105
—	89	1,650	189	207	146	160	137	138	116	157	94	147
—	90	1,750	125	137	109	120	106	107	87	117	57	89
—	91	2,400	116	127	99	108	98	99	80	108	64	100
—	92	2,050	—	—	143	157	93	94	95	128	53	83
chien		—	—	—	—	—	—	126	—	76	—	

(1) mgr. par 100 cmc. de liquide.

(2) mgr. par 100 gr. de tissus frais.

(3) après correction de l'espace non dissolvant: mgr. par 100 cmc. d'eau.

### 2<sup>o</sup> série: hyperglycémie.

L'injection sous-cutanée de glucose, quelques heures avant le dosage, entraîne une augmentation du pouvoir réducteur du plasma, de l'humeur aqueuse puis de la cornée et enfin du cristallin.

Le rapport  $\frac{\text{glucose humeur aqueuse}}{\text{glucose plasma}}$  est sensiblement le même chez l'animal normal et hyperglycémique ce qui témoigne de la pénétration rapide du sucre plasmatique dans les milieux intraoculaires.

L'entrée du glucose dans la cornée suit de très près l'élévation du pouvoir réducteur du plasma.

Par contre les dosages dans le cristallin traduisent un retard plus considérable qui, très vraisemblablement s'atténuerait si l'hyperglycémie pouvait être maintenue à un niveau constant pendant un laps de temps suffisant.

La glycémie du lapin est instable, elle est sujette à des variations rapides et amples sous l'effet de stimulations apparemment minimales. La simple fixation de l'animal sur la planche pendant une demi-heure provoque une hyperglycémie suivie de variations dans le même sens du glucose de l'humeur aqueuse de la cornée et du cristallin (lapin 87).

Les résultats des dosages de cette deuxième série sont réunis dans le tableau 2.

Tableau II.

No de l'expér.	Poids	Plasma				Humeur aqueuse		Cornée		Cristallin	
		à 0° C.		citraté		(1)	(3)	(2)	(3)	(2)	(3)
	Kg.	(1)	(3)	(1)	(3)	(1)	(3)	(2)	(3)	(2)	(3)
lapin 87	1,750	241	265	206	226	173	175	109	147	65	101
— 93	2,070	—	—	220	241	173	175	123	166	82	128
— 96	1,900	380	417	322	354	251	254	237	320	100	156
— 98	1,800	209	229	195	214	148	149	118	159	62	97
— 99	1,850	—	—	—	—	186	188	153	207	79	123

(1) mgr. par 100 cmc. de liquide.

(2) mgr. par 100 gr. de tissus frais.

(3) après correction de l'espace non dissolvant: mgr. par 100 cmc. d'eau.

87: fixé sur la table 30 minutes avant le dosage.

93: inj. s. cut. 1×3 gr. glucose par Kg: 3h. 20 avant le dosage.

96: — — — 2×3 gr. — — —: 4h. 45 et 1h. 45 avant le dosage.

98: — — — 2×3 gr. — — —: 4h. 45 et 2h. 30 — — —

99: — — — 2×3 gr. — — —: 5h. 30 et 3h. 00 — — —

### 3<sup>e</sup> série: hypoglycémie.

L'hypoglycémie insulinique entraîne une réduction proportionnelle du glucose de l'humeur aqueuse puis, avec quelque retard, un abaissement de la concentration de cet hexose dans la cornée et enfin dans le cristallin.

Les résultats de cette dernière série d'expériences sont groupés dans le tableau 3.



Tableau III.

No de l'expér.	Poids	Plasma				Humeur aqueuse		Cornée		Cristallin	
		à 0° C.		citraté		(1)	(3)	(2)	(3)	(2)	(3)
	Kg.	(1)	(3)	(1)	(3)	(1)	(3)	(2)	(3)	(2)	(3)
lapin 94	2,250	76	83	—	—	66	67	60	81	54	84
— 95	1,850	86	94	83	91	63	64	52	70	46	72
— 97	1,850	54	59	47	51	43	43	45	60	42	66
— 101	1,850	—	—	51	56	29	29	42	56	—	—
— 102	2,250	84	92	76	83	72	73	61	82	35	55

(1) mgr. par 100 cmc. de liquide.

(2) mgr. par 100 gr. de tissus frais.

(3) après correction de l'espace non dissolvant: mgr. par 100 cmc. d'eau.

94: inj. s. cut. 1×2 u. insuline par Kg. 3h. avant le dosage.

95: — — — 1×4 — — — 3h. 15 avant le dosage.

97: — — — 2×2 — — — 5h. 45 et 2h. 15 avant le dosage.

101: — — — 2×2 — — — 5h. 30 et 3h. 15 avant le dosage.

102: — — — 2×2 — — — 6h. 00 et 3h. 30 avant le dosage.

### Discussion.

Des travaux de biochimie, rares encore en ce qui concerne la cornée; plus nombreux et plus complets en ce qui concerne le cristallin, ont démontré l'existence d'un métabolisme cornéen et cristallinien; quelques-uns de ces travaux ont établi les modalités de ces échanges chimiques; d'autres en ont souligné l'importance étiologique dans de nombreuses entités cliniques.

D'après Kôhra,<sup>12</sup> l'activité métabolique de la cornée serait double: glycolytique et respiratoire. La source des substances nutritives nécessaires à ces échanges est discutée et l'accord n'est pas fait sur l'importance relative du liquide précornéen, de l'humeur aqueuse et du réseau capillaire périlimbique Rollet,<sup>13</sup> Wessely,<sup>14</sup> Leber<sup>15</sup>). La consommation d'O<sub>2</sub> et la formation de CO<sub>2</sub> a, très récemment, été mesurée par Nizetic.<sup>16</sup>

Si les lois de la diffusion déterminent les échanges entre ces divers milieux la comparaison des concentrations respec-

tives du glucose dans le plasma, les larmes, l'humeur aqueuse et la cornée permet de prévoir le sens de passage de ce sucre.

Les résultats expérimentaux de ce travail ont été, selon l'habitude, exprimés en mgr. par 100 cmc. de plasma ou d'humeur aqueuse et par 100 gr. de tissu frais. Ces chiffres ne peuvent être comparés directement entre eux. Une substance soluble dans l'eau ne se répartit pas uniformément dans l'entière d'un organe; elle ne se dissout que dans le liquide tissulaire.\*) C'est la concentration dans ce liquide qu'il importe de calculer et de comparer avec celle des milieux nourriciers.

Le degré d'hydratation d'un tissu permet d'estimer approximativement le volume de l'espace solvant et de l'espace non dissolvant. Le plasma contient 91 % d'eau; l'humeur aqueuse, 99 %. La teneur en eau de la cornée isolée selon la technique que nous avons utilisée atteint 74 % (évaporation à 100° C.). L'espace non dissolvant de ce tissu peut être évalué à 26 %. Cette estimation est vraisemblablement trop faible car le parenchyme cornéen est très hydrophile et il est plausible d'admettre qu'un certain pourcentage d'eau liée aux protéines ne dissout pas le glucose. (Fischer<sup>17</sup>).

Calculée sur cette base, les concentrations moyennes du glucose chez le lapin normal atteignent respectivement 159 mgr. par 100 cmc. d'eau dans le plasma; 103 mgr. dans l'humeur aqueuse; 120 mgr. au minimum dans le liquide cornéen.\*\*)

Le dosage du glucose dans les larmes physiologiques est malaisé et les résultats acquis jusqu'à présent, sont contradictoires (Ridley;<sup>18</sup> Michail et collab<sup>19</sup>). Le rôle du liquide lacrymal dans la nutrition de la cornée est d'autant plus incertain que la perméabilité de l'épithélium et de la membrane de Bowmann à l'égard du glucose n'est pas connue.

D'après nos expériences, la teneur en glucose du liquide cornéen serait supérieure à celle de l'humeur aqueuse tout en restant inférieure à celle du plasma. Cette observation indique

\*) Les hydrates de carbone des glycoprotéines n'interviennent pas dans ces dosages.

\*\*) Il serait d'un très grand intérêt de pouvoir faire le même calcul séparément pour le liquide de l'épithélium, de l'endothélium et du parenchyme.



l'importance du rôle que joue le réseau capillaire périlimbique dans la nutrition de la cornée. La diffusion ne suffit pas à expliquer le passage éventuel de glucose de l'humeur aqueuse vers la cornée.

Le métabolisme du cristallin semble plus actif que celui de la cornée. La consommation de glucose en a été démontrée à plusieurs reprises et a même été mesurée pour l'organe isolé. (Kronfeld, Bothmann;<sup>20</sup> Cohen, Killian;<sup>21</sup> Bakker;<sup>22</sup> Weekers<sup>23, 24, 25</sup>). Le mode de passage de cet hexose de l'humeur aqueuse vers le cristallin n'est pas connu; l'hypothèse d'une diffusion ne peut être retenue que si la concentration du glucose est plus élevée dans l'humeur aqueuse que dans le liquide tissulaire.

La teneur en eau du cristallin de lapin atteint 64 % (évaporation à 100° C.) la totalité ou tout au moins la majeure partie de cette eau constitue l'espace solvant; l'espace non dissolvant peut être estimé à 36 % au minimum. 100 gr. de tissus frais contiennent 60 mgr. de glucose; 100 cmc. de liquide tissulaire en contiennent donc approximativement 93 mgr. Cette concentration est inférieure à celle de l'humeur aqueuse. Il existe, entre le taux du glucose de l'humeur aqueuse et le taux du glucose du cristallin, un équilibre déterminé par deux facteurs principaux: la perméabilité de la capsule et l'activité métabolique de la lentille.

Le cristallin humain cataracté contient moins de glucose que le cristallin normal (Lottrup-Andersen.<sup>11</sup>) La faible teneur en eau d'un tissu dévitalisé peut expliquer cette différence.

Le pouvoir réducteur de la cornée s'élève au cours de l'hyperglycémie expérimentale. Le glucose cornéen est vraisemblablement de provenance plasmatique; sa pénétration ne suppose de passage ni au travers de l'épithélium, ni au travers de l'endothélium; sa répartition se ferait de proche en proche de la périphérie vers le centre.

Les expériences d'hyperglycémie provoquée démontrent de plus l'entrée dans le cristallin de glucose provenant de l'humeur aqueuse. Ce phénomène suppose le passage du sucre au travers de la capsule. On admet classiquement, sur la foi d'expériences dont les conditions techniques ne sont pas toujours à l'abri de la critique, que cette membrane est perméable aux cristalloïdes, imperméable à la plupart des colloïdes et

que la grosseur moléculaire décide en premier lieu du passage ou du non passage de telle ou de telle substance. Pour ce qui est du glucose, le phénomène paraît plus complexe qu'une simple diffusion. Müller admet l'existence de réactions enzymatiques où les processus de phosphorylation joueraient un rôle important.<sup>26</sup>

L'hypoglycémie insulínique réduit la concentration du glucose dans la cornée et le cristallin. Cette observation s'interprète de la façon la plus simple en admettant le retour du glucose tissulaire vers le milieu environnant: humeur aqueuse ou plasma.

L'issue du glucose hors du cristallin se fait toutefois avec un retard appréciable, car dans les conditions expérimentales décrites, la concentration de cet hexose dans le liquide tissulaire devient momentanément supérieure à celle de l'humeur aqueuse.

Les valeurs moyennes résumant les résultats de ces 3 séries d'expériences sont représentées graphiquement dans le tableau 4.

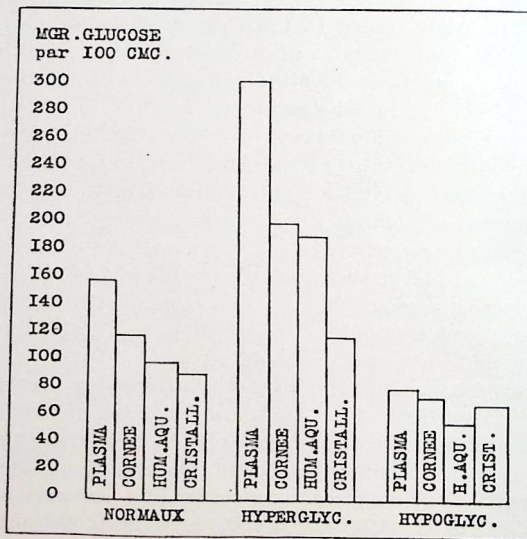


Tableau IV.

## Résumé.

Chez le lapin normal, le plasma contient en moyenne 159 mgr. de glucose par 100 cmc. d'eau, l'humeur aqueuse 103 mgr., le liquide tissulaire de la cornée 120 mgr. et le liquide tissulaire du cristallin 93 mgr.

L'hyperglycémie expérimentale entraîne très rapidement une élévation parallèle du glucose de l'humeur aqueuse, puis de la cornée et, avec quelque retard, du cristallin.

L'hypoglycémie expérimentale réduit la teneur en glucose d'abord de l'humeur aqueuse, ensuite de la cornée, enfin du cristallin.

La signification de ces faits expérimentaux dans le mode de nutrition de la cornée et du cristallin est brièvement discutée.

## BIBLIOGRAPHIE.

1. J. Roche, Ch. Dumazert: C. Rendus Soc. Biol. 1935, 120, 1225.
2. S. E. Kerr, M. Ghantus: Journ. Biol. Chem. 1937, 117, 217.
3. N. R. Blatherwick, Ph. Bradshaw, M. E. Ewing, H. W. Larson, S. D. Sawyer: Journ. Biol. Chem. 1935, 111, 537.
4. Holi: Jubilee volume of Prof. Komoto 1921.  
Klin. Monatsbl. f. Augenh. 1920, 65, 755.
5. F. Ask: Acta Ophth. 1927, 5, 23.
6. W. S. Duke-Elder: Brit. Journ. Ophth. Monogr. Supplem. IV. 1930. p. 28.
7. W. M. James, A. J. Siefker. Amer. Journ. Ophth. 1936, 19, 975.
8. J. de Haan, S. van Creveld: Biochem. Zeitschr. 1921, 123, 190.
9. L. Brull: Arch. Int. Physiol. 1930, 32, 138.
10. A. M. Walker. Journ. Biol. Chem. 1933, 101, 269.
11. Chr. Lottrup-Andersen: Acta Ophth. 1927, 5, 226.
12. T. Kôhira: Acta Soc. Ophth. Jap. 1936, 40, 123 et 125.
13. J. Rollet: Arch. d'Opht. 1936, 53, 5, 111, 255.
14. K. Wessely: Ergeb. d. Physiol. 1905, 4, 565.
15. Th. Leber: Graefe Saemisch. Handb. 2<sup>o</sup> ed. Engelmann, Leipzig 1903, II Abt. II Bd. p. 355.
16. Z. Nižetić: Kl. Mbl. f. Augenh. Supplem. 1940, heft 7, p. 16.
17. F. P. Fischer: Documenta Ophthalm. 1938, 1, 94.
18. F. Ridley: Brit. Journ. Exp. Path. 1930, 11, 217.  
Cité par A. C. Krause. The Biochemistry of the Eye.  
The John Hopkins Press, Baltimore 1934 p. 2.



19. *D. Michail, P. Vancéa, N. Zolog*: C. Rendus Soc. Biol. 1937, 125, 194.
20. *P. Kronfeld, L. Bothman*: Zeitschr. für Augenh. 1928, 65, 41.
21. *M. Cohen, J. A. Killian*: VIII Conc. Ophth. 1929. Hollandia 1, 166.
22. *A. Bakker*: Arch. für Ophth. 1936, 135, 581.
23. *Roger Weekers*: Arch. d'Ophth. 1937, 1, 707.
24. — Ophthalmologica 1939, 98, 142.
25. — C. R. Soc. Biol. 1939, 132, 36.
26. *H. K. Müller*: Arch. für Ophth. 1939, 140, 258.