

Le Choc Thromboplastique De L'oiseau (2^e Mémoire) Étude de la phase négative de Wooldridge

P. Nolf

To cite this article: P. Nolf (1922) Le Choc Thromboplastique De L'oiseau (2^e Mémoire) Étude de la phase négative de Wooldridge, Archives Internationales de Physiologie, 19:4, 399-476, DOI: [10.3109/13813452209145157](https://doi.org/10.3109/13813452209145157)

To link to this article: <http://dx.doi.org/10.3109/13813452209145157>



Published online: 25 Sep 2008.



Submit your article to this journal [↗](#)



View related articles [↗](#)

Reçu le 15 juin 1922.

LE CHOC THROMBOPLASTIQUE DE L'OISEAU

(2^e Mémoire)

Étude de la phase négative de Wooldridge

par P. NOLF

DANS un mémoire précédent, j'ai publié les résultats que donne l'injection intraveineuse à l'oiseau du sérum très coagulant que l'on obtient par l'action du chloroforme sur le plasma d'oiseau. Administré de façon brusque, ce liquide tue l'animal par coagulation cardiovasculaire massive. En injection lente, il produit au contraire une diminution de la coagulabilité du sang, qui a été assimilée à la phase négative de Wooldridge.

Ce résultat rendait souhaitables de nouvelles expériences dans lesquelles seraient administrées d'autres substances, susceptibles d'influencer la coagulation du sang d'oiseau *in vitro*, notamment les extraits aqueux d'organes. Ainsi que le lecteur pourra le constater, un grand nombre de produits provoquent, en injection intraveineuse chez l'oiseau, des altérations de la coagulabilité du sang très analogues à celles, consécutives à l'administration du sérum chloroformique, qui ont été analysées aussi complètement que possible. Ce sont, comme il fallait s'y attendre, ceux qui influencent la coagulation du sang ou du plasma *in vitro*.

On commencera l'exposé des résultats par ceux obtenus avec les extraits d'organes.

Extraits aqueux d'organes

Les expériences furent faites avec un extrait obtenu en broyant, avec deux fois son poids de solution isotonique de chlorure sodique, le muscle cardiaque du coq, qui avait été maintenu vivant pendant une ou plusieurs heures, grâce à l'irrigation avec la solution de Ringer oxygénée tiède. Le muscle était réduit en pulpe fine par un broyage prolongé au contact de sable lavé et débarrassé des particules en suspension par la centrifugation. On sait, depuis Wool-

dridge, que les extraits aqueux sont différemment actifs suivant leur mode de préparation. Pour être capable de produire des thromboses étendues, il faut que les extraits soient concentrés. Ces liquides ne passent que très péniblement à travers le papier filtre, qui retient d'ailleurs le principe thrombosant. Il convient donc d'éviter toute filtration et de les éclaircir par la centrifugation.

Quand ils sont préparés au moyen d'un organe qui a été simplement débarrassé du sang qui remplissait ses vaisseaux par un lavage court avec le liquide physiologique, ils coagulent régulièrement la solution de fibrinogène additionnée de la quantité voulue d'un sel soluble de calcium. Mais cette coagulation est tardive et elle fait contraste avec l'effet coagulant presque instantané qui s'observe quand l'extrait est ajouté au plasma normal de l'oiseau. Un cœur qui a battu pendant quelques heures hors de l'organisme, donne un extrait aqueux qui n'agit plus sur la solution de fibrinogène, mais est toujours aussi coagulant à l'égard du plasma ⁽¹⁾. C'est un liquide de cette espèce qui a servi dans quelques expériences, dont le résultat fut absolument analogue à ceux que donne le sérum chloroformique. Injecté lentement, l'extrait aqueux provoquait l'incoagulabilité du sang.

L'effet sur la coagulabilité du sang est le même chez l'animal intact et chez celui dont le foie a été extirpé au préalable, comme en fait foi l'expérience suivante :

Expérience I (17 août 1921). — Coq de 1100 grammes à jeun depuis 24 heures.

On prélève 3 cc. de sang oxalaté à 1 ‰ et 1 cc. de sang pur ; le sang pur est reçu dans un tube contenant 0.05 cc. d'extrait aqueux de cœur, préparé en réduisant en pulpe fine, au contact de deux fois son poids d'eau salée isotonique, un cœur irrigué vivant par le liquide de Ringer oxygéné et qui ne contient plus que des traces à peine perceptibles de thrombine. Le mélange de sang et d'extrait est coagulé en moins d'une minute.

Le foie est extirpé sans hémorragie. On injecte, de 10 h. 55 à 10 h. 59, 3.5 cc. de l'extrait non dilué, sans provoquer la moindre réaction de l'animal.

A 11 h. 8, prélevé 3 cc. de sang oxalaté et un centimètre cube de sang pur, qui est reçu dans un tube contenant 0.05 cc. d'extrait de cœur. Ce mélange est coagulé après 35 minutes. A 11 h. 20, l'animal perd ses réflexes oculaires et à 11 h. 27, il est pris de convulsions.

⁽¹⁾ P. NOLF Les extraits aqueux d'organes ne contiennent pas de prothrombine. *C. R. Soc. Biol.*, 1921, LXXXV, p. 1116.

A 11 h. 32, on le saigne par une canule fixée dans la branche gauche de l'artère pulmonaire, le cœur battant encore. Le sang, recueilli en tube flambé, est coagulé le lendemain.

Le dosage de l'antithrombosine dans le plasma avant l'extirpation du foie et après l'injection d'extrait musculaire indique une diminution à peine perceptible après l'injection. Le traitement par le chloroforme donne la même quantité de thrombine.

Le mécanisme suivant lequel s'opère la diminution de coagulabilité, paraît être le même qu'après administration de sérum chloroformique. Le sang et le plasma subissent moins fortement les influences thromboplastiques, telles que le contact du verre, l'adjonction d'extrait d'organe *in vitro*, etc.

La pression artérielle des animaux injectés n'était pas influencée ou subissait, tout au plus, un abaissement tardif, faible et passager.

Il est important à ce point de vue de n'employer que des extraits limpides. Or les extraits préparés comme il a été dit, se troublent régulièrement quand on les conserve à 0°. Ces extraits troubles peuvent, s'ils sont administrés sans une nouvelle centrifugation préalable, provoquer des accidents mortels. Les particules qu'ils tiennent en suspension peuvent, en s'entourant de fibrine et en s'agglutinant entre elles, produire des embolies assez volumineuses pour obturer des artérioles.

C'est ainsi que se produisent des accidents comme celui que j'ai observé chez un coq injecté d'un extrait de cœur primitivement clair, mais qui s'était légèrement troublé après une journée de conservation à 0° et qui fut injecté tel quel. Environ deux minutes après l'injection se produisit une brusque ascension de la pression artérielle jusque 18.5 cm de mercure, en même temps qu'éclataient des convulsions et que les réflexes oculaires disparaissaient. Ces accidents sont imputables à une embolie d'une artériole du cerveau. L'animal mourut en quelques minutes.

L'extrait ayant été soumis à une centrifugation rapide dans une machine à grand rayon abandonna un dépôt très perceptible. Le liquide décanté injecté à d'autres animaux produisit l'effet habituel de ces injections, c'est-à-dire l'incoagulabilité du sang, sans plus d'accidents.

Injection de lipoides thromboplastiques

WOOLDRIDGE avait montré que l'action coagulante *in vitro* et *in vivo* des extraits aqueux d'organes appartient à une substance

ou à un agrégat de substances qui se précipitent quand on additionne l'extrait d'acide acétique jusqu'à réaction acide franche. Il l'avait appelé fibrinogène de tissu. En 1883, il démontra que le fibrinogène de tissu perd toute propriété coagulante *in vitro* et *in vivo*, si on l'épuise par l'alcool. Par contre, la solution alcoolique est coagulante et elle doit cette propriété à la présence constante d'une graisse phosphorée, dont la composition centésimale était celle de la lécithine. Dans ces dernières années, plusieurs auteurs (HOWELL, BORDET et DELANGE, ZAK) ont repris l'étude du rôle des phosphatides dans les phénomènes de la coagulation. Ils ont confirmé la découverte, tombée dans un demi-oubli, de WOOLDRIDGE et ils soutiennent que la substance active des extraits aqueux d'organes est une phosphatide (céphaline de HOWELL, cytozyme de BORDET et DELANGE). Ils s'écartent en cela de WOOLDRIDGE, qui avait vu dès l'origine que les extraits aqueux sont très supérieurs en pouvoir coagulant à la phosphatide et qui considérait comme véritable principe actif des extraits aqueux un complexe de protéine et de lécithine, une lécithalbumine, le fibrinogène de tissu.

Les extraits aqueux d'organes sont des mélanges complexes, dont les propriétés coagulantes sont certainement liées à d'autres facteurs qu'à la seule présence de la céphaline (cytozyme). A moins d'être préparés au moyen d'organes débarrassés complètement de sang et de lymphe, ils contiennent toujours de la thrombine et de la thrombozyme. Quand ils sont préparés, comme il convient, par une trituration soigneuse de l'organe dans une petite quantité d'eau salée isotonique, ils constituent une suspension de fragments arrachés au protoplasme cellulaire, dont les dimensions très considérables sont attestées par la forte opalescence des liquides et l'impossibilité de les filtrer sur bougie de porcelaine (WOOLDRIDGE) sans les priver de leurs propriétés coagulantes. Si même ces fragments n'avaient aucune affinité propre pour les substances-mères de la fibrine et de la thrombine, ils pourraient déjà jouer un rôle thromboplastique analogue à celui des suspensions de poudres fines ou de gouttelettes liquides, qui peut être très considérable. Mais de par leur nature et leur origine, de par leur imprégnation par de la fibrine, de la thrombine et de la thrombozyme, ils sont incomparablement plus thromboplastiques que les suspensions artificielles. Sans méconnaître en rien le grand intérêt scientifique des travaux qui tâchent d'isoler dans un mélange ses principes actifs à l'état de pureté,

je crois devoir rappeler qu'il est des propriétés de la matière vivante qui dépendent de sa structure, de son organisation et qui disparaissent avec elles.

Il en est de même, à un moindre degré sans doute, pour les extraits aqueux bien préparés qui sont, comme il a été dit, des suspensions colloïdales instables. Certaines de leurs propriétés, notamment la propriété thromboplastique, dépendent directement de leur texture colloïdale. Or celle-ci peut être altérée par des interventions très inoffensives du point de vue de la chimie analytique. Tout le monde sait que la plupart des suspensions colloïdales de nature inorganique ne souffrent même pas la simple évaporation à sec. Il en est de même pour les extraits aqueux d'organes : leur propriété thromboplastique est très affaiblie par la dessiccation ; et WOOLDRIDGE a montré, il y a longtemps (1888), qu'une simple filtration sur papier les prive du pouvoir de provoquer en injection intraveineuse des coagulations intravasculaires.

Il est utile de rappeler en outre que dans leur action coagulante *in vitro*, les extraits aqueux peuvent montrer, quand on se place dans les conditions voulues, une spécificité d'action très nette, c'est-à-dire que leur action coagulante sur le plasma homologue est très supérieure à celle qu'ils exercent sur les plasmas hétérologues, tandis que les lipoïdes thromboplastiques sont dénués de toute spécificité.

Enfin les injections intraveineuses des extraits aqueux et des émulsions épaisses de lipoïdes donnent des résultats très différents, au moins chez les mammifères. WOOLDRIDGE avait montré que les émulsions même épaisses de lécithine ne produisent aucune thrombose vasculaire quand on les injecte dans les veines du chien ou du lapin. Cette constatation a été confirmée par BORDET et DELANGE⁽¹⁾ chez le lapin. DOLD et OGATA (cités d'après BORDET et DELANGE), ont eu les mêmes résultats négatifs. J'ai fait moi-même en 1913 des expériences du même genre sur le lapin et le chien. Chez le lapin, l'injection d'une émulsion épaisse de lipoïde thromboplastique ne produisit aucune réaction de l'animal ; le temps de coagulation était raccourci.

L'injection intraveineuse brusque d'une quantité considérable d'une émulsion épaisse produisit chez le premier de trois chiens

⁽¹⁾ BORDET et DELANGE. Sur la nature du cytozème. *Annales Inst. Pasteur*, 1913, pp. 341, 347.

une chute notable de la pression artérielle, de 16.2 cm. de mercure à 5.3 cm., avec rétablissement ultérieur ; chez le second, la pression descendit de 15.2 cm. à 11.4 cm. pour remonter aussitôt ; chez le troisième, la pression ne fut guère influencée. On nota chez les trois animaux une leucopénie modérée ; chez aucun, il n'y eut d'autre suite du côté de la coagulabilité du sang qu'un certain raccourcissement du temps de coagulation. Chez les deux derniers animaux, on fit, immédiatement après l'injection du lipoïde, une injection intraveineuse de peptone de Witte, qui produisit ses effets habituels (leucopénie, incoagulabilité du sang, chute profonde de la pression artérielle, etc.). Ce dernier résultat est remarquable si l'on songe que la dose de peptone administrée était très faible (2.5 ctgr. par kilogramme), car il tend à prouver que l'administration préalable du lipoïde thromboplastique n'avait en rien diminué la sensibilité des animaux à la peptone.

Chez le chien, l'injection rapide d'une quantité faible d'extrait aqueux d'organe donne quelquefois des thromboses ou plus souvent l'effet peptone, c'est-à-dire l'incoagulabilité du sang et une forte chute de la pression artérielle.

Tant au point de vue de leur action sur la coagulation *in vitro* que de leur action toxique pour le mammifère, extraits aqueux d'organes et lipoïdes thromboplastiques se comportent donc différemment et sous peine de n'être pas d'accord avec les faits, il n'est pas permis de faire des derniers les seuls principes actifs des premiers.

Chez l'oiseau, on obtient avec les émulsions des lipoïdes thromboplastiques des résultats très nets, à la condition de se placer dans les conditions bien déterminées.

Le produit avait été préparé comme suit : on avait extrait par l'éther à froid de la poudre de cerveau de bœuf préalablement desséché et épuisé par l'acétone. L'extrait éthéré avait été précipité plusieurs fois par l'acétone. Il avait été conservé à froid et filtré plusieurs fois à 0°. Ce produit correspond assez bien à celui dont HOWELL s'est servi dans ses expériences de coagulation sous le nom de céphaline. C'est un mélange probablement assez complexe de céphaline, de lécithine avec certains produits de décomposition. La substance était conservée en solution éthérée à 0°. Au moment du besoin, on en évaporait une certaine quantité qui était émulsionnée par une agitation très énergique dans la quantité voulue de solution isotonique de chlorure de sodium chaude. Si l'on examine au mi-

croscopie les émulsions préparées par une agitation insuffisante dans la solution saline à froid, on trouve de nombreuses formes myéliniques, de dimensions variables, souvent considérables. L'agitation est-elle très énergique et la solution de chlorure sodique chauffée à 50°-60°, l'émulsion est beaucoup plus parfaite. Les formes myéliniques disparaissent et les lipoides se voient au microscope sous la forme de globules très petits, dont les plus volumineux n'atteignent pas les dimensions d'une hématie, dont les plus fins et les plus nombreux sont de l'ordre de visibilité ultra-microscopique. J'utilisai des émulsions très épaisses, aussi opaques que du lait, un peu jaunâtres à cause de la coloration jaune-brun de la substance.

Expérience II (14 juin 1921). — Coq de 1415 grammes, à jeun depuis 24 heures.

A 10 h. 35, prise de sang, coagulé à 13 h. 30. Mélangé 1 cc. de sang avec 0.1 cc, 0.03 cc. et 0.01 cc. de l'émulsion de céphaline. Le premier mélange est coagulé après 5 minutes ; le second après 3 minutes; le troisième après 2 minutes.

A 10 h. 36, la pression artérielle est de 14.3 cm. de mercure.

De 10 h. 37 m. à 10 h. 37 m. 18 sec., injecté 7 cc. d'une émulsion jaune opaque de céphaline tenant en suspension la céphaline dissoute de 1.4 cc. d'une solution éthérée, saturée à 0°.

La pression artérielle tombe presque verticalement à 7 cm. de mercure Elle atteint ce niveau à 10 h. 37 m. 45 sec. et s'y maintient jusque 10 h. 38 m. Ensuite elle remonte doucement : 8 cm. à 10 h. 39 ; 9 cm. à 10 h. 40 ; 10.4 cm. à 10 h. 41 ; 11.3 cm. à 10 h. 42 ; 12 cm. à 10 h. 43 ; 12.1 cm. à 10 h. 45 ; 12.3 cm. à 10 h. 47 ; 12.4 cm. à 10 h. 49 ; 12.4 cm. à 10 h. 51.

Pendant la chute manométrique, la respiration devient un peu plus ample et fréquente. L'animal reste tranquille.

A 10 h. 55, prise de sang, fluide le lendemain ; coagulé après 4 jours.

Mélangé 1 cc. de sang avec 0.1 cc. ; 0.03 cc. ; 0.01 cc. de l'émulsion de céphaline. Tous ces mélanges restent fluides indéfiniment ; 1 cc. de sang mélangé à 0.2 cc. de sérum chloroformique était coagulé après 2 minutes.

Comme on le voit, le résultat est extrêmement net. L'oiseau réagit par une chute très marquée de sa pression artérielle et un allongement très considérable de son temps de coagulation à l'injection intraveineuse d'une émulsion de céphaline. Le sang recueilli après l'injection est devenu complètement réfractaire à l'action coagulante *in vitro* de cette substance. Ce résultat est constant, à la condition d'employer des émulsions très épaisses de céphaline et de les injecter rapidement. La dose cinq à dix fois inférieure à celle de

l'expérience II est inefficace. A part les effets indiqués, d'ailleurs passagers, les animaux ne paraissent nullement incommodés. Même avec des doses plus fortes, administrées à une vitesse double ou triple de celle de l'expérience précédente, on n'obtient rien de plus. Jamais je n'ai réussi à produire de thrombose vasculaire.

Dans l'expérience III faite sur un animal dont le foie avait été extirpé, l'émulsion de céphaline employée était environ cinq fois moins épaisse que dans l'expérience II.

Expérience III (16 août 1921). — Coq de 780 grammes, à jeun depuis 24 heures.

A 11 h. 44 prise de sang, coagulé à 14 h. 35. Un mélange de 1 cc. de sang et de 0.05 cc. de l'émulsion de céphaline est coagulé à 11 h. 58. On prélève également 3 cc. de sang oxalaté (Plasma I).

On extirpe le foie sans hémorragie.

Après cette opération, la pression artérielle est à 12 h. 6 de 4.6 cm. de mercure. De 12 h. 7 m. 40 sec. à 12 h. 8 m. 10 sec., on injecte dans une jugulaire 4 cc. de l'émulsion de céphaline.

La pression artérielle monte immédiatement, présente un maximum de 6.4 cm. à la fin de l'injection. Elle est de 6 cm. à 12 h. 9, de 5.5 cm. à 12 h. 10 de 5.3 cm. à 12 h. 12, de 5.2 cm. à 12 h. 14, de 5 cm. à 12 h. 22, de 4.6 cm. à 12 h. 35.

On prélève un échantillon de sang pur à 12 h. 37, qui est fluide le lendemain et n'est coagulé que le surlendemain. Un mélange de 1 cc. de sang et de 0.05 cc. de l'émulsion de lipoïde est complètement fluide le lendemain ; coagulé le surlendemain.

Après la saignée, l'état de l'animal s'est aggravé rapidement. Il meurt vers 12 h. 50 après quelques convulsions. On recueille à 12 h. 50 du sang par une canule liée dans l'artère pulmonaire gauche. Une partie du sang est oxalatée (Plasma II) ; l'autre est conservée en tube de verre flambé. Cette dernière est coagulée le surlendemain.

Les plasmas oxalatés I et II servent à un dosage de l'antithrombosine et de la thrombine (après recalcification et traitement par le chloroforme). L'antithrombosine est en quantité un peu plus faible dans le second plasma. La coagulation du second plasma par le chloroforme après recalcification donne un peu moins de thrombine (dilution limite encore active pour le plasma I 1/3000, pour le plasma II 1/1000).

Les résultats de l'injection intraveineuse d'une émulsion très épaisse de céphaline (cytozyme de BORDET) sont donc les mêmes que ceux obtenus avec le sérum chloroformique ou les extraits aqueux d'organes, avec cette différence qu'il est impossible, comme WOOLDRIDGE l'avait antérieurement établi, de provoquer avec le lipoïde la thrombose cardiovasculaire que donnent si aisément le sérum

Solution de fibrinogène	Solution à 1 % d'oxalate sodique	Solution isotonique de chlorure sodique	Plasma oxalaté I	Plasma oxalaté II	Sérum du plasma I recalculé et soumis 1 h. à l'ac-tion du chloroforme	Sérum du plasma II recalculé et soumis 1 h. à l'ac-tion du chloroforme	Solution de thrombine	RÉSULTATS
0.1 cc.	0.1 cc.	0.2 cc.	0.5 cc.	—	—	—	0.1 cc.	Fluide indéfiniment
0.1	0.1	0.4	0.3	—	—	—	0.1	Idem.
0.1	0.1	0.6	0.1	—	—	—	0.1	Idem.
0.1	0.1	0.65	0.05	—	—	—	0.1	Trouble fin le lendemain.
0.1	0.1	0.67	0.03	—	—	—	0.1	Petits flocons le lendemain.
0.1	0.1	0.69	0.01	—	—	—	0.1	Caillot mou le lendemain.
0.1	0.1	0.7	0.005	—	—	—	0.1	Caillot mou après 30 min. ; caillot ferme le lendem.
0.1	0.1	0.7	0.003	—	—	—	0.1	Caillot mou après 30 min. ; caillot ferme le lendem.
0.1	0.1	0.2	—	0.5 cc.	—	—	0.1	Fluide indéfiniment.
0.1	0.1	0.4	—	0.3	—	—	0.1	Idem.
0.1	0.1	0.6	—	0.1	—	—	0.1	Trouble fin le lendemain.
0.1	0.1	0.65	—	0.05	—	—	0.1	Gros flocons le lendemain.
0.1	0.1	0.67	—	0.03	—	—	0.1	Léger voile le lendemain.
0.1	0.1	0.69	—	0.01	—	—	0.1	Caillot ferme le lendemain.
0.1	0.1	0.7	—	0.005	—	—	0.1	Caillot mou après 30 min. ; ferme le lendemain.
0.1	0.1	0.7	—	0.003	—	—	0.1	Caillot mou après 30 min. ; ferme le lendemain.
0.1	0.1	0.7	—	—	—	—	0.1	Caillot après 30 minutes.
0.1	0.1	0.7	—	—	0.1 cc.	—	—	Caillot après 2 minutes.
0.1	0.1	0.8	—	—	0.01	—	—	Caillot après 10 minutes.
0.1	0.1	0.8	—	—	0.003	—	—	Caillot après 28 minutes.
0.1	0.1	0.8	—	—	0.001	—	—	Voile après 1 h. 30 min. ; caillot après 5 heures.
0.1	0.1	0.8	—	—	0.0003	—	—	Flocon après 5 heures ; caillot le lendemain.
0.1	0.1	0.8	—	—	0.0001	—	—	Petit flocon le lendemain.
0.1	0.1	0.8	—	—	—	0.1 cc.	—	Caillot après 2 minutes.
0.1	0.1	0.8	—	—	—	0.01	—	Caillot après 15 minutes.
0.1	0.1	0.8	—	—	—	0.003	—	Caillot après 55 minutes.
0.1	0.1	0.8	—	—	—	0.001	—	Léger voile après 2 h. 5 min. ; caillot après 5 heures.
0.1	0.1	0.8	—	—	—	0.0003	—	Fluide indéfiniment.
0.1	0.1	0.8	—	—	—	0.0001	—	Fluide indéfiniment.

chloroformique et les extraits aqueux. Cette différence s'explique par l'action coagulante moins énergique de la céphaline. Cet agent est incapable de provoquer une prise en caillot soudaine, qui immobilise le sang sur place.

Quelle que soit la quantité injectée et si rapide que soit l'injection, le mélange de sang et de céphaline conserve sa fluidité jusqu'au moment où il atteint les réseaux capillaires où il se défibrine. Quand il a subi cette coagulation partielle, qui s'indique par une diminution du fibrinogène, de l'antithrombosine et des substances-mères de la thrombine, il revient au cœur avec une stabilité tellement accrue que l'adjonction de céphaline à toutes les concentrations ne peut plus en avoir raison.

Chez l'animal sans foie, ce résultat s'obtient avec des quantités plus faibles de céphaline.

Néosalvarsan

Depuis l'application des injections intraveineuses d'arsénobenzènes à la thérapeutique de la syphilis, les médecins ont eu l'occasion d'observer, chez certains de leurs patients, un ensemble de phénomènes réactionnels, désigné sous le nom de crise nitritoïde. Dans certaines conditions, ils sont très accusés et peuvent devenir une menace pour la vie. Déjà, en 1911, RAVAUT⁽¹⁾ les comparait avec la crise anaphylactique et insistait sur la similitude complète des accidents cardinaux. Cette comparaison très heureuse a permis de faire bénéficier la technique des injections des novarsénobenzènes d'un certain nombre de mesures dont certaines s'étaient montrées efficaces contre le choc anaphylactique, telles que la lenteur d'injection, l'administration de sels alcalins, l'administration d'adrénaline (MILIAN), l'injection dans un réseau vasculaire momentanément isolé (topophylaxie de SICARD) ou encore le mélange dans la seringue de la solution avec quelques centimètres cubes de sang du patient (DUHOR).

Une étude expérimentale récente de POMARET conclut à la similitude complète entre le choc anaphylactique et le choc par les arsénobenzènes⁽²⁾.

(1) P. RAVAUT. *Bulletin et Mémoires de la Société médicale des Hôpitaux*, 17 novembre 1911.

(2) POMARET. *Considérations biochimiques sur les arsénothérapies de la syphilis*. Thèse, Paris, 1920.

Ces faits m'ont incité à tenter chez l'oiseau, dont la réaction humorale est si nette à l'égard des substances susceptibles de causer un choc, quelques expériences destinées à comparer les effets éventuels d'une administration d'un arsénobenzène à ceux des substances déjà étudiées. Le produit employé fut le néosalvarsan, à cause de sa solubilité facile et de son emploi courant chez l'homme. Les résultats acquis avec le néosalvarsan de fabrication allemande (MEISTER LUCIUS et BRUNING, HOECHST) et le novarsénobenzol BILLON de Paris furent identiques. Dans toutes les expériences, sauf spécification différente, le produit fut employé à l'état d'une solution à 10 % dans de l'eau distillée et l'injection faite immédiatement après l'obtention de la solution ou après un laps de temps indiqué. L'injection était toujours poussée brusquement, d'un coup de piston, dans la jugulaire. Les quantités administrées furent 0.01, 0.02, 0.04 et 0.08 gr. par kilogramme. Les doses de 0.01 gr. et 0.02 gr. n'eurent pas d'effet marqué sur la pression artérielle, sauf pour 0.02 gr. une dépression manométrique peu accusée et passagère. Avec 0.04 gr. administrés de la même façon, on observa régulièrement un choc typique. Ainsi, chez un animal de 1860 gr. injecté de 0.75 cc. de la solution à 10 % en 3 secondes, la pression artérielle, de 13.8 cm. de mercure avant l'injection, commença à descendre cinq secondes après la fin de celle-ci, jusqu'à un minimum de 6.6 cm. après 3 minutes et demie ; ensuite elle remonta lentement : à 7.3 cm. après 5 minutes ; à 8.3 cm. après 9 minutes ; à 9 cm. après 11 minutes ; à 9.2 cm. après 12 minutes.

L'observation fut arrêtée à ce moment. Pendant la chute de la pression artérielle, les mouvements respiratoires étaient plus profonds et un peu plus fréquents ; l'animal survécut. La dose de 0.08 gr. donne des symptômes peu différents ; la respiration est seulement plus laborieuse et l'animal peut mourir après quelques heures au milieu de troubles relevant d'une atteinte du système nerveux.

Chez les animaux injectés de 0.02 gr. par kilogramme, comme chez ceux qui reçurent les quantités plus considérables du toxique, le sang est très stable. Il ne se coagule qu'après plusieurs jours de conservation à la température du laboratoire (¹). Après injection de

(¹) D'une discussion récente à la *Société de Biologie de Paris* (séance du 22 janvier 1921), il ressort que chez les mammifères et chez l'homme, le novarsénobenzol exerce *in vivo* et *in vitro*, une action anticoagulante analogue à celle que j'ai constatée chez l'oiseau.

0.01 gr. par kilogramme, le caillot demande habituellement au moins vingt-quatre heures pour se former.

Cette stabilité très grande du sang et du plasma des oiseaux injectés ne peut pas être attribuée à l'action anticoagulante directe du produit, au moins pour ce qui concerne les doses minimas encore actives (0.02 gr. par kilogramme et moins).

Si l'on reçoit en effet le sang d'oiseau au sortir de l'artère dans une solution de néosalvarsan, on constate que les concentrations qui ne sont pas encore efficaces *in vitro*, sont déjà puissamment anticoagulantes *in vivo*. Ainsi la concentration 1/5000 *in vitro* produit habituellement un retard à peine notable ; la concentration 1/3000 est déjà plus active ; mais le mélange est régulièrement coagulé en moins de vingt-quatre heures. Tandis qu'après l'injection d'une dose de 2 ctgr. par kilogramme, quise dilue dans environ 80cc. de sang *in vivo* et agit donc au plus à la concentration de 1/4000, le sang recueilli à l'artère reste fluide pendant des jours. L'injection d'un centigramme par kilogramme, qui correspond à une concentration tout à fait inefficace *in vitro*, allonge le temps de coagulation d'environ vingt-quatre heures.

Si l'on examine l'aptitude à se coaguler d'un plasma additionné de néosalvarsan *in vitro*, on constate qu'il répond d'autant moins aux agents coagulants qu'il contient plus de produit arsénical. Aux concentrations inférieures à 1/5000, sa coagulabilité n'est pas influencée ; entre 1/5000 et 1/500, il se coagule après adjonction d'une émulsion de céphaline, mais le caillot apparaît très tardivement : pour les concentrations voisines du 1/500, d'habitude après 1 ou 2 jours seulement. A la concentration 1/200, il ne répond plus aux influences thromboplastiques ; seule, une solution très forte de thrombine, telle qu'un sérum chloroformique, parvient encore à le coaguler.

Les propriétés du plasma d'un oiseau qui a reçu une injection intraveineuse de néosalvarsan, varient également avec la quantité de toxique administrée. Quand elle est relativement minime (0.02 gr. par kilogramme et moins), il en reste des quantités trop faibles dans le sang circulant pour exercer une action directe *in vitro*. Le plasma de ces animaux doit toute sa stabilité à la défibrination incomplète qu'il a subie. Il est l'équivalent d'un plasma de kinase. Mais pour des

doses plus considérables (0.08 gr. par kilogramme), l'incoagulabilité a une origine double : la défibrination *in vivo* et la présence dans le plasma d'un résidu considérable de néosalvarsan, dont l'influence anticoagulante vient renforcer l'effet de la défibrination. Aussi la résistance du plasma aux influences coagulantes croît-elle à partir de la dose de 0.02 gr. avec l'importance de la quantité administrée du toxique. Il ne sera rendu compte que de quelques essais de coagulation *in vitro* faits sur le plasma d'un animal injecté de 0.08 gr. par kilogramme.

On avait recueilli avant l'injection un échantillon de sang en tube de verre, qui était coagulé après 3 heures. Quelques centimètres cubes reçus en tube paraffiné furent soumis à une centrifugation de quelques minutes (Plasma I). Un autre échantillon pris 15 minutes après l'injection, ne se coagula qu'après 7 jours de conservation à la température du laboratoire ; quelques centimètres cubes centrifugés en tube paraffiné donnèrent le plasma II. On essaya sur les plasmas I et II, l'action d'une émulsion de céphaline de bœuf et d'un échantillon de crème fraîche de lait de vache.

Plasma I	Plasma II	Emulsion de céphaline	Crème fraîche	RÉSULTATS
0.5 cc.	—	—	—	Coagulé après 6 heures.
0.5	—	0.1 cc.	—	Coagulé après 9 minutes.
0.5	—	0.01	—	Coagulé après 13 minutes.
0.5	—	—	0.1 cc.	Coagulé après 14 minutes.
0.5	—	—	0.01	Coagulé après 22 minutes.
—	0.5 cc.	—	—	Fluide indéfiniment
—	0.5	0.1	—	Coagulé après 4 heures.
—	0.5	0.01	—	Fluide après 7 heures ; coagulé le lendemain.
—	0.5	—	0.1	Fluide après 7 heures ; gru- meaux le lendemain.
—	0.5	—	0.01	Idem.

Le plasma de l'oiseau injecté d'une dose moyenne de néosalvarsan (0.02 à 0.04 gr. par kilogramme) est très nettement anticoagulant : ajouté à du sang normal d'oiseau, il s'oppose à sa coagulation spontanée, même à dose relativement faible, comme le montre le tableau ci-après :

Sang d'oiseau	Plasma d'oiseau après injection de 0.04 gr. de néosal- varsan par kilogr.	RÉSULTATS
0.5 cc.	0.5 cc.	Fluide après 24 h. ; incompl. coag. après 48 h.
0.5	0.25	Caillot incomplet après 24 heures.
0.5	0.1	Fluide après 4 heures ; caillot le lendemain.
0.5	0.05	Voile après 4 heures ; caillot le lendemain.
0.5	—	Caillot après 3 heures.

Cette action anticoagulante appartient en grande partie au néosalvarsan contenu dans le plasma. Mais elle est attribuable pour une part à la défibrination partielle que le plasma a subie dans les vaisseaux. Cela résulte déjà de la stabilité du sang après injection de doses de néosalvarsan trop faibles pour exercer une action coagulante directe.

Tant l'action anticoagulante *in vitro* que l'influence stabilisante de l'administration intraveineuse sont dues à l'affinité du néosalvarsan pour les constituants de la fibrine. On s'en assure directement, en mélangeant la solution à 10% à du plasma d'oiseau. A certaines concentrations, il apparaît très rapidement un trouble plus ou moins intense, qui se résout après quelque temps en flocons visqueux. Ceux-ci finissent par venir s'agglutiner au fond du tube en une membrane insoluble dans l'eau et les solutions salines neutres, qui a toutes les propriétés physiques et chimiques de la fibrine.

A la température de 17° C., ce trouble est le mieux marqué dans les mélanges de plasma et de néosalvarsan qui contiennent de 1/100 à 1/500 du toxique, avec un maximum habituel aux environs de 1/200. Au-dessus de la concentration 1/100, il n'apparaît pas. Au-dessous de 1/500, il se forme tardivement et il est peu visible.

A 0°, la floculation est beaucoup plus importante qu'à 17°. Un plasma additionné de 1/20° de son volume de la solution à 10 % de néosalvarsan, peut donner un précipité, qui, séparé par une centrifugation rapide à basse température, occupe parfois la cinquième partie du volume total. Surtout intense dans les mélanges voisins d'une teneur de néosalvarsan de 1/200, elle s'étend plus loin des deux côtés de cet optimum que dans les mélanges tenus à 15°-20° C. J'ai pu observer, après quelque temps de conservation à 0°, un trouble encore net à la concentration 1/50 d'une part, à 1/1000 d'autre part.

Par contre à 37°, le trouble n'est visible qu'aux environs immé-

diats de la concentration optima, qui est toujours voisine de 1/200 ; même à la concentration optima, il est extrêmement faible et affecte plutôt l'apparence d'une opalescence. Il n'a aucune tendance à s'accuser davantage avec le temps. Au contraire quand un mélange, susceptible de donner un trouble à 0°, a été conservé pendant quelques heures à 37°, il ne se trouble plus à 0°.

Chose curieuse, le mélange de néosalvarsan avec le plasma empêche dans une certaine mesure l'oxydation du composé arsénical, au moins de 0° à 17° C. Alors que les solutions de même concentration en eau salée se teintent en brun verdâtre au contact de l'atmosphère, les plasmas salvarsanés ne présentent rien d'analogue, même après des journées de conservation (dans un cas plus d'une semaine) à l'air libre. A 37°, l'altération se produit dans le plasma, mais plus tard que dans l'eau salée isotonique.

Si l'on ajoute la solution de néosalvarsan au sérum issu de la coagulation spontanée d'un plasma d'oiseau, on observe également une floculation qui subit l'influence des variations de température entre 0° et 37° comme celle du plasma. Peut-être est-elle un peu moins abondante que dans le plasma. Le sérum issu de la coagulation d'un plasma d'oiseau laissé pendant une heure à 37° avec un excès de chloroforme ne se trouble pas par la solution de néosalvarsan, même à 0°. Cette dernière constatation est tout en faveur de la notion que la floculation est une coagulation, puisqu'elle ne se produit plus dans un milieu qui a subi une coagulation complète.

On verra plus loin que le plasma phosphaté (BORDET et DELANGE) donne habituellement un trouble moins abondant que le plasma normal.

L'aspect fibrineux du précipité produit par le néosalvarsan dans le plasma est déjà un signe que cette floculation est une coagulation partielle et non pas une précipitation banale, qui ne ferait aucune distinction de qualité entre les diverses protéines du plasma. On s'en assure mieux par les essais suivants : On ajoute à un plasma d'oiseau la vingtième partie de son volume de la solution à 10 % de néosalvarsan. Quand le mélange mis à 0° est fortement troublé, on filtre et l'on mesure le pouvoir anticoagulant du filtrat (en l'ajoutant en proportions variables à du sang d'oiseau). On fait de même avec le mélange à 1/20 du plasma et de néosalvarsan fait extemporanément à la température ordinaire et employé aussitôt, avant toute précipitation. On constate que le pouvoir anticoagulant est plus marqué dans le

filtrat que dans le plasma salvarsané non filtré. Le précipité a enlevé au plasma une partie des facteurs qui favorisent la coagulation. L'essai suivant en donne la preuve directe. Un mélange de néosalvarsan et de plasma, fortement troublé à 0°, est centrifugé à basse température. Le tube de la centrifugeuse est mis, tel quel, à la température ordinaire et conservé pendant plusieurs jours. Après un temps plus ou moins long, on constate que le plasma limpide surnageant est resté fluide dans toute la hauteur du tube, tandis que le précipité s'est transformé en un caillot gélatineux plus ou moins translucide, par la dissolution incomplète du précipité et la coagulation ultérieure du liquide du fond du tube.

Un plasma fortement troublé à 0° par une addition de néosalvarsan, redevient presque complètement limpide, si on le chauffe à 37°, au moins si le trouble n'est apparu que depuis quelques minutes. S'il s'est déjà réuni en flocons, il se redissout moins vite et moins complètement, en laissant un faible résidu qui s'agglomère en quelques flocons fibrineux.

Il était intéressant de rechercher si le mélange du plasma au néosalvarsan, préalable à l'injection, exerce une influence sur la toxicité du produit. Les mélanges furent faits en proportions variables, à des températures différentes et injectés après des temps plus ou moins longs.

La quantité de toxique administrée fut invariablement de 4 ctgr. par kilogramme, en solution à 10 % en eau distillée. Immédiatement après sa préparation, la solution était ajoutée au plasma et injectée après un certain temps de conservation. A raison de l'altération rapide du produit au contact de l'air (au moins en solution aqueuse), l'injection suivit d'habitude d'assez près la coagulation.

Dans une première série expérimentale, le mélange fut fait à 0°, de façon à obtenir un trouble aussi intense que possible et injecté froid, au moyen d'une seringue refroidie à 0°. Dans la plupart de ces essais, la solution à 10 % de néosalvarsan était mélangée à un volume de plasma 20 fois plus grand. Si ce mélange est injecté après une conservation de 30 minutes à 0°, le résultat est l'absence presque constante de choc. La pression artérielle ne subit qu'un fléchissement très léger ou même nul, qui fait contraste avec la chute très profonde qui se produit constamment chez les oiseaux injectés de la même dose de néosalvarsan diluée dans un volume de solution saline isotonique égale à celle du plasma. La protection conférée

par le plasma est limitée au tonus vasculaire, elle ne s'étend pas à l'influence du néosalvarsan sur la coagulabilité du sang.

Celui-ci est aussi incoagulable et anticoagulant que celui des animaux qui reçoivent le néosalvarsan pur.

L'expérience IV peut servir d'exemple :

Expérience IV. — Coq de 1200 grammes à jeun.

A 10 h. 45, prise de sang, coagulé à 13 h. 45.

A 10 h. 58, la pression artérielle est de 12.7 cm. A 11 h., injection en 6 secondes d'un mélange, fait et conservé à 0° depuis 10 h. 28, de 0.48 cc. de la solution à 10 % de néosalvarsan et de 9.6 cc. de plasma normal d'oiseau.

La pression artérielle est à 11 h. 1 de 13.2 cm. ; à 11 h. 2 de 12.4 cm. ; à 11 h. 3 de 13.2 cm. ; à 11 h. 4 de 13 cm. ; à 11 h. 5 de 12.8 cm. ; à 11 h. 6 de 12.7 cm. ; à 11 h. 8 de 12.7 cm. ; à 11 h. 10 de 12.6 cm., à 11 h. 11 de 13.4 cm.

Prise de sang à 11 h. 15, fluide pendant 4 jours, coagulé incomplètement après cinq jours.

Ce résultat est moins constant quand la quantité de plasma ajoutée au néosalvarsan est peu abondante.

Cependant il arrive que l'on obtienne une protection presque aussi complète avec la quantité moitié moindre de plasma, soit dix fois le volume de la solution à 10 % de néosalvarsan. L'efficacité de la protection dépend aussi de la durée de la conservation du mélange de plasma et de néosalvarsan. On peut l'observer complète avec des mélanges conservés à 0° depuis 10 à 15 minutes, tenant un volume de plasma égal à vingt fois le volume de la solution. Mais les succès sont d'autant plus nombreux que la conservation est plus courte et la teneur du mélange en plasma plus faible.

Même avec des mélanges conservés depuis une demi-heure à 0° de vingt volumes de plasma pour un volume de la solution de néosalvarsan à 10 %, il arrive que l'effet protecteur ne s'observe pas, la pression artérielle tombant presque aussi bas qu'après administration du toxique seul. Mais c'est exceptionnel.

Bien que l'on sache qu'un des produits d'oxydation des novar-sénobenzènes, l'arsénoxyde, est hypertenseur (POMARET), il ne semble pas que l'on puisse attribuer l'inactivité des mélanges de plasma et de néosalvarsan à leur oxydation. Une telle altération n'est pas à craindre après une conservation de dix à quinze minutes à 0° en

tube fermé, ainsi qu'il résulte d'expériences témoins faites avec des mélanges de la solution à 10 % de néosalvarsan avec des volumes de solution saline isotonique équivalents aux volumes de plasma utilisés dans les expériences précitées. Ces mélanges conservés pendant trente à quarante-cinq minutes à 0° agissaient exactement comme s'ils venaient d'être préparés.

Bien que la température de 0° soit celle qui convient le mieux pour faire apparaître un précipité et peut-être aussi un pouvoir antitoxique dans le plasma additionné de néosalvarsan, on peut cependant observer également les deux dans des mélanges faits à $\pm 15^{\circ}$ C.

Dans une expérience, où le trouble à 15° apparut immédiatement après le mélange et fut particulièrement intense, on injecta le plasma chargé d'abondants floccules fibrineux 10 minutes après sa préparation. Le coq (à jeun depuis 24 heures) pesait 820 gr. Il reçut à 11 heures 36 m., en 9 secondes, un mélange fait à 11 h. 26 à la température de 15° C. de 0.33 cc. de la solution de néosalvarsan et de 6 cc. d'un plasma paraffiné tout récent. Avant l'injection, la pression artérielle était de 14.4 cm. de mercure ; à 11 h. 37, de 13.4 ; à 11 h. 38 de 12.6 ; à 11 h. 39, de 12.8 ; à 11 h. 40, de 12.9 ; à 11 h. 42, de 13.2 ; à 11 h. 44, de 13.6 cm. Une injection, faite immédiatement après, de 0.33 cc. de la solution arsénicale diluée dans 6 cc. d'eau saline physiologique fut de nul effet sur la pression. L'animal survécut sans présenter le moindre signe d'intoxication. Le plasma troublé se montra tout à fait inoffensif et il conféra à l'animal une immunité complète contre l'effet hypotenseur constant de la solution de néosalvarsan donnée pure.

Ces plasmas troublés par le néosalvarsan ne sont cependant pas des liquides indifférents. Ils produisent de façon tout à fait régulière l'incoagulabilité du sang. Dans les premières minutes après leur administration, l'animal vide une ou plusieurs fois son cloaque, signe d'une forte exagération du péristaltisme intestinal. On note souvent chez eux, immédiatement après l'injection, une hausse passagère mais parfois notable de la pression artérielle (dans un cas, la pression s'éleva de 15.2 à 19 cm.) Ce dernier effet n'a jamais été constaté après l'administration de la dose de 0.04 gr. de néosalvarsan, donné pur.

Il était intéressant de rechercher si l'effet protecteur du plasma est lié à l'apparition d'un précipité dans le mélange de plasma et de néosalvarsan. Pour trancher la question, le moyen le plus simple

eût été d'injecter des mélanges conservés à 37° pendant des temps variables. Seulement à cette température, le composé arsénical s'altère très vite et les résultats sont d'interprétation difficile ; d'autant plus qu'ils sont variables.

Après une conservation de 10 à 15 minutes à 37°, en tube bouché, de mélanges de 20 volumes de plasma pour un volume de la solution arsénicale, il arrive que la protection soit aussi complète qu'avec le même mélange conservé à 0° pendant le même laps de temps. Le premier mélange est limpide, le second très troublé, Ce résultat tendrait à faire admettre que le précipité n'est pour rien dans l'effet protecteur. Mais l'altération du composé arsénical par oxydation est beaucoup plus rapide à 37° qu'à 0°, de sorte que la suppression de l'effet hypotenseur ne peut pas être attribuée sûrement à l'action du plasma. Parfois on observe un effet protecteur nettement plus accusé du mélange conservé à basse température. C'est ce qui arriva avec un témoin de l'expérience de la page précédente, dans laquelle la protection avait été complète après mélange à 15° pendant 10 minutes. Huit centimètres cubes de ce plasma tenus à 37° furent additionnés de 0.4 cc. de néosalvarsan ; aucun trouble après 10 minutes. On injecta alors ce mélange en 11 secondes à un coq de 1040 gr. (à jeun depuis 24 heures). La pression artérielle, de 13.8 cm. de mercure avant l'injection, monta passagèrement à 15.2 cm. pour descendre déjà 20 secondes après la fin de l'injection et tomber progressivement à 8.6 cm. après 5 minutes.

De cet animal au précédent, la différence est frappante et toute en faveur de l'idée que le pouvoir antitoxique est lié à l'apparition du précipité. Mais comme d'une expérience à l'autre, faites dans des conditions identiques avec des mélanges préparés de la même façon, on peut avoir des différences aussi nettes qu'entre les deux animaux précédents, il est impossible de tirer une conclusion.

Dans une autre série expérimentale, on laissa le mélange de plasma (20 volumes) et de solution à 10 % de néosalvarsan (1 volume) à 0° pendant une demi-heure et l'on se débarrassa du précipité par une très courte centrifugation à basse température. Le liquide sur-nageant tout à fait limpide, injecté à la dose de 8.4 cc. par kilogramme produit sensiblement le même effet que le même volume d'un mélange trouble. Si donc il est possible que le séjour à 0° du mélange de plasma et de néosalvarsan accentue l'effet protecteur du plasma, il est en tout cas certain que la présence du flocculat dans le liquide

au moment de l'injection n'est pas indispensable à la manifestation de cet effet.

Le sang complet jouit d'un pouvoir protecteur qui paraît être supérieur à celui du plasma, pour autant qu'on puisse conclure, de la seule expérience faite ⁽¹⁾.

Expérience V (30 novembre 1921). — Coq de 920 grammes.

Prise de sang à 10 h. 48, coagulé à 18 h. 30.

A 10 h. 56, la pression artérielle est de 10.2 cm. de mercure. On injecte à 10 h. 57, en 10 secondes, un mélange fait à 10 h. 48 de 0.37 cc. de la solution à 10 % de néosalvarsan et de 3.5 cc. de sang de l'animal lui-même. Le mélange a été conservé à la température de laboratoire ($\pm 12^{\circ}\text{C}$). Après une ascension immédiate à 11.7 cm., la pression subit une faible dépression avec un minimum à 8.4 cm. à 10 h. 58 m. 30 sec. ; à 10 h. 59, elle est de 8.8 cm. ; à 11 h. de 9.8 cm. ; à 11 h. 1 de 10.2 ; à 11 h. 3 de 10.2 ; à 11 h. 5 de 10.7 cm. ; à 11 h. 8, de 10.5 cm. Une prise de sang faite à 11 h. 7 est fluide après 3 jours ; a donné un caillot incomplet après 6 jours.

Si la floculation du plasma par le néosalvarsan est une coagulation partielle, elle doit dépendre dans une certaine mesure de la teneur du plasma en thrombozyme, d'après la règle générale que la coagulation d'un plasma par un agent thromboplastique est d'autant plus facile qu'il est plus riche en thrombozyme. Or, on possède un moyen de diminuer de façon appréciable la teneur d'un plasma en thrombozyme sans toucher, au moins dans la même mesure, aux autres substances-mères de la fibrine. C'est l'adjonction au plasma de l'un ou l'autre composé insoluble des métaux alcalino-terreux ou terreux, dont le phosphate tricalcique gélatineux est le type.

Le plasma phosphaté, étudié par BORDET et DELANGE, ne donne pas de caillot visible par la plupart des agents thromboplastiques, au moins dans les conditions expérimentales habituelles. Il peut cependant se coaguler sous leur influence, mais en donnant des produits de coagulation (fibrine et thrombine) qui restent en solution.

On pouvait espérer qu'additionné de néosalvarsan, il resterait limpide ou donnerait tout au moins un précipité moindre que le plasma normal. Pour obtenir une adsorption aussi complète que possible

⁽¹⁾ Le mélange dans la seringue de la solution de néosalvarsan au sang du malade, fait dans l'intention de prévenir la crise nitritoïde, a été appelé procédé du brassage par le médecin belge, R. DUHOT, qui l'a proposé au *Congrès de médecine de langue française* de 1920.

sans risque d'altération secondaire, on fit agir le phosphate calcique à 0° sur le plasma. Afin d'éviter toute dilution du plasma, on employa toujours le résidu de la centrifugation d'une quantité mesurée d'une suspension épaisse de phosphate tricalcique. Ce résidu était mis en suspension par une agitation énergique dans le plasma. Après deux à trois heures de digestion à 0°, on centrifugeait; le plasma décanté était soumis à l'action d'une nouvelle quantité de phosphate, égale à la première, pendant quelques heures à 0°. Le plasma séparé par centrifugation après cette seconde digestion n'est d'habitude pas limpide après une centrifugation même prolongée à grande vitesse. Il est légèrement opalescent, ce qui est dû à la présence, en suspension, d'un complexe de phosphate de calcium et de protéines. Le laisse-t-on à 0° pendant quelques jours, il abandonne des flocons après un temps plus ou moins long et une nouvelle centrifugation permet alors de l'obtenir limpide et brillant. On peut obtenir la séparation immédiate de ce trouble en provoquant la congélation du plasma opalescent. Après dégel, l'opalescence s'est résolue en de nombreux flocons fibrineux dont on se débarrasse aisément par centrifugation. Les résultats de l'adjonction du néosalvarsan au plasma phosphaté sont différents, suivant que le plasma est opalescent ou tout à fait limpide. Un plasma phosphaté opalescent se trouble immédiatement, souvent dans une mesure plus forte que le plasma normal original, et il abandonne un abondant précipité floconneux léger. Au contraire, un plasma phosphaté bien limpide se trouble d'habitude moins que le plasma normal dont il provient. Cependant la plupart des plasmas phosphatés préparés par la méthode précédente se sont troublés.

Les mélanges, contenant en volume une partie de la solution à 10 % de néosalvarsan pour 20 parties de plasma phosphaté, administrés à l'animal à raison de 0.04 gr. de néosalvarsan par kilogr., m'ont paru exercer une action plus fortement hypotensive que les mélanges correspondants de plasma normal et de néosalvarsan, ce qui revient à dire que l'action protectrice du plasma phosphaté est moindre. Il semble que la différence se marque plus nettement quand le mélange de toxique et de plasma est administré peu de temps

(¹) P. NOLF. L'action coagulante du chloroforme sur le plasma d'oiseau. *Arch. intern. Physiol.*, 1921, XVI, 374-447.

après sa préparation. Il a été dit qu'après 10 à 15 minutes de conservation à 0°, un mélange de 20 volumes de plasma normal et d'un volume de la solution à 10 % de néosalvarsan est assez souvent sans effet sur la pression artérielle. Dans quatre expériences, où le mélange de plasma phosphaté et de néosalvarsan fut administré après 10 à 15 minutes de conservation, il se produisit une chute de la pression artérielle à peine inférieure à celle que donne le toxique pur (de 15.6 cm. à 10.5 ; de 11.6 cm. à 8 ; de 11.7 cm. à 6.1 ; de 13 cm. à 7.1).

Même après une conservation de 30 minutes à 0°, le mélange de plasma phosphaté et de néosalvarsan exerce habituellement encore une action hypotensive nette, bien qu'atténuée. De ces constatations, il résulte que l'adsorption par le phosphate tricalcique gélatineux d'une partie de la thrombozyme du plasma diminue dans une certaine mesure l'effet protecteur de ce liquide.

L'ensemble de ces faits expérimentaux s'accorde avec l'opinion que l'effet protecteur est la conséquence de l'union qui s'établit *in vitro* entre le néosalvarsan et les protéines du plasma, union favorisée par l'abondance de la thrombozyme et peut-être par le froid.

On sait, depuis les recherches de FRIEDBERGER et de son école, que de nombreuses substances ont la propriété de rendre toxique pour une espèce animale le sérum homologue (anaphylotoxine). Parmi les substances étudiées par moi dans ces expériences sur l'oiseau, le chloroforme se comporte de cette façon.

Le mélange préalable du chloroforme au plasma, loin d'atténuer l'action toxique propre de cette substance, l'exagère. De poison nerveux qu'est le chloroforme en solution aqueuse, il devient poison du sang et des vaisseaux quand il est dissous à saturation dans le plasma : il provoque une chute profonde de la pression artérielle et l'incoagulabilité du sang.

La thrombine se comporte tout autrement. Le sérum chloroformique (débarassé de tout chloroforme par évaporation) doit sa toxicité à sa teneur élevée en thrombine. Mélangé au plasma ou mieux au sérum de plasma (sérum issu de la coagulation spontanée du plasma) avant d'être injecté dans les veines, le sérum chloroformique perd toute propriété toxique. La thrombine du sérum chloroformique est donc neutralisée par les protéines du plasma. On vient de voir qu'il en est de même du néosalvarsan.

Le mélange préalable au plasma (ou au sérum) peut donc, suivant les cas, exalter la propriété que possède naturellement une substance

de produire un choc ou le supprimer. Bien que de nombreux travaux aient été consacrés à l'étude de ces pouvoirs anaphylatoxique ou antitoxique, il faut avouer qu'on ne sait encore rien de leur nature.

Injection de peptone de Witte

La peptone n'exerce pas chez l'oiseau une action toxique aussi puissante en injection intraveineuse que chez le chien. Elle est cependant loin d'être une substance indifférente. Dans les quelques expériences faites, la quantité de peptone de Witte administrée fut constamment de 50 centigr. par kilogramme, dissoute à 10 % dans une solution de chlorure sodique à 0.45 %.

Régulièrement, cette dose produit une chute très marquée de la pression artérielle, suivie assez rapidement d'une hausse qui ne ramène cependant pas la pression à son niveau initial. Pendant la chute de la pression artérielle, l'animal reste calme, tout en respirant plus profondément. Les modifications du côté du sang paraissent dépendre, comme chez le chien, de la vitesse d'injection. De 8 coqs injectés, trois ne présentèrent aucune diminution de la coagulabilité, les 5 autres au contraire avaient, après l'injection, un sang moins coagulable, et la différence fut très marquée chez certains. Or l'injection avait été beaucoup plus lente chez les trois premiers que chez les derniers. Ci-après les protocoles de trois expériences.

Expérience VI (6 août 1921). — Coq de 685 grammes.

A 9 h. 54, prise de sang coagulé à 11 h.

A 10 h. 6, la pression artérielle est de 12.7 cm.

De 10 h. 6 min. 40 sec. à 10 h. 7 min. 40 sec., on injecte dans une veine jugulaire 3.5 cc. de la solution à 10 % de peptone. La pression artérielle tombe à 5.2 cm. (10 h. 8 min.), mais remonte aussitôt. A 10 h. 9 min. elle atteint 9 cm. et 10.2 cm. à 10 h. 10. A 10 h. 11, elle est de 9.4 cm. ; à 10 h. 13, de 10.2 cm. ; à 10 h. 16, de 10 cm. ; à 10 h. 19, de 10.1 cm.

Un échantillon de sang recueilli à 10 h. 21 est coagulé à 12 h. 5.

On examine également l'influence de la peptone sur la coagulation du sang *in vitro*. A cet effet, du sang est reçu dans une éprouvette contenant une quantité mesurée de la solution de peptone, à raison de 1.4 cc. de sang pour 0.1 cc. de la solution à 10 %. Ce rapport représente 0.5 grammes de peptone sèche pour 75 grammes de sang, c'est-à-dire un kilogramme d'oiseau vivant. Le mélange de peptone et de sang, fait à 9 h. 54, est coagulé à 11 h. 55.

On renouvelle l'essai, après l'injection intraveineuse, à 10 h. 21. Ce second mélange a donné un voile à 13 heures, un caillot ferme à 16 h.

Expérience VII (15 novembre 1921). — Coq de 1625 grammes, à jeun depuis 24 heures.

A 10 h. 50, prise de sang, coagulé à 13 h. Prélevé quelques centimètres cubes de sang qui sont soumis à la centrifugation en tube paraffiné : plasma paraffiné I.

A 10 h. 57, injecté, en 5 à 10 secondes, 8.15 cc. de la solution à 10 % de peptone de Witte. Pas de réaction. La pression artérielle n'est pas enregistrée. A 11 h. 7, prise de sang, fluide à 19 h., coagulé après 24 heures. Prélevé quelques centimètres cubes de sang qui sont aussitôt mis à centrifuger en tube paraffiné : Plasma paraffiné II.

On prépare les mélanges suivants :

Plasma paraffiné I	Plasma paraffiné II	Solution (1) de peptone 10 %	Emulsion de lipolde (céphaline)	Crème fraîche de lait	RÉSULTATS
0.5 cc.	—	—	—	—	Caillot après 7 heures.
0.5	—	—	—	0.1 cc.	Caillot après 29 min.
0.5	—	—	—	0.01	Caillot après 1 heure.
0.5	—	—	0.1 cc.	—	Caillot après 8 minutes.
0.5	—	—	0.01	—	Caillot après 39 minutes.
0.5	—	0.031 cc	—	—	Fluide indéfiniment.
0.5	—	0.031	—	0.1	Caillot après 44 minutes.
0.5	—	0.031	—	0.01	Caillot après 1 h. 22 min.
0.5	—	0.031	0.1	—	Caillot après 16 minutes.
0.5	—	0.031	0.01	—	Caillot après 46 minutes.
—	0.5 cc.	—	—	—	Fluide indéfiniment.
—	0.5	—	—	0.1	Caillot après 33 min.
—	0.5	—	—	0.01	Caillot après 5 h. 28 m.
—	0.5	—	0.1	—	Fluide indéfiniment.
—	0.5	—	0.01	—	Caillot après 4 h. 50 m.
—	0.5	0.031	—	—	Fluide indéfiniment.
—	0.5	0.031	—	0.1	Caillot après 54 min.
—	0.5	0.031	0.1	—	Caillot très mou après 2 h. 50.

(1) L'adjonction de la solution de peptone a été faite dans le rapport de 5 cc. de solution pour 80 cc. de plasma. En admettant qu'il y ait 80 cc. de sang par kilogramme d'animal, cela ferait une adjonction au plasma d'une quantité de peptone égale à celle qui s'est mélangée au sang complet (y compris les globules) pendant l'injection intraveineuse, dans l'hypothèse que la peptone injectée reste à l'intérieur de l'appareil vasculaire.

EXPÉRIENCE VIII

Solution de fibrinogène	Solution d'oxalate sodique à 1.5 %	Solution isotonique de chlorure sodique	Plasma oxalaté I	Plasma oxalaté II	Sérum du plasma oxalaté I recalcifié et soumis à l'action du chloroforme pendant 1 h. à 37°	Sérum du plasma oxalaté II recalcifié et soumis à l'action du chloroforme pendant 1 h. à 37°	Solution de thrombine	RÉSULTATS
0.1 cc.	0.1 cc.	0.2 cc.	0.5 cc.	—	—	—	0.1 cc.	Fluide indéfiniment.
0.1	0.1	0.4	0.3	—	—	—	0.1	Idem.
0.1	0.1	0.6	0.1	—	—	—	0.1	Idem.
0.1	0.1	0.65	0.05	—	—	—	0.1	Idem.
0.1	0.1	0.67	0.03	—	—	—	0.1	Idem.
0.1	0.1	0.7	0.01	—	—	—	0.1	Voile cohérent le lendemain.
0.1	0.1	0.7	0.005	—	—	—	0.1	Léger voile après 1 heure ; caillot ferme le lendemain.
0.1	0.1	0.7	0.003	—	—	—	0.1	Léger voile après 1 h. ; caillot ferme le lendemain.
0.1	0.1	0.2	—	0.5 cc.	—	—	0.1	Fluide indéfiniment.
0.1	0.1	0.4	—	0.3	—	—	0.1	Idem.
0.1	0.1	0.6	—	0.1	—	—	0.1	Idem.
0.1	0.1	0.65	—	0.05	—	—	0.1	Idem.
0.1	0.1	0.67	—	0.03	—	—	0.1	Idem.
0.1	0.1	0.7	—	0.01	—	—	0.1	Idem.
0.1	0.1	0.7	—	0.005	—	—	0.1	Voile cohérent le lendemain.
0.1	0.1	0.7	—	0.003	—	—	0.1	Léger voile après 1 h. ; caillot ferme le lendemain.
0.1	0.1	0.7	—	—	—	—	0.1	Idem.
0.1	0.1	0.7	—	—	0.1 cc.	—	0.1	Voile après 40 minutes ; caillot ferme le lendemain.
0.1	0.1	0.7	—	—	0.01	—	—	Caillot après 1 ½ minute.
0.1	0.1	0.8	—	—	0.003	—	—	Caillot après 6 minutes.
0.1	0.1	0.8	—	—	0.001	—	—	Voile après 13 minutes ; caillot après 35 minutes.
0.1	0.1	0.8	—	—	0.0003	—	—	Caillot mou après 35 min. ; caillot ferme le lendemain.
0.1	0.1	0.8	—	—	0.0001	—	—	Caillot ferme le lendemain.
0.1	0.1	0.8	—	—	—	0.1 cc.	—	Légers flocons le lendemain.
0.1	0.1	0.7	—	—	—	0.01	—	Caillot après 13 minutes.
0.1	0.1	0.8	—	—	—	0.01	—	Voile après 20 minutes ; caillot après 1 heure.
0.1	0.1	0.8	—	—	—	0.003	—	Léger voile après 40 minutes ; caillot après 1 h. 10.
0.1	0.1	0.8	—	—	—	0.001	—	Caillot mou après 2 heures ; caillot ferme le lendemain.
0.1	0.1	0.8	—	—	—	0.0003	—	Caillot le lendemain.
0.1	0.1	0.8	—	—	—	0.0001	—	Fluide indéfiniment.

Expérience VIII (24 août 1921).— Coq de 610 grammes, à jeun depuis 24 heures.

Prise de sang I à 15 h. 15, coagulé à 17 h. 45. Recueilli 3 cc. de sang oxalaté I.

A 15 h. 27, la pression artérielle est de 11.7 cm. de mercure.

De 15 h. 27 min. à 15 h. 27 min. 20 sec., injecté 3 cc. de la solution à 10% de peptone de Witte. La pression tombe immédiatement et atteint un minimum de 6 cm. à 15 h. 29. Elle remonte assez lentement ensuite ; à 15 h. 30, elle est de 6.8 cm.; à 15 h. 31, de 6.6 cm.; à 15 h. 32, de 7.4 cm.; à 15 h. 33, de 7.8 cm.; à 15 h. 35, de 8.9 cm. ; à 15 h. 37, de 9.2 cm.; à 15 h. 38 de 9.4 cm.

A 15 h. 42, on fait une prise de sang II, qui est encore fluide le lendemain, coagulé le surlendemain.

Une détermination de l'antithrombosine dans les plasmas I et II indique une teneur exactement la même dans les deux.

Après coagulation par le chloroforme des plasmas I et II, on dose la thrombine dans les deux sérums. La concentration est sensiblement la même, avec cependant une diminution à peine appréciable dans le sérum du plasma II.

La peptone agit donc chez l'oiseau à la façon du sérum chloroformique, des extraits aqueux d'organes ou des lipoides thromboplastiques, avec cette différence que son action dépressive sur la tension artérielle est plus constante et plus intense. Par contre, son influence sur la coagulabilité du sang n'est bien marquée qu'à la condition d'employer des quantités considérables (0.5 gr. par kilogramme) et de les administrer avec rapidité. Chose curieuse, l'extirpation préalable du foie, loin d'empêcher l'action anticoagulante de la peptone, semble plutôt la favoriser. Chez un animal sans foie, une injection de 0.5 gr. par kilogramme faite en 1 ½ minute diminue la coagulabilité du sang au point qu'un échantillon était encore fluide après deux jours. Ce dernier résultat est tout à fait différent de celui que l'on obtient dans les mêmes conditions expérimentales chez le chien.

La diminution de coagulabilité du sang et du plasma circulants n'est pas attribuable, comme le prouvent les expériences VI et VII, à l'action anticoagulante directe de la peptone. Mélangée directement au sang *in vitro*, la peptone est dénuée de toute action anticoagulante à des concentrations qui, réalisées momentanément dans les vaisseaux, suppriment la coagulabilité spontanée du sang d'oiseau. Cette influence *in vivo* relève du mécanisme qui a été analysé en détail à propos des injections de sérum chloroformique.

Comme les plasmas précédents, le plasma de peptone doit son

excès de stabilité non pas à une teneur augmentée d'antithrombosine (voir l'expérience VIII), mais à une moindre sensibilité aux agents thromboplastiques (voir l'expérience VII), qui s'explique le mieux par une légère diminution de sa teneur en thrombozyme, plus particulièrement de sa thrombozyme globuline.

Il est très intéressant de constater que cette disparition de la thrombozyme du plasma circulant, qui a été attribuée à une coagulation intravasculaire partielle, peut être provoquée par l'injection intraveineuse d'une substance, comme la peptone, qui ralentit *in vitro* la coagulation du sang d'oiseau.

Les substances précédemment étudiées, comme le sérum chloroformique et les extraits d'organes, accélèrent la coagulation *in vitro* et il est naturel de supposer qu'elles exercent la même action *in vivo*. La preuve directe a d'ailleurs pu être faite pour plusieurs d'entre elles. Mais n'est-ce pas faire violence aux faits d'admettre que la peptone, qui empêche la coagulation du plasma d'oiseau dans un tube de verre, puisse la favoriser dans les vaisseaux ?

L'action anticoagulante *in vitro* sur le plasma pur s'observe déjà pour des adjonctions de 0.6 gr. de peptone sèche à 100 cc. de plasma (voir expérience VII) et même pour des concentrations de peptone notablement inférieures (y compris 0.1 %). Chez le mammifère, la peptone favorise la coagulation aux concentrations faibles, l'empêche aux concentrations fortes.

Il suffirait de diminuer très légèrement la teneur du plasma de mammifère en thrombozyme pour que l'influence coagulante des concentrations faibles disparaisse et que la peptone soit anticoagulante à toutes les concentrations, comme chez l'oiseau. Réciproquement, il est probable que si l'on pouvait augmenter la teneur du plasma d'oiseau en thrombozyme ou diminuer sa teneur en antithrombosine, on verrait apparaître une action coagulante des petites quantités de peptone. Le plasma de sélacien, stable comme le plasma d'oiseau, se comporte comme lui à l'égard de la peptone. Or, si on lui ajoute au préalable une très faible quantité d'extrait de rate, insuffisante pour le coaguler seul, et ensuite un peu de peptone, on observe une coagulation rapide ⁽¹⁾.

Ce qui vient d'être dit de la peptone s'applique à un grand nom-

⁽¹⁾ P. NOLF. La coagulation du sang des poissons. *Arch. intern. Physiol.*, 1906⁹ IV, 216-259.

bre de substances dissoutes. Il est impossible d'examiner ici comment doivent s'expliquer ces faits, dont une interprétation est donnée à la fin de ce mémoire. Ce qu'il importait de rappeler, c'est que propriété coagulante et propriété anticoagulante n'ont rien d'absolu et qu'une même substance est coagulante ou anticoagulante suivant sa concentration propre dans le milieu coagulable et la teneur de celui-ci en thrombozyme et en antithrombosine. L'effet varie suivant les circonstances. Mais positif (coagulation) ou négatif (stabilisation), il prouve dans les deux cas l'affinité de la substance pour les protéines du plasma.

Quand on introduit la peptone dans l'appareil vasculaire, on la mélange à un plasma, chargé de cellules rouges et blanches et circulant au contact d'une paroi cellulaire, l'endothélium vasculaire. Entre ces divers éléments règnent les rapports les plus étroits, non seulement parce qu'ils se touchent, mais pour des raisons plus intimes. Bien que l'existence d'un appareil lymphatique rende extrêmement difficile l'étude expérimentale de l'origine des substances protéiques du plasma, il est très probable qu'elles sont sécrétées en totalité par l'endothélium vasculaire. J'ai pu fournir des arguments de fait à l'appui de cette manière de voir ⁽¹⁾. Certains savants, tels qu'EHRlich, ont prétendu que toutes les cellules de l'organisme peuvent déverser dans le plasma les substances protéiques élaborées par elles (Seitenkettetheorie). Cette opinion est en contradiction avec des notions bien établies. La première est l'action toxique des extraits aqueux d'organes en injection intraveineuse; la seconde est un argument d'analogie. Le sang des vertébrés est un liquide de composition très constante; des appareils sensibles règlent de façon étroite la concentration de ses différents constituants. Le centre respiratoire établit une concentration constante en CO_2 et O_2 , le foie surveille la richesse en glycose, le rein élimine les sels minéraux, l'urée et les résidus du métabolisme azoté, dès que leur concentration dans le plasma s'élève au-dessus d'un seuil. Il serait étonnant que de tous les constituants du plasma, les substances protéiques seules, qui sont le matériel le plus abondant et le plus hautement différencié, puisque seul il est spécifique, échappent à cette règle générale. Il est au contraire très vraisemblable que leur qualité et leur concen-

(¹) P. NOLF. Rôle de l'épithélium intestinal dans l'assimilation de l'azote alimentaire. *Journ. de Physiol. et Path. génér.*, 1907, 957-968.

tration sont soumises à une stricte régulation par un organe ou tissu particulier. Mais elles tiennent de leur nature colloïdale de ne pouvoir diffuser au travers des membranes. Il faut une pression hydrostatique positive pour les faire passer à travers l'endothélium et encore le passage se fait-il, sans aucun doute, par les lignes de contact entre les cellules. Si l'organe chargé de la régulation des protéines était situé en dehors de la barrière endothéliale, il pourrait difficilement apprécier de faibles variations successives de l'équilibre colloïdal du plasma à mesure de leur production. Il pourrait plus difficilement encore réagir, que ce soit pour éliminer des substances protéiques ou pour en sécréter. Car, dans les deux cas, son intervention ne pourrait s'effectuer que par le détour de la circulation lymphatique, ce qui entraînerait un grand retard. Or, nous voyons à la suite de l'injection d'albumines étrangères dans la circulation, les réactions se faire très rapidement tant dans le foie, que dans une circulation limitée à la partie sus-diaphragmique du corps ⁽¹⁾. Tous ces faits ne se comprennent bien que dans l'hypothèse que les substances protéiques du plasma sont élaborées par l'endothélium vasculaire et les leucocytes du sang et des organes lymphatiques. Les ganglions lymphatiques seraient, dans cette conception, des filtres chargés d'arrêter, non des microbes, qui n'existent pas dans les tissus à l'état normal, mais les détritits cellulaires et les substances protéiques abandonnées à la lymphe par les cellules extra-vasculaires au cours du travail normal ou excessif des organes. Les cellules endothéliales et les leucocytes du sang circulant jouent le même rôle à l'égard des mêmes substances, chaque fois que forçant ou tournant la barrière ganglionnaire, elles pénètrent dans les vaisseaux sanguins.

S'il en est ainsi, on conçoit qu'il est impossible, quand on étudie les conséquences d'une injection intraveineuse d'une substance étrangère au milieu humoral, douée d'affinité pour les colloïdes plasmatiques, de séparer la réaction propre des substances protéiques du plasma de la réaction propre de l'endothélium, pour deux raisons : en premier lieu, si la substance étrangère est douée d'affinité pour les substances protéiques du plasma, elle aura également de l'affinité pour les protéines à l'état de gel, qui constituent le protoplasme des cel-

⁽¹⁾ P. NOLF. La composition protéique du milieu humoral. *Arch. intern. de Physiol.*, 1910, IX, 204-261.

lules endothéliales, puisque les premières dérivent des secondes et ne sont pas autre chose qu'un protoplasme liquide, commun à toutes les cellules endothéliales. Elle agira donc directement sur les leucocytes et l'endothélium. D'autre part, toute réaction entre la substance étrangère et les protéines du plasma modifiera leur état d'équilibre, ce qui amènera de nouveaux rapports entre elles et l'endothélium et une réaction de ce dernier; inversement, toute action sur l'endothélium, en provoquant une réaction, tendra à modifier la composition protéique du plasma. Plasma et endothélium sont donc des éléments solidaires, comme le démontre d'ailleurs l'étude des états pathologiques désignés sous le nom de choc. On tend de plus en plus à faire dépendre tous les états de choc de la pénétration plus ou moins brusque et massive de certains éléments étrangers dans la voie sanguine.

Les caractères essentiels de l'état de choc sont, comme je l'ai montré en 1910 : 1^o des modifications de la composition protéique du plasma, qui se marquent notamment par des troubles de la coagulabilité du sang et 2^o une réaction endothéliale, dont les signes principaux sont une augmentation de la lymphogénèse splanchnique et une diminution du tonus des capillaires hépatiques, entraînant une chute de la pression artérielle.

Il est donc indifférent, au point de vue de la production éventuelle d'un choc, que l'action de la peptone sur les protéines du plasma tende vers une insolubilisation ou vers une augmentation de la stabilité *in vitro*. L'essentiel, c'est que l'une ou l'autre de ces deux actions existe, parce que l'une et l'autre sont la preuve d'une affinité de la peptone pour les protéines du plasma et par conséquent pour l'endothélium. Introduite dans la voie sanguine, la peptone se partagera donc immédiatement entre le plasma et l'endothélium. Mais en se fixant sur ce dernier, elle modifie les rapports qui existent entre lui et le plasma, ce qui pourra entraîner des fixations secondaires des colloïdes du plasma.

D'autre part, les complexes qu'a formés la peptone en s'unissant à certains colloïdes du plasma seront probablement plus enclins à se fixer sur la membrane endothéliale altérée que les colloïdes libres.

Ainsi doit se comprendre la disparition partielle de la thrombozyme dont témoignent les analyses du plasma. Et l'on se trouve ainsi fondé à conclure que la peptone, agent de stabilisation *in vitro*, provoque *in vivo* une défibrination partielle du sang circulant, de même

essence que celle que produisent des agents, comme le sérum chloroformique, qui sont très coagulants *in vitro*.

Après ces expériences faites avec diverses substances solubles, il pouvait être intéressant de rechercher la réaction de l'oiseau à des particules insolubles, suspendues dans le plasma. Les premiers essais portèrent sur des émulsions de chloroforme en eau gommeuse.

Emulsions de chloroforme

Il a été dit dans un mémoire précédent que l'injection dans les veines de l'oiseau d'une grande quantité de solution saline isotonique saturée de chloroforme peut le tuer par thrombose cardiaque. On obtient le même résultat avec un volume de liquide beaucoup moins considérable, si l'on administre le chloroforme à l'état d'émulsion. Le chloroforme ne s'émulsionne pas dans l'eau salée, mais on obtient des suspensions assez stables, si l'on emploie des liquides sucrés dont la viscosité est accrue par l'addition de glycérine et d'une gomme soluble. J'ai employé une solution dans l'eau de 10 % de glycérine, 20 % de saccharose et 10 % de gomme arabique. Ce liquide était agité énergiquement avec un excès de chloroforme et abandonné à lui-même pendant quelques minutes en tube bouché, à l'effet de laisser se séparer les gouttelettes les plus volumineuses. Le liquide surnageant uniformément trouble fut injecté à raison de 2 cc. par kilogramme. A cette dose, la solution gommeuse, exempte de chloroforme, ne produit elle même aucun effet ni sur le sang, ni sur la circulation. L'émulsion de chloroforme est par contre hautement toxique.

Expérience IX (22 novembre 1920). — Coq de 2335 grammes à jeun depuis 24 heures.

A 16 h. 7, prise de sang, coagulé à 19 h.

A 17 h. 45, la pression artérielle est de 10 cm. de mercure. On injecte en 20 secondes, 5 cc. d'une émulsion de chloroforme en eau gommeuse. La pression tombe immédiatement, l'animal est pris de quelques convulsions et meurt. A l'ouverture de la poitrine, on trouve le cœur distendu par de volumineux caillots qui remplissent toutes les cavités.

Injectée à grande vitesse, elle tue l'animal par thrombose cardiaque massive. On obtient un effet différent, si l'injection est faite avec un peu plus de lenteur.

Expérience X. — Coq de 2775 grammes, à jeun depuis 24 heures.

A 13 h. 18, prise de sang ; caillot incomplet à 18 h. ; complet le lendemain matin.

Afin d'éviter une mort possible par l'action du toxique sur le bulbe, on fait de la respiration artificielle pendant toute la durée de l'expérience (depuis 13 h. 25).

A 13 h. 33, la pression artérielle est de 16 cm. de mercure. De 13 h. 33 min. 10 sec. à 13 h. 33 min. 45 sec., injecté 5.4 cc. d'émulsion chloroformique. La pression tombe rapidement, tandis que les mouvements respiratoires s'exagèrent d'abord pour devenir plus superficiels et rares au moment où la pression artérielle est basse. A 13 h. 33 min. 30 sec., la pression artérielle est de 4.8 cm. Elle remonte passagèrement jusqu'à 10.8 cm. à 13 h. 35 ; elle se maintient ensuite à un niveau plus bas : 7 cm. à 13 h. 36 ; 6.7 cm. à 13 h. 37 ; 6.8 cm. à 13 h. 39 ; 7.7 cm. à 13 h. 43. On tue l'animal par saignée à 13 h. 48.

Un échantillon de sang, pris à 13 h. 48, est encore complètement fluide après deux jours (le plasma est teinté en rouge par l'hémoglobine). A l'autopsie, on ne trouve aucun caillot ni dans les cavités cardiaques, ni dans aucun vaisseau.

Plasma d'oiseau	Emulsion de chloroforme en eau gommeuse	RÉSULTATS
1 cc.	—	Fluide après 9 heures ; coagulé le lendemain.
1	0.4 cc.	Grumeaux fibrineux après quelques minutes, sans caillot plasmatique ; caillot après 6 h.
1	0.2	Caillot après 30 minutes.

Il fut fait une évaluation (1) par hémolyse de la teneur en chloroforme de l'émulsion. Elle contenait de 5 à 6 fois plus de chloroforme que le même volume de la solution saline isotonique saturée de chloroforme.

Dans l'expérience X, les essais furent : du côté du sang, une forte diminution de la coagulabilité ; du côté de la pression artérielle, une chute profonde et persistante.

Qu'on les injecte très rapidement ou avec une vitesse un peu moindre, les émulsions de chloroforme exercent donc sur la coagulation *in vivo* une influence en tous points identique à celle du sérum chloroformique (débarassé de tout chloroforme). Cette similitude dans les effets s'explique par l'action très énergiquement coagulante que les émulsions exercent sur le sang quand on les emploie à dose forte.

(1) L'évaluation fut faite par la méthode exposée à la page 332 du mémoire : Le choc thromboplastique de l'oiseau. *Arch. intern. Physiol.*, 1922, XVII, 271-336. A la ligne 23 de cette page, il faut lire « que le chloroforme soit le seul agent hémolytique... » au lieu de « que le sérum soit le seul agent hémolytique... »

Les essais *in vitro* démontrent que la propriété coagulante appartenant à un certain nombre de liquides de faible solubilité, comme l'éther, le chloroforme, les alcools supérieurs, etc., est plus marquée quand ils forment dans le plasma une émulsion fine. Il est probable qu'à l'influence coagulante qui peut appartenir à la substance simplement dissoute, s'ajoute, dans ce cas, l'action de contact qui s'établit entre les gouttelettes et le liquide. On peut admettre que la formation de fibrine doit être extrêmement rapide au contact des gouttelettes de chloroforme dans un plasma saturé de chloroforme. C'est à cette circonstance qu'est due l'action thrombosante énergique des émulsions de chloroforme quand on les injecte dans les vaisseaux. (1)

Il pouvait être intéressant de comparer aux résultats de l'administration d'une émulsion de chloroforme ceux que donnent d'autres liquides non solubles dans l'eau. Afin d'éviter une action toxique propre, il était tout indiquer de s'adresser aux glycérides. Les premiers essais furent faits avec la tributyrine, qui a le grand avantage sur les graisses naturelles d'être obtenue par synthèse, par conséquent tout à fait exempte d'impuretés, notamment de lipoides d'origine protoplasmique.

Action toxique de la tributyrine émulsionnée dans le plasma d'oiseau et de quelques autres substances

La tributyrine, triglycéride de l'acide butyrique normal, est une substance presque insoluble dans l'eau, qui s'émulsionne incomplètement dans le plasma, quand on la secoue vigoureusement avec lui. Examinée au microscope, une émulsion de tributyrine dans du plasma d'oiseau est peu homogène. A côté de globules très fins, à la limite de la visibilité, agités de mouvements browniens, elle en contient de très volumineux et tous les intermédiaires. A cette miscibilité assez réduite correspond un pouvoir coagulant relativement faible sur le plasma. Si l'on se contente d'émulsionner la tributyrine, ajoutée au plasma à raison d'un volume pour neuf volumes de plasma, par une seule agitation énergique de quelques secondes de durée, le plus souvent on n'observe pas la coagulation en masse du plasma, mais seulement l'agglutination entre elles des gouttelettes après un temps plus ou moins long. La coagulation, dans ce cas, reste limitée à la surface des gouttelettes sans se propager à toute

(1) Il convient de tenir compte aussi de l'action destructrice du chloroforme sur les éléments figurés du sang.

la masse liquide du plasma, elle est exclusivement périparticulaire et elle se présente sous l'aspect macroscopique et microscopique d'une agglutination de microbes par un sérum spécifique.

Mais si l'agitation du mélange de plasma et de tributyrine est prolongée ou renouvelée plusieurs fois au cours de la première demi-heure, on voit se développer, après un temps inférieur à une heure, le plus souvent très peu de temps après une agitation, un caillot massif, qui englobe et les gouttelettes de tributyrine et toute la masse liquide du plasma. Cette coagulation, pour tardive qu'elle soit, peut donner des quantités de thrombine presque aussi considérables que la coagulation du plasma par le chloroforme.

Ces constatations prouvent que la tributyrine n'est capable de coaguler le plasma d'oiseau qu'à la condition de lui être mélangée à l'état d'émulsion. Les quantités, d'ailleurs très faibles, que le plasma peut dissoudre sont de nul effet. Ceci permettrait de supposer qu'un plasma saturé de tributyrine par une agitation énergique au contact de cette substance et séparé aussi complètement que possible, par une centrifugation prolongée et à grande vitesse, de l'excès de tributyrine non dissoute, n'exerce aucune action sur la coagulation de l'animal vivant après injection dans une veine. C'est en effet ce que l'expérience confirme (voir expérience XI). On ne constate ni action dépressive sur la pression artérielle, ni effet sur la coagulation du sang ; pendant l'injection et dans les moments qui suivent, la respiration est un peu accélérée.

Ce résultat négatif suppose que la tributyrine n'a été tenue au contact du plasma que pendant un temps relativement court et qu'elle en a été séparée avant tout début de coagulation. Si un plasma subit, par suite de son contact prolongé avec l'émulsion de tributyrine, une coagulation complète, le sérum séparé aura acquis des propriétés toxiques d'autant plus marquées qu'il est plus riche en thrombine. L'étude de ce point ayant été faite à propos de l'action du chloroforme sur le plasma d'oiseau, il n'en sera pas reparlé pour la tributyrine.

La question qui est particulièrement étudiée dans ce chapitre, est celle des propriétés toxiques qui appartiennent à la tributyrine elle-même, quand elle est injectée, émulsionnée dans du plasma normal, avant tout début de coagulation.

Ces propriétés varient dans une large mesure avec la façon dont la préparation a été faite. Ainsi qu'il a été dit, l'émulsion qu'on peut

obtenir, en agitant très énergiquement, dans un tube à réaction, un mélange de plasma avec le vingtième ou le dixième de son volume de tributyrine, est très peu homogène. Abandonnée à elle-même, elle laisse sédimenter après quelques minutes les gouttelettes les plus volumineuses, tandis que les plus fines restent en suspension indéfiniment. Pour hâter cette séparation, le mieux est de centrifuger pendant quelques secondes à vitesse réduite, aussitôt après avoir préparé l'émulsion. Un examen au microscope permet de s'assurer que le plasma décanté ne contient plus que des globules petits et moyens (les dimensions des derniers ne dépassant pas celles d'une hématie) qui le rendent modérément opaque.

Une émulsion ainsi préparée est faiblement toxique. Administrée à la dose de 2 à 5 cc. par kilogramme d'animal, elle produit une dyspnée considérable, parfois une faible hausse de la pression artérielle et un retard plus ou moins marqué de la coagulation du sang, qui dans beaucoup de cas n'est achevée qu'après 24 heures. Des quantités plus considérables, allant jusqu'à 10 cc. par kilogramme, agissent de même ou provoquent une chute transitoire de la pression artérielle ; mais elles ne tuent jamais, si elles ne contiennent pas de globules de grandes dimensions.

Les effets de l'injection sont beaucoup plus sérieux, si au lieu d'éliminer par une courte centrifugation les globules volumineux qui se sédimentent, on injecte l'émulsion totale, c'est-à-dire le mélange de plasma et de tributyrine tel qu'on l'obtient par une agitation énergique (1/10 du volume de tributyrine). C'est ce qui a été fait dans l'expérience suivante :

Expérience XI (15 juin 1921). — Coq de 800 grammes à jeun depuis 24 heures.

A 16 h. 22, prise de sang, coagulé à 18 h. 25.

A 16 h. 33, la pression artérielle est de 14 cm. de mercure.

De 16 h. 33 min. 10 sec. à 16 h. 33 min. 55 sec. injecté 4 cc. de plasma de coq, qui après avoir été agité avec un dixième de son volume de tributyrine, en a été séparé par plusieurs centrifugations consécutives. L'animal réagit par une légère accélération de la respiration, dont les mouvements conservent la même amplitude. A 16 h. 35, la pression artérielle est de 14.4 cm. ; à 16 h. 36, de 14.9 cm. ; à 16 h. 39, de 14.9 cm. ; à 16 h. 44, de 13.9 cm.

A 16 h. 41, prise de sang, coagulé à 18 h. 35.

De 16 h. 44 min. 50 sec. à 16 h. 45 min. 50 sec. injecté 1.5 cc. du plasma précédant tenant 10 % de son volume de tributyrine en émulsion.

Dès que la première moitié du mélange a été injectée, la ligne de pres-

sion artérielle présente une chute presque verticale. La respiration, d'abord fréquente et ample, diminue rapidement d'amplitude, s'arrête ; l'animal est pris de convulsions et meurt. On ouvre la poitrine et fixe une canule dans la branche gauche de l'artère pulmonaire, d'où s'écoule une grande quantité de sang qui est recueillie de 16 h. 52 à 16 h. 55 en trois tubes de verre flambés.

Le sang du premier tube est coagulé à 16 h. 56.

Le sang du deuxième tube est coagulé à 17 h. 20.

Le sang du troisième tube est coagulé à 17 h. 40.

Un échantillon du plasma, tenant en émulsion 10 % de tributyrine, qui a été injecté, ne se coagule pas lui-même ni le jour de l'expérience, ni le jour suivant. Au moins ne se produit-il pas de solidification massive du plasma, mais une simple agglutination des globules de tributyrine.

Le protocole ci-avant est un exemple de mort instantanée par l'émulsion à 1/10 de tributyrine. Bien que la chute de la pression artérielle rappelle par sa rapidité celle qui fait suite à l'injection d'un plasma saturé de chloroforme, le mécanisme en est différent. La tributyrine ne produit pas de relâchement de la paroi vasculaire. Elle tue le cœur et le système nerveux central. Quand on ouvre la poitrine immédiatement après la chute de pression, on trouve le cœur arrêté ou ne battant plus que très faiblement ; quelquefois, les oreillettes battent seules. Probablement la mort survient-elle dans ces cas à la suite d'une obstruction des artéioles et des capillaires coronaires par des gouttelettes de tributyrine. Ces embolies sont toujours microscopiques. Jamais on ne voit survenir, comme après l'injection d'une émulsion de chloroforme, de thrombose du cœur ou des gros vaisseaux. Il existe aussi de nombreuses obstructions des petits vaisseaux du réseau pulmonaire. Chez les animaux qui survivent à l'injection d'une émulsion épaisse de tributyrine, il est de règle de voir s'établir une cyanose plus ou moins considérable, qui dénote les mauvaises conditions de la circulation pulmonaire.

Aux effets de ces lésions s'ajoutent ceux des mêmes obstructions dans les centres nerveux, notamment la paralysie bulbaire. C'est probablement celle-ci qui cause le plus habituellement la mort. On constate, en effet, qu'en même temps que tombe la pression artérielle, les mouvements respiratoires, d'abord plus amples et plus accélérés, vont diminuant rapidement et s'arrêtent très tôt. Les choses se passent comme si le centre respiratoire et le centre vasomoteur bulbaire étaient frappés simultanément de paralysie. Quand la mort n'est pas brutale et que la chute de la pression artérielle, au lieu

d'être verticale, se fait plus lentement, on peut voir l'affaiblissement progressif des mouvements respiratoires annoncer la chute définitive de la pression artérielle.

D'autre part, quelques expériences d'injection de l'émulsion totale à des animaux dont la colonne cervicale avait été écrasée au préalable et auxquels la respiration artificielle était faite, montrèrent que cette préparation opératoire rend l'animal plus résistant et diminue dans une forte mesure les chances de mort soudaine.

Il peut se faire cependant que ces animaux succombent à un arrêt du cœur, mais cet accident est relativement rare, si l'on a soin de ne pas pousser l'injection trop brusquement. Chez eux, la pression artérielle, très basse avant l'injection, monte habituellement après celle-ci, en même temps qu'éclatent des convulsions cloniques passagères du tronc et des membres. La hausse de la pression artérielle peut être notable. Dans une expérience, elle s'éleva de 3.7 cm. de mercure à 6.4 cm. ; dans une autre, de 3.5 cm. à 8.6 cm. Cette élévation, qui doit être attribuée à l'action excitante produite dans ces conditions expérimentales sur les centres moteurs de la moelle épinière, est intéressante en ce qu'elle nous fournit la preuve que la paroi vasculaire n'est pas paralysée, à l'encontre de ce que l'on rencontre dans le choc peptonique ou anaphylactique. Cette constatation permet donc, en accord avec celles qui ont été faites sur l'animal intact, de faire dépendre la chute de la pression artérielle, qui survient chez ce dernier après l'injection intraveineuse d'une émulsion de tributyrine, en ordre principal d'une paralysie du centre vasomoteur bulbaire, en ordre secondaire d'une action sur le cœur.

Il reste à examiner les altérations du sang après injection de l'émulsion totale. Quand la mort est subite, comme dans l'expérience XI, le mélange de sang et de tributyrine qui remplit les cavités cardiaques, n'a pas eu le temps de subir de façon complète le contact de la paroi endothéliale des capillaires de la grande circulation. Aussi la coagulabilité est-elle augmentée, par suite de l'effet thromboplastique de la tributyrine.

Cet effet était très marqué dans l'expérience XI. Alors que le sang normal d'oiseau reste d'habitude fluide pendant deux à trois heures au contact d'une paroi de verre, le sang du cœur, recueilli avec les précautions d'usage, était coagulé après quelques minutes. Il est intéressant de saisir ainsi sur le vif, grâce à la mort subite de l'animal, le premier effet qu'exerce l'agent thromboplastique sur le

sang auquel il se mélange. Comme on devait s'y attendre, cet effet est de même nature que celui que l'on observe *in vitro* quand on émulsionne de la tributyrine dans un plasma pur. Il paraît seulement plus intense, ce qui peut être attribué à la présence des globules blancs du sang, qui renforcent, comme on sait, toute coagulation qui s'amorce dans le plasma.

Malgré ces conditions favorables à la formation d'un caillot, jamais l'émulsion de tributyrine ne provoque une thrombose même limitée du cœur ou des vaisseaux. La propriété thromboplastique est trop faible pour produire un tel résultat. D'ailleurs la mort n'est d'habitude pas assez subite pour que le cœur, en continuant à battre faiblement, ne parvienne à faire passer toute la masse du sang chargée de tributyrine par les aires capillaires. Aussi le résultat habituel est-il différent de celui de l'expérience XI. Au lieu d'être plus coagulable que normalement, le sang recueilli après l'injection est moins coagulable. Il lui faut un ou deux jours avant de se solidifier. Il subit moins l'influence des agents thromboplastiques : contact du verre, adjonction de céphaline, de crème de lait, etc.... Les propriétés du sang sont les mêmes que celles du sang des oiseaux injectés d'agents thromboplastiques solubles et notamment de sérum chloroformique. L'accroissement de stabilité n'est cependant pas aussi marqué habituellement.

Expérience XII (23 juin 1921). — Coq de 730 grammes à jeun depuis 24 heures.

A 15 h. 35, prise de sang, coagulé à 18 h. 30 min.

A 15 h. 53, la pression artérielle est de 10.3 cm. De 15 h. 53 min. 50 sec. à 15 h. 54 min. 20 sec., injecté 1 cc. d'émulsion totale à 10 % de tributyrine dans le plasma de coq. La pression tombe presque verticalement à 4 cm. de mercure (à 15 h. 55 min.). L'animal s'agite violemment ; les mouvements respiratoires sont espacés et superficiels mais ne s'arrêtent pas complètement. A partir de 15 h. 56 min., ils deviennent plus profonds, en restant espacés. La pression artérielle remonte. Elle est de 5 cm. à 15 h. 56, de 7 cm. à 15 h. 57, de 8.2 cm. à 15 h. 59. Un échantillon de sang pris à 16 h. 2 est encore fluide le lendemain.

Ces expériences sont intéressantes à plusieurs titres : une substance liquide, peu soluble dans l'eau, la tributyrine, est dépourvue, quand elle est simplement dissoute à saturation dans le plasma, de toute influence coagulante ; elle est modérément thromboplastique à l'état d'émulsion. Injectée dans les veines, en solution saturée dans

le plasma, elle est sans action ; émulsionnée, elle tue l'animal au milieu de symptômes qu'il est difficile de ne pas confondre avec ceux du choc : chute immédiate de la pression artérielle, convulsions généralisées et incoagulabilité du sang.

Cependant cette mort subite n'est pas un choc analogue à celui qu'on produit si aisément chez le chien par une injection intraveineuse de peptone ou d'un antigène quelconque, si l'animal est anaphylactisé. Entre les deux états, il y a certes les plus grandes analogies. La réaction humorale est la même dans ses caractères et dans son essence. C'est par un mécanisme identique que le sang devient incoagulable dans le choc anaphylactique ou après injection à l'oiseau d'une émulsion de tributyrine. Et même, comme on le verra plus loin, c'est parce que la tributyrine agit sur le sang qu'elle tue l'animal. Mais il n'en est pas moins vrai que la présence dans le torrent circulatoire de gouttelettes insolubles dans le plasma, est un facteur de complication qui manque dans les chocs anaphylactique ou peptonique. Ces deux états sont analogues chez l'oiseau à ce qu'ils sont chez le chien. Ils s'accompagnent aussi d'incoagulabilité du sang et d'une chute de la pression artérielle d'origine périphérique. Mais l'oiseau est un animal très résistant au choc. Chez lui, la chute de pression artérielle dans les chocs peptonique ou anaphylactique n'est pas aussi profonde que celle du chien ; elle est beaucoup moins durable. Les accidents sont légers et se dissipent rapidement et complètement. Dans de nombreuses expériences d'administration de peptone à des oiseaux normaux ou d'un anaphylactogène soluble (lait écrémé) à des oiseaux préparés, jamais je n'ai pu produire un choc mortel ou même grave. Au contraire, l'émulsion de tributyrine tue à coup sûr. Elle frappe le bulbe, ce que ne font chez aucune espèce animale ni la peptone ni les anaphylactogènes, au moins ceux qui ne sont pas toxiques par eux mêmes.

La mort est donc un accident surajouté, qui n'appartient pas à la symptomatologie habituelle du choc chez l'oiseau. Elle est, comme il a été dit, d'origine purement mécanique.

Il était utile d'insister sur ce point, parce que dans les dernières années se sont multipliées les expériences d'injection dans les veines de l'animal vivant de suspensions de particules insolubles (kaolin, gélose, sulfate de baryum, etc...). On a observé à leur suite des accidents divers, souvent mortels. Il est certain que les réactions humérales qui font suite à ces injections, sont analogues à celles du choc anaphy-

lactique. Mais il est vraisemblable qu'un certain nombre des accidents décrits, notamment les chutes mortelles de la pression artérielle, doivent s'expliquer par des oblitérations vasculaires au niveau des centres nerveux ou ailleurs ⁽¹⁾.

Cette réserve faite, il convient d'examiner un autre point, celui des rapports qui peuvent exister entre les réactions humorales et ces accidents de nature mécanique. A l'encontre de ce que l'on pourrait penser, on n'obtient pas ces derniers à volonté, à la seule condition de mettre en suspension dans le plasma un solide ou un liquide insoluble. Sans avoir fait de recherches systématiques sur ce point, j'ai cependant eu l'occasion d'injecter deux autres liquides insolubles dans le plasma : une paraffine liquide médicinale, purifiée par distillation dans le vide, et une huile d'olives de bonne qualité, de réaction neutre au tournesol. Ces huiles furent administrées en plus forte quantité que la tributyrine. Celle-ci tue à coup sûr, quand on en injecte à la seringue 2 cc. d'une émulsion totale à 10 % faite avec du plasma d'oiseau par kilogramme d'animal. L'huile de vaseline et l'huile d'olives furent données, en émulsion à 10 % dans du plasma, à raison de 5 cc. d'émulsion par kilogramme.

Avec l'huile de vaseline, cette injection fut de nul effet et du côté du sang et du côté des différents organes. L'animal ne réagit d'aucune façon, au moins dans les heures qui suivent l'intervention. L'observation ultérieure ne fut pas faite. Ce résultat négatif doit être rapproché du fait que l'huile de vaseline employée ne se mélangeait pas du tout au plasma. Même après une forte agitation, il n'existait aucune tendance à l'émulsion, les deux liquides se séparaient complètement dès que l'agitation cessait. Aussi n'existait-il aucune influence coagulante *in vitro* de l'huile de vaseline sur le plasma d'oiseau.

Avec l'huile d'olives, il fut fait deux essais, l'échantillon d'huile étant le même ; les plasmas, différents. Dans les deux cas, le mélange fut très imparfait, l'huile tendant à se collecter rapidement au-dessus du plasma dès qu'on arrêtait l'agitation du mélange. Seulement dans le premier cas, les gouttelettes d'huile étaient agglutinées entre elles en des flocons d'aspect fibrineux, dus manifestement à un début

⁽¹⁾ Voir plusieurs articles de J. HANZLIK et HOWARD T. CARSNER dans *Investigations of the therapeutic research committee of the council of pharmacy and chemistry of the American medical association*. Volume IX, 1920.

de coagulation du plasma à la surface des gouttelettes d'huile. Dans le second cas, cette agglutination faisait complètement défaut.

L'injection du premier mélange tua l'animal par chute immédiate de la pression artérielle, arrêt de la respiration et convulsions. Le sang recueilli à l'artère pulmonaire ne se coagula qu'après 24 heures. Le résultat se superpose à ceux que donne une émulsion totale de tributyrine. Le second mélange ne produisit qu'une chute faible et transitoire de la pression artérielle et un allongement modéré du temps de coagulation : un échantillon de sang pris avant l'injection se coagulait en 2 h. 30 m. ; un autre, prélevé après l'injection, se coagulait en 6 heures.

Les trois liquides non miscibles, vaseline, huile d'olive, tributyrine, sont donc très différemment supportés en injection intraveineuse par l'oiseau. Aux doses employées, le premier est inoffensif, le dernier est toujours mortel, le second se place entre les deux ⁽¹⁾. La toxicité plus grande de la tributyrine n'est pas due à sa très faible solubilité dans le plasma, ainsi qu'il a été montré. Elle n'est pas due davantage au volume plus considérable des gouttelettes en suspension dans le plasma. L'émulsion totale de tributyrine est certes incomplète ; elle contient des gouttelettes volumineuses, mais elle est fortement dépassée à cet égard par les émulsions beaucoup plus imparfaites encore d'huile de vaseline et d'huile d'olives.

Si le volume des gouttelettes était le facteur déterminant de la toxicité, ce serait la vaseline liquide qui devrait être classée au premier rang, la tributyrine au dernier, à l'inverse de ce que montre l'expérience.

Un liquide non miscible avec le plasma n'est donc pas dangereux (aux doses indiquées) du seul fait de son insolubilité. Il faut qu'un autre facteur intervienne, qui nous est clairement indiqué par l'expérience. On a vu que la vaseline est sans aucune influence sur la coagulation du plasma, tandis que la tributyrine le coagule assez facilement, au moins au contact immédiat de ses gouttelettes. L'huile d'olives se place ici aussi en situation intermédiaire. Pour elle, comme pour la tributyrine, il s'agit d'une action de contact, la coagulation

⁽¹⁾ En 1918, LEMOIGNIC et GAUTRELET ont publié les résultats d'injections d'huile d'œillette dans les veines du chien à la dose de 2 cc. par kilogramme, sans trouble (*C. R. Acad. Sc.* 1918 (LXVI, p. 312).

pouvant d'ailleurs rester localisée pendant un temps plus ou moins long à la surface des gouttelettes et n'envahir que plus ou moins longtemps après la masse entière du plasma. Ces conditions étaient réalisées dans une des deux expériences sur l'animal vivant. Le plasma avait commencé de se coaguler à la surface des gouttelettes d'huile qui s'étaient agglutinées en flocons fibrineux. Ce sont ces flocons fibrineux qui ont tué l'animal, bien plutôt que les gouttelettes d'huile qui en occupaient le centre. La fibrine de par sa très grande viscosité a beaucoup plus de tendance à s'accoler aux parois vasculaires qu'une gouttelette liquide. Alors que celle-ci peut se déplacer par l'effet du courant sanguin ou des réactions motrices de la paroi, la particule fibrineuse est rapidement fixée par adhésion, seule ou agglutinée à d'autres particules. Si elle est assez volumineuse pour boucher un vaisseau (artériole, capillaire), l'oblitération est définitive. Au point de vue du danger d'embolie, le volume des particules suspendue dans le sang est donc bien moins à considérer que leur mobilité, et leur mobilité dépend de leurs rapports avec le plasma. Les particules sont-elles thromboplastiques, c'est-à-dire capables de déterminer une apposition de fibrine à leur contact, le danger d'embolie existe. Cette interprétation permet de comprendre pourquoi les injections de ceux des liquides non miscibles, qui sont capables de tuer l'oiseau, rendent le sang circulant moins coagulable (tributyryne), tandis que ceux qui sont bien supportés, n'exercent aucune action sur la coagulabilité du sang circulant (huile de vaseline). La diminution de la coagulabilité est la mesure de l'importance de la défibrination, c'est-à-dire de la quantité de fibrine fixée à la surface des gouttelettes liquides.

En résumé, c'est parce qu'elle est thromboplastique que la tributyrine est plus toxique pour l'organisme vivant que l'huile d'olives et surtout que l'huile de vaseline. Toutes les gouttelettes de tributyrine qui résultent de l'éparpillement du liquide dans le plasma, s'entourent d'une pellicule de fibrine. Les gouttelettes sont-elles plus volumineuses qu'une hématie et nombreuses, elles iront oblitérer en quelques secondes de nombreux vaisseaux du poumon, du cœur, des centres nerveux. Des graves désordres en résulteront dans le fonctionnement de ces organes et la mort pourra s'en suivre. Ce danger immédiat sera évité, si l'émulsion ne contient que des gouttelettes de faibles dimensions, inférieures à celle du globule rouge, à la condition que l'émulsion vienne d'être préparée et que les progrès de la

coagulation au sein de l'émulsion n'ait pas encore produit l'agglutination des gouttelettes.

Ces fines gouttelettes, enveloppées d'une couche ultra-microscopique de fibrine, ne restent pas longtemps dans le sang circulant. Là où la vitesse du courant est la plus faible, c'est-à-dire au niveau des aires capillaires, elles s'accrochent aux cellules endothéliales et sont ensuite englobées par celles-ci. Suivant la nature chimique des particules et aussi suivant leur sensibilité propre, les cellules endothéliales réagiront à cet accrochement par une modification plus ou moins importante de leur tonus.

Si le tonus est fortement diminué, et nombreux les capillaires touchés, on pourra voir se produire le véritable équivalent du choc peptonique du chien, c'est-à-dire une chute profonde de la pression artérielle par paralysie vasculaire périphérique. C'est ce que l'on observe chez le coq avec les émulsions fines de chloroforme dans le plasma ou une solution gommeuse. Les émulsions fines de tributyrine sont incapables de produire ce choc véritable chez l'oiseau, peut-être parce qu'il est impossible de se préparer des émulsions assez denses de tributyrine (qui ne contiennent que des gouttelettes fines), peut-être aussi parce que la tributyrine est une substance peu ou pas toxique par elle-même ⁽¹⁾. Mais si par un moyen quelconque on arrivait à enrichir suffisamment les émulsions fines de tributyrine, il est possible qu'on obtiendrait avec elles un choc véritable. Peut-être arriverait-on au même résultat en administrant une émulsion inefficace pour l'oiseau à un animal plus sensible, comme le chien.

L'explication des accidents provoqués par les émulsions de liquide gras peut être étendue à toutes les substances insolubles, liquides ou solides, mises en suspension dans le plasma et injectées dans le torrent circulatoire. Quand on fait des expériences de l'espèce, il conviendrait de rechercher toujours, par des expériences *in vitro*, quelles

(1) La tributyrine n'est d'ailleurs pas, comme ses homologues supérieurs, les graisses naturelles, une substance tout à fait indifférente. Injectée pure, dans le tissu sous-cutané, elle produit chez l'oiseau un œdème local considérable avec ecchymoses. Mélangée au sang complet *in vitro* et même *in vivo*, elle exerce une influence méthémoglobinisante lente, sans hémolyse. Son passage à l'état d'émulsion imparfaite dans les capillaires du poumon, après une injection intra-veineuse, peut provoquer une dyspnée considérable, accompagnée parfois de cris, qui est due à une excitation des fibres sensibles du pneumogastrique. Elle se répète à chaque injection ; elle est complètement supprimée par la section des deux nerfs pneumogastriques au cou.

sont les altérations que subit le plasma au contact des substances insolubles. Car celles-ci peuvent agir ou en altérant le liquide humoral ou par une simple action mécanique, ou par la combinaison des deux effets. Quand on peut exclure l'altération humorale ou quand cette altération bien qu'existante, n'a pas rendu le plasma toxique, les accidents provoqués par l'injection du composé insoluble sont toujours d'origine mécanique.

Il en est ainsi avec le phosphate tricalcique gélatineux. J'ai provoqué la mort de deux coqs au milieu de symptômes identiques à ceux qui font suite à l'administration de l'émulsion grossière de tributyrine, en leur injectant dans une jugulaire une très faible quantité de phosphate tricalcique mise en suspension dans du liquide physiologique (le résultat eût été le même avec du plasma). Le sang était, comme de règle, incoagulable.

Le phosphate tricalcique est doué d'affinité pour les substances mères de la thrombine, particulièrement la thrombozyme. Il les coagule à sa surface. C'est ce qui le rend toxique, parce que ces flocons fibrineux, dont il est le centre, obstruent les vaisseaux. Il est incapable, comme on le sait et comme je l'ai vérifié chez l'oiseau, de rendre le plasma toxique : le plasma après avoir été digéré à son contact et débarrassé complètement du composé calcique insoluble par centrifugation, est tout à fait inoffensif. Tous les sels insolubles des métaux alcalino-terreux et terreux de caractère neutre ou faiblement alcalin, tels que sulfate de baryum, fluorure de calcium, hydrate d'alumine, carbonate de magnésie, etc., se comportent à cet égard comme le phosphate tricalcique. Toutes ces substances ne peuvent tuer, quand on les injecte elles-mêmes dans les veines, que par action mécanique. Jamais elles ne rendent le plasma (ou le sérum) toxique.

Mais d'autres substances sont capables de rendre le plasma toxique par lui-même; ce sont celles que FRIEDBERGER et les auteurs qui l'ont suivi, ont signalées comme productrices d'anaphylatoxine. La genèse d'une anaphylatoxine ne reconnaît probablement pas un mécanisme unique ; il n'en sera pas parlé dans ce mémoire.

La dépendance qui existe entre l'action thromboplastique exercée par des particules insolubles suspendues dans le plasma et leur tendance à oblitérer les vaisseaux n'est pas le seul point qui mérite d'être examiné ici. Les mêmes considérations sont applicables à l'étude d'un problème qui a intéressé particulièrement les bactériologistes, à savoir le plus ou moins de tendance des microbes injectés

lans le torrent circulatoire à se sédimenter ou à rester en circulation. Plusieurs auteurs, C. G. BULL, GOVAERTS et DELREZ ⁽¹⁾, LE FEVRE DE ARRIC ⁽¹⁾, ROSKAM ⁽¹⁾, lui ont récemment apporté d'intéressantes contributions. GOVAERTS, auquel on doit une analyse très soignée du phénomène, a mis en relief dans ses premières publications que la disparition des microbes injectés dans le torrent circulatoire est consécutive à leur accollement à des amas de plaquettes agglutinées. Plus tard, l'attention de l'auteur s'est portée vers le rôle du plasma ; il a prouvé que l'accollement des microbes aux plaquettes est conditionné par leur agglutination préalable par le plasma (ou sérum). Ultérieurement, ROSKAM a montré que des plaquettes qui ont été soumises à une température de 56°, s'accollent aux microbes aussi bien que les plaquettes normales. En réalité donc, la condition indispensable pour que les plaquettes s'agglutinent aux microbes, c'est que ces derniers subissent au préalable une imprégnation par le plasma. Certaines races microbiennes virulentes ne subissent pas cette imprégnation, ce sont celles qui produisent les affections septicémiques ; d'autres la subissent et sont éliminées du torrent circulatoire. Interprétés dans la théorie de la coagulation du sang que j'ai défendue, ces faits peuvent être énoncés comme suit : les microbes non virulents sont thromboplastiques pour le plasma de l'espèce animale considérée, les microbes virulents ne sont pas thromboplastiques. C'est-à-dire que les microbes virulents se comportent comme si leur surface était d'huile de paraffine, tandis que les non virulents ont une surface dont les rapports avec le plasma sont ceux des gouttelettes de tributyrine. Au contact des derniers se produit une coagulation pariétale qui les couvre d'une couche ultra-microscopique de fibrine. Leur agglutination réciproque est la conséquence de cette coagulation.

Elle est identique en apparence et en nature à l'agglutination des gouttelettes de tributyrine par le plasma. Mais on sait depuis toujours que lorsque les plaquettes sont présentes dans un plasma qui dépose de la fibrine sur la paroi du vase qui le contient ou sur des particules en suspension, les plaquettes s'accollent à la paroi ou aux particules. C'est par ce mécanisme que se forment les thrombi pariétaux dans les vaisseaux enflammés et que les plaquettes bouchent

⁽¹⁾ Travaux parus dans les comptes rendus de la *Société belge de Biologie*, années 1920, 1921, 1922.

les plaies vasculaires ; c'est à lui que sont dues la leucopénie et la disparition des plaquettes du sang circulant après une injection intra-veineuse de peptone.

Dans tous ces états, la coagulation intéresse d'abord le plasma à l'encontre de ce que soutiennent la plupart des auteurs. Les plaquettes ne s'accrochent aux parois et aux microbes que consécutivement à une coagulation préalable du plasma. L'intervention des plaquettes est passive ; des plaquettes chauffées à 56° s'accrochent aussi bien que des plaquettes normales ; des deux éléments, le plasma, solution colloïdale et la plaquette, élément figuré, c'est le premier qui est le plus sensible au moindre contact avec une surface étrangère et qui réagit habituellement par une coagulation. Les plaquettes interviennent alors, s'accrochent à la membrane ultra-microscopique de fibrine et rendent ainsi sa présence manifeste. Elles sont non des initiateurs mais des indicateurs et des renforceurs de la coagulation.

Injectons de crème de lait

Étant donné l'impossibilité d'émulsionner certaines huiles d'origine végétale dans le plasma d'oiseau, il était indiqué de recourir, pour mieux étudier l'action d'une émulsion de substance grasse non toxique, à celle que nous offre la nature sous la forme de lait. Du lait pur, venant d'être traité, était conservé pendant quelques heures à la glacière dans un tube à essai. Après ce temps, la crème était montée à la surface du liquide. Elle était légèrement alcaline au papier de tournesol. Elle formait une émulsion très homogène au microscope, extrêmement riche en globules. La teneur en graisse ne fut pas déterminée, comme étant sans intérêt.

Cette crème de lait est un agent thromboplastique assez actif. Mélangé dans la proportion de 1/5 à 1/10 en volume au sang d'oiseau au sortir de l'artère, elle le coagule en quelques minutes.

Elle accélère également la prise en caillot du plasma pur, à un moindre degré que celle du sang, mais d'une façon très marquée pour la plupart des plasmas, ceux-ci étant d'autant plus sensibles à l'action coagulante de la crème de lait qu'ils sont naturellement moins stables. Dans le lait frais, alcalin, le facteur thromboplastique est la graisse émulsionnée. Le lait écrémé obtenu par centrifugation et filtration à 0° n'exerce qu'une influence coagulante très faible ou nulle

sur le sang et le plasma d'oiseau. Il est d'ailleurs probable que la solution de caséine revêt chaque globule de graisse d'une mince pellicule d'une solution concentrée de caséine, dont l'action est difficile à distinguer de celle du globulin graisseux lui-même. Mais la nature chimique de la substance injectée est d'intérêt secondaire dans ces expériences. Que la surface du globulin soit de graisse ou de caséine, peu importe. Ce qu'il convient d'étudier ce sont les rapports de cette surface avec les colloïdes du plasma.

L'injection intraveineuse de crème de lait à l'oiseau n'est pas suivie du côté de la pression artérielle de la réaction violente et soudaine qui caractérise l'action des émulsions épaisses de tributyrine. Ce qui est attribuable à ce qu'elle est beaucoup plus homogène et constituée de globules non agglutinés, dont les dimensions sont inférieures au diamètre des capillaires.

Il se produit cependant une chute de la pression artérielle, mais elle est faible et tardive. Elle n'apparaît pas pendant l'injection, mais seulement dans les minutes qui suivent. La coagulation du sang est également influencée. Le sang recueilli après l'injection se coagule avec un grand retard au contact du verre. Ces effets sur l'animal vivant sont attribuables aux globulins de graisse émulsionnés, ainsi qu'en font foi les résultats négatifs de l'injection de lait débarrassé de sa graisse par plusieurs centrifugations successives à grande vitesse.

Expérience XIII (30 juin 1921). — Coq de 785 grammes à jeun depuis 24 heures.

A 17 h. 25, prise de sang, coagulé à 18 h. 15.

A 17 h. 45, la pression artérielle est de 13 cm. de mercure. Injecté dans une veine jugulaire, de 17 h. 45 à 17 h. 46, 4 cc. de lait écrémé. La pression s'élève légèrement pendant l'injection. Elle est de 13.5 cm. à 17 h. 46 ; de 13.3 cm. à 17 h. 48 ; de 13.2 cm. à 17 h. 50 ; de 13.2 cm. à 17 h. 52.

A 17 h. 55, prise de sang, coagulé à 19 h. 40. Cette prise de sang fait tomber la pression artérielle qui est de 12.3 cm. à 18 h. 1. De 18 h. 1 à 18 h. 2 injecté 4 cc. de la crème du même lait. Pendant l'injection, la pression artérielle s'élève très légèrement. Elle est de 12.6 cm. à 18 h. 2. Ultérieurement elle présente une baisse modérée : à 18 h. 3 de 10.8 cm. ; à 18 h. 4 de 10.1 cm. ; à 18 h. 5 de 9.7 cm. Ultérieurement elle remonte : à 18 h. 6 de 10 cm. ; à 18 h. 8 de 10.6 cm. ; à 18 h. 13 de 11.1 cm.

Un échantillon de sang pris à 18 h. 11 est tout à fait fluide à 22 heures, coagulé le lendemain.

D'autres expériences donnèrent les mêmes résultats. A raison de l'innocuité des injections de lait, beaucoup mieux supportés que ceux de tributyrine, il était souhaitable de les essayer chez l'animal sans foie.

Ce dernier supporte mieux l'injection de crème de lait que l'injection de sérum chloroformique, parce que la crème de lait ne provoque jamais, ni chez l'animal intact, ni chez l'animal sans foie, de thrombose cardiaque ou vasculaire. Mais il arrive que l'injection de crème de lait tue l'animal sans foie, probablement par suite d'une chute de la pression artérielle, plus marquée que celle qui survient chez l'animal intact.

Une autre différence entre les deux espèces d'animaux, c'est que ceux qui ont subi l'ablation du foie mettent beaucoup moins rapidement en réserve la graisse qu'on leur injecte. Alors qu'un animal normal peut fixer dans ses organes en un temps relativement court (15 à 20 minutes) toute la graisse de 5 cc. de crème par kilogramme d'animal, il n'en est pas de même pour l'animal sans foie. Souvent une heure après l'injection de cette quantité, le plasma est encore lactescent, bien qu'à un degré moindre qu'immédiatement après l'injection. Cette constatation tend à faire admettre que les globulins de graisse en circulation, qu'ils proviennent d'une injection intraveineuse ou des chylifères intestinaux, sont fixés principalement par le foie. J'avais fait en 1904 des constatations analogues chez le chien sans foie. ⁽¹⁾

L'oiseau dont le foie a été extirpé, présente, après injection de crème de lait, des modifications de la coagulation du sang absolument analogues à celles de l'animal intact soumis au même traitement. Le sang reste fluide au contact du verre, pendant de longues heures. Il n'est d'habitude coagulé que le lendemain ou le surlendemain.

Le sang et le plasma subissent à un moindre degré l'influence coagulante des agents thromboplastiques, notamment de la crème de lait, ainsi qu'en fait foi l'expérience suivante.

Expérience XIV (19 juillet 1921). — Coq de 1160 grammes à jeun depuis 24 heures.

A 11 h. 49, prise de différents échantillons de sang. L'un d'eux en tube flambé est coagulé à 13 h. 10. Un autre de 1.4 cc. recueilli dans une

⁽¹⁾ P. NOLF. — Des modifications de la coagulation du sang chez le chien après extirpation du foie *Arch. intern. de Physiol.*, 1905, III, 1-43.

Solution de fibrinogène	Solution d'oxalate sodique 1 %	Solution isotonique de chlorure sodique	Plasma normal oxalaté	Plasma oxalaté après l'injection de la crème de lait	Solution de thrombine	RÉSULTATS
0.5 cc.	0.5 cc.	0.5 cc.	0.5 cc.	0.15 cc.	Caillot après 16 minutes.	
0.5	0.5	—	—	0.05	Caillot après 11 minutes.	
0.5	0.5	—	—	—	Caillot incomplet après 6 heures ; complet le lendemain.	
—	—	0.5 cc.	0.5 cc.	0.15	Caillot après 3 h. 30 minutes.	
—	—	0.5	0.5	0.05	Caillot après 5 h. 30 minutes.	
—	—	0.5	0.5	—	Fluide après 6 h. ; caillot le lendem.	
0.1 cc.	0.1 cc.	0.2 cc.	0.5 cc.	—	0.1 cc	Fluide indéfiniment.
0.1	0.1	0.4	0.3	—	0.1	Idem.
0.1	0.1	0.6	0.1	—	0.1	Idem.
0.1	0.1	0.65	0.05	—	0.1	Flocon fibreux unique après 24 heures.
0.1	0.1	0.67	0.03	—	0.1	Léger voile fibreux après 24 heures.
0.1	0.1	0.69	0.01	—	0.1	Voile après 2 h. ; caillot mou le lendemain.
0.1	0.1	0.7	0.003	—	0.1	Caillot mou après 24 minutes.
0.1	0.1	0.7	0.001	—	0.1	Caillot ferme après 24 minutes.
0.1	0.1	0.2	—	0.5 cc.	0.1	Fluide indéfiniment.
0.1	0.1	0.4	—	0.3	0.1	Idem.
0.1	0.1	0.6	—	0.1	0.1	Idem.
0.1	0.1	0.65	—	0.05	0.1	Quelques petits flocons après 24 heures.
0.1	0.1	0.67	—	0.03	0.1	Léger voile après 24 heures.
0.1	0.1	0.69	—	0.01	0.1	Caillot mou après 2 heures.
0.1	0.1	0.7	—	0.003	0.1	Caillot mou après 24 minutes.
0.1	0.1	0.7	—	0.001	0.1	Caillot ferme après 24 minutes.
0.1	0.1	0.7	—	—	0.1	Caillot ferme après 24 minutes.

SOLUTION		RÉSULTATS			
Solution de fibrine	Solution d'oxalate sodique à 1 %	Solution isotonique de chlorure sodique	Sérum chloroformique normal après 1 heure d'action du chloroforme à 32° (chloroforme évaporé)	Sérum chloroformique du plasma après l'injection de la crème de lait	
0.1 cc.	0.1 cc.	0.7 cc.	0.1 cc	—	Caillot après 4 minutes, redissous après 3 jours.
0.1	0.1	0.8	0.01	—	Caillot après 9 minutes, redissous après 3 jours.
0.1	0.1	0.8	0.003	—	Caillot après 14 min., incomplètement. redissous ap. 3 jours
0.1	0.1	0.8	0.001	—	Caillot après 27 minutes, redissous après 3 jours.
0.1	0.1	0.8	0.0003	—	Voile après 2 h. 25 min., caillot ferme le lendemain, redissous après 3 jours.
0.1	0.1	0.8	0.0001	—	Voile après 7 heures, caillot mou le lendemain, redissous après 3 jours.
0.1	0.1	0.7	—	0.1 cc.	Caillot après 3 minutes, redissous le lendemain.
0.1	0.1	0.8	—	0.01	Caillot après 11 minutes, redissous le lendemain.
0.1	0.1	0.8	—	0.003	Caillot après 14 minutes, redissous après 3 jours.
0.1	0.1	0.8	—	0.001	Caillot après 20 minutes, redissous après 3 jours.
0.1	0.1	0.8	—	0.0003	Voile après 1 heure ; caillot après 3 h. 20 min., redissous après 3 jours.
0.1	0.1	0.8	—	0.0001	Voile après 3 h. 20 min., caillot après 7 heures, redissous après 3 jours.

éprouvette qui tenait 0.1 cc. de crème de lait, est coagulé à 11 h. 54. Quelques centimètres cubes recueillis en tube flambé sont soumis à la centrifugation. Le plasma séparé sert à différents essais.

On extirpe le foie sans hémorragie. L'animal est en excellent état. De 12 h. 12 à 12 h. 18, on lui injecte 6 cc. de crème de lait.

On le saigne à nouveau à 12 h. 28.

Un échantillon de sang pur est tout-à-fait fluide à 19 h., coagulé le lendemain.

Un autre échantillon de 1.4 cc. reçu à 12 h. 28 dans 0.1 cc. de crème est coagulé à 12 h. 40. Ce qui reste est soumis à la centrifugation et le plasma utilisé dans différents essais.

Dans un essai, on compare l'action coagulante de la crème de lait sur le plasma normal et le plasma après l'injection de crème.

On voit se reproduire ici, à l'occasion des injections de crème de lait, une constatation faite pour le sérum chloroformique : la suppression du foie n'influence que très peu l'effet de ces injections sur la coagulation du sang. Le sang de l'animal injecté de lait est plus stable que le sang normal pour les mêmes raisons que le sang de l'animal injecté de sérum chloroformique. Il est moins coagulable, parce qu'il a subi dans les territoires capillaires une défibrination partielle. Cette défibrination se faisant dans tous les organes, il est de peu d'importance que le foie existe ou n'existe pas. En l'absence du viscère hépatique, la défibrination paraît se faire aussi bien qu'en sa présence.

Mais s'il n'existe pas de différences entre la réaction de l'animal intact et celle de l'animal sans foie auxquels on injecte de la crème de lait, il y en a d'assez sensibles chez l'animal sans foie suivant qu'on lui administre de la crème de lait ou du sérum chloroformique.

Dans les deux cas, le sang a perdu en partie sa coagulabilité ; mais après l'injection de crème de lait, il reste plus coagulable qu'après l'administration de sérum chloroformique. La cause de cette différence doit être cherchée dans la composition du plasma. Si l'on applique à ce liquide les procédés employés précédemment, on constate les faits suivants : l'injection de crème de lait est sans aucune influence sur la teneur du plasma en antithrombosine. Dans toutes les analyses faites chez des animaux avec ou sans foie, injectés de crème de lait, on trouve, avant et après l'injection, la même quantité d'antithrombosine dans le plasma, tandis que la teneur en antithrombosine est diminuée après l'administration de sérum chloroformique.

S'il n'existait que cette seule différence entre les effets de l'injection de sérum chloroformique et ceux de la crème de lait, on devrait

trouver plus de stabilité au plasma de l'animal injecté de crème de lait. Or c'est l'inverse que l'on constate. Il est moins stable que celui de l'animal injecté de sérum chloroformique ; il occupe une situation intermédiaire entre ce dernier et le plasma normal. A cette moindre stabilité correspond d'ailleurs une teneur plus élevée en substances-mères de la thrombine, qui l'explique. Un dosage comparatif par le procédé qui consiste à coaguler le plasma par le chloroforme et à doser la thrombine, ne permet dans aucun cas de trouver une diminution des substances-mères de la thrombine après injection de la crème de lait. Et ceci constitue une seconde différence avec le plasma des animaux injectés de sérum chloroformique. Il ne faudrait cependant pas conclure de là que les substances-mères de la thrombine n'ont subi aucune diminution. Ainsi qu'il a été remarqué, le plasma et le sang de l'oiseau sont des liquides naturellement très stables, par conséquent plus sensibles que le plasma des mammifères à une très légère soustraction des principes coagulants.

Les analogies sont tellement grandes entre les effets de l'administration de la crème de lait et du sérum chloroformique au degré près, que l'on est en droit d'étendre aux deux les conclusions tirées de l'examen du second de ces états.

D'ailleurs pour expliquer la diminution très nette de l'action coagulante des substances thromboplastiques, telles que la céphaline, la crème de lait, etc., sur le plasma des animaux injectés de crème de lait, l'hypothèse la plus satisfaisante, en présence de l'invariabilité de la teneur en antithrombosine, consiste à admettre une diminution ou une altération des substances-mères de la thrombine. Et comme il n'y a aucune raison qui plaide en faveur de l'altération, c'est la diminution qui est la plus plausible. Seulement il convient peut-être d'introduire ici une hypothèse auxiliaire qui se présente souvent à l'esprit dans l'examen de cas analogues.

Il a été dit qu'il arrive qu'un échantillon de plasma normal d'oiseau qui se coagule tardivement au contact du verre, perde parfois cette coagulabilité spontanée par l'adjonction successive d'oxalate sodique à raison de 10/∞ et de la dose équivalente de chlorure calcique. Le précipité d'oxalate calcique a adsorbé assez des principes coagulants pour faire d'un plasma coagulables pontanément, un plasma qui reste indéfiniment fluide en tube de verre. Le précipité de fluorure calcique exerce la même action plus énergiquement ; et, de même, le précipité de phosphate de calcium, avec plus d'intensité encore.

Mais toutes ces substances, qui dépouillent si facilement un plasma d'une partie de ses principes coagulants, sont impuissantes à les lui enlever complètement, malgré des traitements répétés. On ne peut se défendre de l'impression que parmi les principes coagulables du plasma, certains s'insolubilisent plus facilement que d'autres, qui leur sont équivalents en tout, à la solubilité près.

Il y a longtemps que HAMMARSTEN constatait qu'un sérum débarrassé de ses globulines par le sulfate magnésique contient encore de la thrombine. Et cependant le précipité des globulines en est également richement pourvu. On pourrait conclure que la thrombine est une albumine, dont une partie est entraînée par le précipité des globulines et inséparable de celles-ci. Mais il y a une autre explication, c'est d'admettre qu'il existe deux variétés de thrombine : une première, qui a les caractères de solubilité de la globuline, et une seconde, qui se comporte en solution comme les albumines. Je serais tenté d'étendre cette hypothèse à la plus caractéristique des substances-mères de la thrombine, la thrombozyme. Certains faits plaident en faveur de cette manière de voir :

Quand on fait passer un courant d'anhydride carbonique dans une dilution à 1/5 ou à 1/10 de plasma oxalaté de mammifère en eau distillée, on obtient un précipité de globuline qui, remis en solution, fournit un liquide spontanément coagulable. La fraction albumine est également coagulable, après avoir été pourvue de la quantité suffisante de chlorure sodique et de chlorure de calcium. Ces deux liquides contiennent donc l'un et l'autre de la thrombozyme. Mais on démontre facilement (en tenant compte de la dilution) que la fraction globuline est plus facilement coagulable que le plasma original et surtout que la fraction albumine. Ces faits sont susceptibles de plusieurs explications dans lesquelles il faut faire la part de l'antithrombosine, localisée principalement dans la fraction albumine. Mais la présence en quantité notable de la thrombozyme dans les deux fractions s'explique le plus simplement en admettant qu'il y a une thrombozyme globuline et une thrombozyme albumine. S'il en est ainsi, on conçoit que la coagulation d'un plasma doive commencer par l'insolubilisation de la thrombozyme globuline et que celle-ci favorise l'insolubilisation ultérieure de la thrombozyme albumine, quand les produits de la coagulation débutante (thrombine, fibrine) ne sont pas enlevés au milieu qui se coagule. Que par un moyen quelconque, on dépouille un plasma de sa thrombozyme

globuline tout en lui laissant sa thrombozyme albumine, on augmentera sa stabilité dans une mesure très considérable, hors de proportion avec la quantité de thrombozyme soustraite.

Peut-être est-ce sous la forme de globuline que la thrombozyme est sécrétée, la forme albumine dérivant de la première par une lente transformation spontanée dans le liquide humoral. Ceci aiderait à comprendre pourquoi les plasmas et les lymphes se stabilisent spontanément par la conservation hors de l'organisme et dans l'organisme (anciens transsudats). La coagulabilité normale du plasma circulant serait entretenue par l'apport constamment renouvelé de thrombozyme globuline.

La température à 0° exerce également une influence stabilisante sur les plasmas, qui est due en partie, ainsi que WOOLDRIDGE l'a démontré il y a longtemps, à l'insolubilisation d'une substance qu'il appelait A fibrinogène et que j'ai identifiée avec la thrombozyme globuline (1). Or un plasma qui a déposé, après plusieurs jours de conservation à 0°, toute la thrombozyme globuline qu'il peut donner, contient toujours de grandes quantités de thrombozyme, comme le prouve le fait qu'il se coagule sous l'influence du chloroforme et que le sérum contient une grande quantité de thrombine, inférieure cependant à celle qu'on aurait obtenue par l'action du chloroforme sur le plasma normal. Après avoir été conservé à 0° et filtré à cette température, un plasma de mammifère ou d'oiseau répond moins vite à l'action des agents thromboplastiques; il donne, comme il vient d'être dit, moins de thrombine par le chloroforme. C'est-à-dire qu'il se comporte, au degré près, comme les plasmas traités par les précipités d'oxalate, de fluorure, de phosphate calciques, etc... ou que le plasma d'oiseaux ayant reçu une injection intraveineuse de sérum chloroformique de crème de lait, etc...

De sorte que l'explication générale qui convient à tous ces faits, c'est que ces divers traitements ont pour effet de soustraire au plasma une partie de sa thrombozyme.

Dans le cas d'une insolubilisation partielle à 0°, il est difficile d'admettre que ce phénomène soit l'équivalent de la cristallisation d'une solution saturée à une température élevée et refroidie ensuite. En effet, la thrombozyme qui se précipite à 0°, possède tous les caractères d'une globuline et même d'une euglobuline. Redissoute à 37°

(1) P. NOLF. De l'obtention de la thrombozyme à l'état de pureté. *C. R. Soc. biol.*, 1921, LXXXIV, 840.

dans une solution saline isotonique oxalatée, elle se précipite à nouveau par le refroidissement pour ainsi dire sans perte. Elle est donc extrêmement peu soluble dans les solutions salines neutres, au moins à 0°. Il est bien difficile de l'identifier avec la fraction de la thrombozyme qui reste dissoute avec les albumines, lorsqu'un plasma dilué en eau distillée est traité par un courant d'anhydride carbonique.

Tout en reconnaissant qu'à la rigueur il ne serait pas impossible d'expliquer ces faits dans l'hypothèse d'une thrombozyme unique, en invoquant l'influence que pourraient avoir sur ses caractères de solubilité d'autres constituants du plasma et notamment les alcalis et l'antithrombosine, il me semble que c'est se tenir plus près des faits d'admettre qu'il y a des thrombozymes de solubilité différente, certaines se comportant à la façon des euglobulines, d'autres à la façon des albumines et que des unes aux autres existent d'ailleurs tous les intermédiaires, les premières se transformant peut-être dans les secondes. S'il en est ainsi, les injections de sérum chloroformique, de crème de lait, etc., à l'oiseau provoquent l'élimination partielle de la thrombozyme globuline par une coagulation partielle au contact des substances injectées.

Pour terminer l'exposé des observations se rapportant aux injections de crème de lait, il est intéressant de noter que chez l'animal de l'expérience XII, qui reçut une injection de crème de lait après avoir subi l'ablation du foie, le sérum chloroformique provenant du plasma recueilli après l'injection était notablement plus thrombolytique que le sérum de plasma normal. C'est la reproduction, après injection de crème de lait, d'un fait constaté après injection de sérum chloroformique.

Interprétation générale des résultats

Les expériences relatées dans ce mémoire et dans un mémoire précédent, traitant de l'action des injections intraveineuses de sérum chloroformique, permettent de confirmer, de préciser et d'étendre les conclusions que tirait WOOLDRIDGE d'essais analogues faits sur le chien et le lapin. Il injectait à ces animaux un extrait aqueux de thymus ou de ganglions lymphatiques, préparé en laissant macérer l'organe finement broyé dans de l'eau chloroformée pendant 24 heures à froid. Le liquide séparé par centrifugation était fortement acidifié par de l'acide acétique ; le précipité, après lavage à la centrifugeuse, redissous dans une solution à 0.5 % de chlorure sodique faiblement alcalinisée par le carbonate sodique. La solution ainsi

obtenue contient une protéine riche en lécithine que WOOLDRIDGE appelait fibrinogène de tissu. Quand on l'injecte, même en petite quantité au lapin, on tue invariablement l'animal par thrombose cardiaque et vasculaire. Le chien résiste mieux. Des doses moyennes produisent chez lui des thromboses vasculaires qui sont d'habitude limitées au territoire de la veine porte. Le sang recueilli à l'artère est peu enclin à se coaguler spontanément. Il peut rester fluide pendant des heures, parfois une journée entière. Il est d'autant plus stable qu'un plus grand volume de la solution de fibrinogène de tissu a été injecté. Il se solidifie rapidement quand on lui ajoute *in vitro* de la solution de fibrinogène de tissu.

Si la quantité de fibrinogène de tissu injectée est très forte (ce qui le plus souvent tue l'animal), le sang recueilli après l'injection est complètement incoagulable, spontanément et après adjonction de la solution de fibrinogène de tissu. Cette incoagulabilité absolue est liée, ainsi que l'avait très bien vu WOOLDRIDGE, à la disparition de la matière coagulable du plasma, qu'il appelle fibrinogène du plasma. Le plasma a subi une défibrination complète ; de plus il ne contient plus trace du fibrinogène de tissu injecté.

Ainsi donc la substance injectée disparaît du sang circulant en même temps que tout ou partie de la matière coagulable du plasma. WOOLDRIDGE interprète ces faits en disant qu'une interaction s'est produite entre le fibrinogène de tissu et le fibrinogène du plasma. Cette interaction a consommé les deux substances, en donnant de la fibrine : phase positive. A la phase positive succède une phase négative, caractérisée, quand elle est forte, par l'incoagulabilité absolue, par suite de la disparition complète de la matière coagulable du plasma, et, quand elle est faible, par une moindre coagulabilité que WOOLDRIDGE attribuait à une altération de cette matière coagulable.

Le sort de tous les facteurs qui interviennent dans cette réaction chimique, est clairement établi. La coagulation apparaît comme une union par addition de deux substances colloïdales solubles, le fibrinogène de tissu et le fibrinogène de plasma, en une substance insoluble, la fibrine.

Telle qu'elle se passe dans les vaisseaux de l'organisme vivant, dans les conditions expérimentales précitées, la coagulation est un phénomène d'apparence incomparablement plus simple que lorsqu'elle se produit dans le sang extravasé. On comprend que Wool-

DRIDGE ait été séduit par cette clarté et que son explication de la coagulation *in vitro* s'en soit profondément ressentie. Pour lui, la coagulation est un phénomène qui se passe entre des colloïdes et qui les consomme ou les altère ; elle n'est pas un processus dans lequel la thrombine intervient à la façon d'une enzyme, d'un catalyseur. Plus on avance dans la connaissance de la coagulation, et plus ces conceptions fondamentales de WOOLDRIDGE apparaissent comme étant l'expression fidèle de la vérité.

Il convient cependant de remarquer que ce grand physiologiste se trompait quand il refusait au sérum le pouvoir de produire, comme les extraits aqueux d'organes, une coagulation intravasculaire. Cela provient de ce que les sérums qu'il a employés, n'étaient pas assez riches en thrombine. Avec le sérum chloroformique, on obtient chez le mammifère et l'oiseau des résultats comparables à ceux que donne les extraits aqueux.

A vrai dire, la tendance aux coagulations intravasculaires massives est moins marquée chez certains mammifères (chien, lapin) avec le sérum chloroformique, mais c'est là un point d'importance secondaire, puisqu'un même agent, que ce soit l'extrait aqueux ou le sérum, peut produire ou non la thrombose vasculaire massive suivant la rapidité d'injection et la quantité administrée. J'ai déjà eu, il y a de longues années, l'occasion de constater une défibrination complète du sang circulant chez l'animal vivant (chien), sans que le moindre caillot puisse être découvert dans tout l'appareil vasculaire. La preuve de la défibrination était donnée par la disparition complète du fibrinogène du plasma. Les expériences faites sur l'oiseau montrent que dans certaines conditions expérimentales, la même défibrination complète, avec disparition du fibrinogène du plasma, peut être obtenue, sans qu'on puisse déceler la plus petite particule de fibrine dans aucun vaisseau ou la moindre trace de thrombine dans le sang recueilli. Il n'y a rien d'étonnant à ce résultat, quand on compare l'énorme surface de la membrane endothéliale vasculaire à la faible quantité de fibrine qu'est capable de fournir la masse totale du sang.

Pour décider de l'existence ou de l'absence d'une coagulation *in vivo*, l'absence de tout caillot visible est sans signification. La question ne peut être tranchée que par l'examen des qualités du plasma et l'étude de sa composition.

Quand on injecte du sérum chloroformique homologue dans les veines du chien en quantité suffisante, le sang subit, comme il a été

dit, une défibrination complète sans formation de caillot et la thrombine injectée est consommée.

Chez l'oiseau, les suites de l'injection intraveineuse de sérum chloroformique homologue sont identiques à celles de la même intervention chez le chien, à la condition de priver au préalable l'animal d'environ la moitié de son plasma. Dans ces conditions, le sang circulant subit également une défibrination totale, sans thrombose massive, si l'injection est lente, et la thrombine injectée est consommée. Le plasma, après l'injection, est non seulement incoagulable, mais anticoagulant.

Cet essai, le plus simple que l'on puisse faire de coagulation *in vivo*, est très instructif. L'analyse du plasma, après l'injection, permet d'éliminer toute intervention active de l'organisme, notamment tout déversement dans le sang d'un principe anticoagulant. L'extirpation du foie, organe producteur de l'antithrombosine, est d'ailleurs sans aucune influence sur le résultat. Il est donc permis d'affirmer que chez l'oiseau comme chez le mammifère, l'introduction d'un sérum très riche en thrombine provoque la coagulation du sang et que cette coagulation peut consommer, quand les conditions sont favorables, tout le fibrinogène du plasma et toute la thrombine injectée. De plus, le plasma résiduel est anticoagulant.

On sait que lorsqu'un plasma pur se coagule *in vitro* spontanément à la suite de l'adjonction d'un agent thromboplastique quelconque ou de thrombine, le sérum a des qualités diamétralement opposées : il est énergiquement coagulant. Ce pouvoir coagulant est dû à la thrombine qu'il contient. La thrombine représente la fraction des produits de la coagulation qui sont restés en solution. Elle est une fibrine soluble, non saturée de protéines hépatiques, ce qui rend compte de son pouvoir coagulant. Dans la coagulation *in vivo*, il n'apparaît aucune thrombine, peut-être parce que la coagulation étant habituellement incomplète *in vivo*, c'est surtout de la fibrine qui se forme ou bien parce que la thrombine formée est immédiatement fixée par l'endothélium vasculaire, en même temps que la fibrine concrète.

D'ailleurs le sérum issu d'une coagulation spontanée *in vitro* n'est très coagulant que dans les heures qui suivent la prise en caillot. Le conserve-t-on à 0° ou à la température ordinaire, on constate qu'il perd rapidement son pouvoir coagulant (A. SCHMIDT), en même temps qu'il redevient fortement anticoagulant, au moins en milieu

oxalaté (P. NOLF). Le sérum d'une coagulation spontanée *in vitro* est un liquide complexe, dans lequel des facteurs antagonistes s'opposent l'un à l'autre.

Le liquide issu d'une coagulation *in vivo* est d'une composition plus simple : les facteurs favorisant la coagulation lui font défaut, parce que tous les produits, solubles ou insolubles, de la coagulation *in vivo* disparaissent également du milieu liquide. Aussi ce liquide n'est-il pas un sérum mais un plasma.

L'existence d'un pouvoir anticoagulant dans le plasma d'un animal, qui a subi une défibrination totale *in vivo*, n'a rien que de très compréhensible. Un plasma est un liquide riche en protéines solubles qui doivent jouer le rôle de colloïdes protecteurs vis-à-vis des protéines moins solubles. De par cette constitution, il doit exister dans un plasma des obstacles sérieux à la coagulation, qui lui permettent de rester fluide dans les vaisseaux et quelquefois hors des vaisseaux. Qu'une coagulation lui enlève l'ensemble des protéines les plus coagulables, sans produire d'agents coagulants nouveaux, il en résultera nécessairement un liquide anticoagulant.

Telle qu'elle a lieu dans les vaisseaux de l'animal vivant, la coagulation est une réaction chimique d'une étude relativement simple. Les produits de la réaction disparaissent complètement du milieu liquide, ils ne restent pas mélangés à ce qui peut rester de matière coagulable. Pour en suivre le développement, en mesurer l'importance, il suffit d'évaluer la diminution de la matière coagulable du plasma.

L'opération serait tout à fait simple, si cette matière coagulable était unique. Il suffirait de la doser avant et après la coagulation intravasculaire. On connaîtrait, par différence, la quantité de protéine fixée par l'endothélium. Mais il est actuellement bien certain que la matière coagulable du plasma est multiple. On peut isoler à l'état de pureté suffisante une substance qui forme la grosse masse du caillot, le fibrinogène de HAMMARSTEN. On peut également isoler à l'état de pureté une autre substance, la thrombozyme, qui intervient dans la composition de la fibrine. Mélange-t-on une solution de thrombozyme à une solution de fibrinogène en présence de sels de calcium, en proportions variables, il n'en résulte aucune insolubilisation. Pour qu'un caillot se produise, il faut la présence d'une troisième substance, qu'il est impossible d'isoler. On l'introduit sous la forme d'une trace d'un plasma débarrassé de ses globulines. L'adjonction de cette très faible quantité d'albumines plasmatiques

à la solution de fibrinogène pur n'exerce aucun pouvoir coagulant par elle-même ; il faut la présence concomitante de la thrombozyme. La substance inconnue a été appelée thrombogène. Pour former de la fibrine, il faut donc de toute nécessité trois protéines, le fibrinogène, la thrombozyme, le thrombogène. Quand un plasma se coagule *in vitro*, ces trois constituants de la fibrine s'unissent en des complexes dont les uns s'insolubilisent sous la forme de fibrine concrète et les autres restent en solution sous la forme de thrombine. Cette thrombine étant capable de donner de la fibrine par simple union avec le fibrinogène pur de HAMMARSTEN, on peut conclure qu'elle est de la fibrine incomplète dont les affinités pour le fibrinogène n'ont pas pu s'assouvir par défaut de cette substance.

Le plasma contient un grand excédent de thrombozyme et de thrombogène par rapport au fibrinogène. Pour en être convaincu, il suffit de se rappeler que le sérum issu de la coagulation par le chloroforme d'un plasma d'oiseau et de mammifère peut coaguler plusieurs milliers de fois son volume d'une solution de fibrinogène oxalatée. Même après avoir fait une large part aux différences de concentrations du fibrinogène dans la solution et dans le plasma, à la moindre stabilité du fibrinogène dans la solution et à l'intervention possible d'autres facteurs, il n'en reste pas moins que la coagulation complète d'un plasma a fourni un liquide qui peut coaguler un multiple très élevé de la quantité de fibrinogène présente dans ce plasma. En d'autres termes, la fraction de thrombozyme et de thrombogène qui se fixe dans la fibrine issue de la coagulation d'un plasma, est très faible par rapport à la fraction qui est restée en solution dans le sérum sous la forme du complexe thrombine.

Ce point est important, parce qu'il donne un moyen, sinon de mesurer, au moins d'évaluer l'importance de la coagulation partielle qu'a subie le plasma d'oiseau. Puisque la thrombine est le produit le plus abondant (en équivalents, sinon en poids absolu) de la coagulation, qu'elle est toujours en large excès par rapport à la fibrine dans la coagulation complète, il suffira de déterminer la quantité de thrombine qu'un plasma peut donner, quand il se coagule complètement, pour apprécier la richesse de ce plasma en substances-mères de la fibrine et de la thrombine. On détermine aisément cette quantité d'une façon suffisamment exacte par la méthode des dilutions progressives, en employant une solution de fibrinogène oxalatée. D'autre part, le chloroforme fournit un moyen simple de provoquer une coagula-

tion très complète de la plupart des plasmas d'oiseau, même les plus stables.

Cette méthode a été appliquée dans ces recherches. On commence par déterminer la quantité de thrombine que peut donner le plasma normal sous l'influence du chloroforme. On injecte dans les vaisseaux de l'oiseau une substance susceptible de provoquer une coagulation intravasculaire partielle. Un échantillon de plasma recueilli après l'injection est coagulé par le chloroforme. La différence entre les teneurs en thrombine du second sérum chloroformique et du premier mesure l'importance de la coagulation intravasculaire. Cette méthode permet de constater qu'après l'injection de toutes les substances analogues aux solutions de thrombine et aux extraits aqueux d'organes, capables de provoquer des coagulations intravasculaires indiscutables, une partie plus ou moins importante des substances-mères de la thrombine a disparu.

La coagulation intravasculaire, tout comme la coagulation extravasculaire, consomme non seulement le fibrinogène, mais aussi la thrombozyme et le thrombogène du plasma. Mais constatation également intéressante, la richesse en thrombine du second sérum chloroformique ne dépend en aucune manière de la production d'un caillot visible. Par une injection suffisamment lente de l'agent coagulant, on peut éviter celle-ci. L'examen du plasma après l'injection donne néanmoins les mêmes résultats : une forte diminution de la teneur en thrombine de son sérum chloroformique. La coagulation intravasculaire sans caillot visible peut être aussi complète que la thrombose intravasculaire étendue.

Les résultats de cette nouvelle méthode sont donc tout à fait confirmatifs de ceux de l'observation directe du caillot ou de la détermination de la quantité de fibrinogène dans le plasma. Mais la nouvelle méthode a le grand avantage de faire la preuve que dans ces coagulations intravasculaires, les substances-mères de la thrombine disparaissent de la circulation en même temps que le fibrinogène⁽¹⁾. Ce point étant bien établi, on est autorisé à conclure d'une diminution des substances-mères de la thrombine, survenant après l'injection d'une substance thromboplastique, à l'existence d'une coagulation intravasculaire. Partant de là, on pourra encore admettre que cette coagula-

(1) La méthode n'a été essayée que chez l'oiseau. Il est impossible *a priori* de prévoir ce qu'elle donnerait chez le mammifère.

tion a eu lieu même dans les cas où la diminution des substances-mères de la thrombine ne peut pas être mise en évidence par un dosage de la thrombine dans le sérum chloroformique, mais se manifeste seulement par un allongement du temps de coagulation et une moindre sensibilité aux agents thromboplastiques. C'est ce qui se passe après l'injection de crème de lait. Toute augmentation de stabilité du plasma qui n'est pas due à un accroissement de la teneur en antithrombosine, peut être attribuée, chez l'oiseau, à une défibrination partielle de sang circulant ; et elle en est la manifestation la plus sensible.

On passe de la défibrination complète, avec disparition de tout le fibrinogène du plasma (avec ou sans thrombose) à la simple augmentation de la stabilité (sans augmentation de l'antithrombosine) par tous les intermédiaires. Des uns aux autres, il n'y a aucune différence dans l'essence des phénomènes, mais seulement dans l'intensité.

Ainsi se trouve élargi de manière considérable le domaine de la phase négative de WOOLDRIDGE. On arrive à la conclusion que de nombreuses substances (lipoides thromboplastiques, émulsions de tributyrine, peptone, néosalvarsan, etc...) sont capables, comme les agents thromboplastiques forts (sérum chloroformique, extraits aqueux d'organes), de produire chez l'oiseau des modifications du sang, qui se caractérisent essentiellement par une coagulation intravasculaire plus ou moins complète, suivie d'une diminution de la coagulabilité du sang circulant. Hormis les cas d'incoagulabilité par injection d'une substance directement anticoagulante (hirudine, histone) dans les veines, on peut affirmer que toutes les diminutions de coagulabilité observées chez l'animal, après injection intraveineuse des substances les plus diverses, relèvent de ce mécanisme. Pour les caractériser, il convient de dire, avec WOOLDRIDGE, qu'elles expriment la phase négative d'une coagulation intravasculaire plus ou moins complète.

Pour mieux pénétrer dans la connaissance de cette phase négative, il est nécessaire d'examiner d'un peu près certains aspects de la coagulation d'un plasma *in vitro*. Ainsi qu'il a été dit, la fibrine est due à l'union en un complexe colloïdal de trois protéines du plasma, la thrombozyme, le thrombogène et le fibrinogène. Sans elles, il n'y

(¹) La détermination de la teneur du plasma en fibrinogène ne peut être que très approximative, parce qu'il est impossible de séparer le fibrinogène du plasma à l'état de pureté.

pas de fibrine possible ; elles sont les matériaux aux dépens desquels elle se constitue. C'est pourquoi, je les ai appelées les facteurs primordiaux ou essentiels de la coagulation. Tous les plasmas des vertébrés contiennent ces trois facteurs en abondance. Et cependant, certains de ces plasmas, ceux des vertébrés inférieurs et des sauroptiles, ont peu de tendance à se coaguler par eux-mêmes. Le plasma des mammifères lui-même, si instable *in vitro*, reste fluide dans les vaisseaux. Cela prouve qu'il ne suffit pas qu'un plasma contienne les éléments essentiels de la fibrine, pour qu'il se coagule. Il faut en outre que par suite de certaines interventions, les facteurs essentiels qui, dans tous les plasmas *in vivo* et les plasmas stables *in vitro*, n'ont aucune tendance à réagir, sortent de leur état d'indifférence et s'unissent entre eux pour donner de la fibrine et de la thrombine. Les interventions capables de produire ce résultat sont innombrables, depuis le simple contact avec une paroi solide ou des parties solides ou liquides en suspension, jusqu'à l'action coagulante de certains ions, en passant par les molécules dissoutes, cristalloïdes colloïdes. Parmi celles qui ont été étudiées dans ce mémoire, on peut citer le chloroforme, la céphaline, l'émulsion de tributyrine. De l'une à l'autre, aucune ressemblance chimique ; aucune d'entre elles est indispensable, c'est-à-dire qu'aucune ne fait obligatoirement partie de la fibrine. Mais sans leur intervention, la coagulation du plasma d'oiseau n'a pas lieu *in vitro* (à la température ordinaire). Dire qu'elles sont des facteurs accessoires de la coagulation permettrait de supposer que la coagulation peut se faire sans leur intervention, ce qui est exact. Comme les facteurs essentiels, ces substances sont indispensables. Mais alors que toute fibrine se constitue aux dépens de prothrombogène, de thrombogène, de fibrinogène, la coagulation peut être causée soit par le chloroforme, soit par la céphaline ou la tributyrine. Chacun de ces derniers éléments peut prendre la place des autres ; ils sont interchangeables, occasionnels. Aucun ne fait partie obligatoire du complexe fibrine, ce qui les sépare des facteurs primordiaux ; mais sans leur intervention, il n'y a pas de fibrine, parce qu'il n'y a pas de coagulation. En deux mots, pas de fibrine sans les facteurs primordiaux ; pas de coagulation sans les facteurs, comme le chloroforme, la céphaline, la tributyrine, que j'ai appelés pour cette occasion thromboplastiques.

Un grand nombre d'agents thromboplastiques ne sont coagulants, c'est-à-dire ne favorisent l'apparition d'un caillot visible, que dans

certaines limites de concentration. Il en est notamment ainsi pour certains d'entre les plus actifs, notamment les lipoides thromboplastiques. Ajoutés en trop grande quantité à un plasma, ils en retardent la coagulation au lieu de l'accélérer. C'est aussi le cas pour la peptone (peptone de Witte), qui mélangée *in vitro* au sang ou au plasma des mammifères en favorise la prise en caillot à dose faible, l'empêche à dose forte ; de même pour les sels solubles de calcium.

Les conditions de concentration ne sont pas seules à intervenir ; pour certaines substances thromboplastiques, la température joue un rôle prépondérant. WOOLDRIDGE avait déjà observé que la lécithine coagule le plasma peptoné faible à 0°, le laisse tout-à-fait fluide à 37°. J'ai pu renouveler cette observation avec le plasma d'oiseau, au moins en employant des doses fortes de céphaline (mélange des lipoides du cerveau d'oiseau), solubles dans l'éther, insolubles dans l'acétone. Les doses fortes coagulaient le plasma à la température ordinaire, le laissaient fluide à 37°C., résultat d'autant plus remarquable que le plasma pur d'oiseau (qui reste habituellement indéfiniment fluide à la température ordinaire au contact du verre) se coagule régulièrement à 37°.

Telle substance coagule un plasma déterminé, mais est sans action sur un autre. Ces faits se comprennent aisément dans l'hypothèse indiquée. Il est bien établi qu'une même substance cristalloïde peut, suivant son état de concentration, diminuer ou augmenter la stabilité d'une solution colloïdale, à laquelle on l'ajoute.

Quand un milieu complexe, comme le plasma, contient plusieurs colloïdes distincts, doués d'affinité mutuelle, les rapports de ces colloïdes entre eux sont modifiés chaque fois que l'un d'eux change son état de dispersion. A une plus faible dispersion doit correspondre une plus grande tendance à l'union. Que l'un des trois colloïdes s'insolubilise, soit spontanément, soit sous l'influence d'un agent thromboplastique ou de toute autre cause, il entraînera nécessairement une fraction plus ou moins considérable des deux autres.

Si la proportion des colloïdes entraînés est voisine de celle qui existe dans la fibrine normale, le précipité aura les caractères physiques et chimiques de la fibrine. Si la proportion est différente, l'une des substances-mères étant prédominante, le précipité aura

des propriétés intermédiaires entre celles de la fibrine et celles de la substance-mère à l'état de pureté ⁽¹⁾.

Refroidit-on à 0° du plasma peptoné de chien, on voit apparaître un précipité bien étudié par WOOLDRIDGE, composé de petits disques, qui rappellent par leur aspect les plaquettes du sang et qui ont, comme elles, une grande tendance à se fusionner en une masse fibreuse insoluble. Ce précipité est formé pour la plus grande partie de thrombozyme-globuline avec une faible proportion de thrombogène et de fibrinogène. ⁽²⁾.

La considération de ces fibrines incomplètes, nées spontanément dans certains plasmas, est intéressante, parce qu'elle permet de comprendre ce qui se passe lors de l'adjonction de certaines substances thromboplastiques.

La plupart des particules insolubles dans l'eau, chimiquement neutres et de nature organique, telles que brindilles de cellulose, gouttelettes d'alcools supérieurs, de cétones, d'éthers-sels, de graisses neutres, etc., exercent une action thromboplastique incontestable, souvent forte sur le plasma ⁽³⁾. Il en est de même de certains précipités minéraux comme le kaolin et le verre. Le plasma donne de la fibrine d'abord à leur contact, mais la coagulation envahit secondairement la masse du liquide. Il se forme un caillot gélatineux et le sérum contient de la thrombine.

Avec les sels insolubles des métaux alcalino-terreux et terreux, l'apparence du phénomène change complètement. Ajoute-t-on à un plasma du fluorure calcique, du sulfate de baryum, du phosphate tricalcique, de l'hydrate d'alumine, etc., à l'état de division fine, on n'assistera pas à une coagulation en masse du liquide. Pour le fluorure calcique, l'expérience se réalise le mieux en recevant neuf

⁽¹⁾ Le premier précipité obtenu dans un plasma par demi-saturation de chlorure sodique, est du fibrinogène qui a adsorbé de la thrombozyme et du thrombogène. Ce précipité est-il redissous en milieu oxalaté, une nouvelle adjonction de chlorure sodique donnera un fibrinogène plus pur ; mais on n'atteindra jamais la pureté parfaite, quel que soit le nombre des précipitations.

⁽²⁾ Cette composition est celle du premier précipité, né dans le plasma. Si l'on purifie la substance précipitée par redissolution dans une solution saline oxalaté et reprécipitation à 0°, les précipités successifs prennent de plus en plus les caractères de la thrombozyme-globuline pure.

⁽³⁾ Cette action coagulante qui s'exerce suivant la surface de contact du plasma et du corps étranger, s'explique par l'augmentation très considérable de la concentration des colloïdes dissous dans la lame liquide qui est accolée au corps étranger.

volumes de sang (de chien) dans un volume de solution à 3 % de fluorure sodique et en additionnant le plasma fluoré, séparé par centrifugation, de la quantité de chlorure calcique nécessaire à la neutralisation complète du fluorure. Il apparaît un précipité caillé, composé de particules de fluorure calcique, couvertes de fibrine et le liquide surnageant reste longtemps ou indéfiniment fluide. Il est cependant encore coagulable par la thrombine ou les extraits aqueux d'organes.

Si l'on emploie au lieu de fluorure calcique le phosphate tricalcique gélatineux (BORDET et DELANGE) ou l'hydrate d'alumine, il faut préparer ces substances par voie humide et les laver à la solution isotonique de chlorure sodique, jusqu'à neutralité absolue du liquide de lavage. En ajoute-t-on un petit volume d'une suspension épaisse au plasma, les particules minérales s'entourant d'une pellicule de fibrine, ce qui les agglutine en flocons visqueux, mais la coagulation reste confinée à la surface des particules; elle n'envahit pas le milieu liquide et il n'y a pas de thrombine formée. Le liquide qui baigne les particules est un plasma plus stable que le plasma originel. Il est difficilement coagulable; souvent il est anticoagulant. Quelle peut être la cause de cette différence dans les résultats?

L'examen des substances énumérées dans le premier groupe permet de constater que toutes prennent une charge électrique négative au contact de l'eau, soit à raison de leur nature chimique (kaolin ou verre), soit en vertu de la règle suivant laquelle les substances à pouvoir diélectrique plus faible que l'eau se chargent négativement au contact de l'eau.

Il résulte de là que toutes les substances solides ou liquides dont le contact favorise la coagulation en masse du plasma sont électrisées négativement. Il en est de même des substances coagulantes solubles, telles que les extraits aqueux ou alcooliques de tissu. Elles aussi sont électro-négatives. On peut donc dire, de façon générale, que pour être thromboplastique au sens habituel du mot, c'est-à-dire pour produire la prise du plasma en un caillot gélatineux d'où exsude un sérum chargé de thrombine, une substance solide ou liquide, soluble ou insoluble, doit être électro-négative.

Cette règle générale est due à ce que la grande masse des colloïdes qui prennent part à la constitution de la fibrine (les colloïdes hépatiques) sont électro-positifs. Pour que la fibrine normale, constituée

surtout de fibrinogène, puisse se former par l'union à la thrombozyme électro-négative d'un large excédent (pondéral et électrique) de colloïdes hépatiques, il faut que la charge électrique de ces colloïdes soit neutralisée par la charge inverse de l'agent thromboplastique.

Mais les agents thromboplastiques au sens habituel du mot ne sont pas les seules substances capables de diminuer l'état de dispersion de la thrombozyme et par conséquent d'augmenter sa tendance à s'unir aux colloïdes hépatiques. Toute substance, soluble ou insoluble, capable soit par affinité chimique, soit pour une raison physique, de former avec la thrombozyme un complexe insoluble, diminuera la dispersion de la thrombozyme et augmentera sa tendance à s'unir aux colloïdes hépatiques. Elle serait thromboplastique au sens habituel du mot, si outre la propriété précédente, elle possédait un caractère faiblement électro-négatif. Mais si au lieu d'être faiblement électro-négative, elle est chimiquement neutre ou faiblement ⁽¹⁾ électro-positive, l'action qu'elle exercera sur le plasma sera différente de celle des agents thromboplastiques vrais. Elle agira à la manière des composés insolubles alcalino-terreux ou terreux.

Chimiquement, le fluorure calcique est neutre et le phosphate tricalcique alcalin. Ils se comportent cependant de façon analogue à l'égard du plasma, avec cette différence de degré que le phosphate tricalcique adsorbe la thrombozyme de façon plus élective que le fluorure calcique, de sorte que le plasma phosphaté est plus stable que le plasma fluoré et qu'il peut même être anticoagulant. Tous les sels insolubles de calcium se comportent à l'égard du plasma comme s'ils étaient électro-positifs. Cela tient probablement à ce que la thrombozyme, agissant à la façon d'un acide très faible et dissoute dans le plasma à l'état de sel de sodium, forme, par double décomposition de son sel de sodium et du sel calcique insoluble, un composé calcique basique qui prend une charge positive. S'il en est ainsi, un sel neutre insoluble de calcium, mis en suspension dans un plasma, se comportera comme s'il était électro-positif.

Ces précipités calciques étant ou devenant électro-positifs au contact du plasma sont donc incapables de neutraliser les colloïdes hépatiques électro-positifs. Ceux-ci ne pourront s'insolubiliser qu'en très petite quantité à la surface du précipité calcique. Les particules

⁽¹⁾ Si au lieu d'être faiblement électro-positive ou faiblement électro-négative, elle l'est fortement, elle empêchera toute coagulation, car on sait que la coagulation n'est possible qu'aux environs immédiats de la neutralité.

du précipité se couvriront d'un revêtement fibrineux peu important (1^{er} caractère). Ce revêtement est formé d'une fibrine où domine la thrombozyme par rapport aux colloïdes hépatiques. Dans le plasma s'établissent par réciprocité des rapports inverses : la proportion des colloïdes hépatiques par rapport à la thrombozyme y est devenue plus considérable, ce qui entraîne comme résultat très important, une augmentation de la stabilité du plasma. Et ceci nous donne le second caractère de la coagulation, qui s'établit au contact d'un précipité calcique : par le fait de la coagulation, le milieu plasmatique est devenu moins coagulable.

Cette constatation nous permet d'arriver à une formule générale donnant les conditions qui décident de la progression ou de l'arrêt d'une coagulation qui s'amorce au contact de particules insolubles : si l'insolubilisation des colloïdes plasmatiques au contact des particules intéresse dans une plus forte proportion les colloïdes hépatiques que la thrombozyme, la coagulation sera progressive, elle envahira le milieu liquide et le sérum sera coagulant. Au contraire, si l'insolubilisation des colloïdes plasmatiques au contact des particules intéresse dans une plus forte proportion la thrombozyme que les colloïdes hépatiques, la coagulation se limitera à la surface des particules ; au lieu d'un sérum, on obtiendra un plasma plus stable ou même anti-coagulant. Ce qui règle l'importance des insolubilisations respectives de la thrombozyme et des colloïdes hépatiques, c'est la charge électrique des particules insolubles au contact desquelles se fait la coagulation.

Dans un travail antérieur, j'ai dit que la coagulation spontanée d'un plasma pur de mammifère est une autocatalyse qui se crée à elle-même des conditions plus favorables, à mesure qu'elle se développe dans le milieu coagulable. D'après ce qui vient d'être dit, il existe à cela une condition : c'est que les particules de thrombine qui apparaissent se chargent négativement par rapport au liquide ; sinon la coagulation s'arrêterait.

Toutes les coagulations ne sont pas des autocatalyses, certaines en sont même le contraire : au lieu de se créer des conditions plus favorables, elles augmentent les obstacles. Telles sont les coagulations qui se passent au contact des sels insolubles du calcium et des métaux alcalino-terreux ou terreux et en général de toutes les particules électro-positives. Ce sont des coagulations à phase négative. Rien ne les distingue, ni l'aspect extérieur du phénomène, ni

la composition des liquides résultants, de la phase négative de WOOLDRIDGE, observée *in vivo*. Dans les expériences de WOOLDRIDGE, il y avait une coagulation incomplète dans les vaisseaux ; et le plasma était peu coagulable ou anticoagulant. Après adjonction de fluorure ou de phosphate de calcium à un plasma *in vitro*, il y a également une coagulation incomplète à la surface des particules minérales et le plasma est peu coagulable et anticoagulant. Il serait impossible à qui ne connaîtrait pas leur origine, de distinguer un plasma de kinase (plasma de l'animal injecté d'un extrait aqueux d'organe) des plasmas qui ont subi le contact *in vitro* de l'un ou l'autre précipité calcique (¹).

Il convient de faire remarquer ici que certaines substances peuvent agir *in vitro* sur un plasma dans l'un ou l'autre sens, suivant les quantités en présence. Si l'on ajoute à un plasma neuf de mammifère (lapin, chien) de l'oxalate sodique à raison de 1 à 1.5 ‰ et ensuite la quantité équivalente de chlorure calcique, on accélère la coagulation. Emploie-t-on une dose plus forte d'oxalate (5 ‰) et l'équivalent de chlorure calcique, l'effet sera renversé : il se produit une agglutination immédiate des grains du précipité, mais le plasma reste liquide au moins pendant quelques heures ; plus tard, il se coagule. Il est probable que l'effet coagulant des petites quantités d'oxalate calcique est la résultante de deux influences de sens opposé : la première, coagulante, est l'existence de noyaux de condensation pour la thrombozyme (grains du précipité), la seconde, anticoagulante, est la diminution de concentration de la thrombozyme dans le plasma. Si l'adsorption de la thrombozyme n'est pas trop forte, soit parce que le plasma en contient en abondance, soit parce que le précipité n'est pas trop considérable, c'est la première influence qui domine ; et la seconde, dans les conditions inverses.

L'adjonction de 1 ‰ d'oxalate sodique suivie de la quantité équivalente de chlorure calcique à du plasma d'oiseau exerce toujours une influence négative. Le plasma d'oiseau, plus stable que le plasma de mammifère, réagit à cette faible quantité d'oxalate calcique comme le plasma de mammifère à la dose cinq fois plus forte.

(¹) Récemment, deux auteurs anglais, J. W. PICKERING et J. A. HEWITT, ont appelé phase négative un simple retard de coagulation obtenu par l'adjonction très ralentie d'un extrait d'organe au plasma d'oiseau. Pour faire la preuve du stade négatif, il aurait fallu démontrer que ce plasma réagissait à une *nouvelle* adjonction rapide d'une quantité déterminée de l'agent coagulant par une coagulation plus lente que le plasma normal.

J. W. PICKERING et J. A. HEWITT. Studies on the coagulation of blood. *The biochemical Journal*, 1921, XV, 710-724.

On peut observer dans certains cas favorables une phase négative *in vitro* avec d'autres agents que des particules insolubles. Toute substance soluble, susceptible de donner avec la thrombozyme un composé insoluble ou simplement de diminuer plus ou moins fort son état de dispersion, sera coagulante, en ce sens qu'elle tendra à provoquer l'insolubilisation de la thrombozyme en compagnie d'une quantité plus ou moins considérable des colloïdes hépatiques. Si la substance est faiblement électro-négative, l'insolubilisation des colloïdes hépatiques sera considérable et la coagulation massive (chloroforme dissous). La substance est-elle au contraire faiblement électro-positive, la coagulation sera élective ; elle intéressera proportionnellement plus de thrombozyme que de colloïdes hépatiques, il y aura une phase négative. Le salvarsan est le chlorhydrate d'une base faible, le néosalvarsan est une base plus faible encore, voisine de la neutralité. Ajoute-t-on ces substances au plasma, les bases forment avec la thrombozyme des complexes très peu solubles ; ce qui entraîne une diminution de l'état de dispersion de la thrombozyme et l'union à cette substance d'une partie des colloïdes plasmatiques. S'ils se précipitent, ce qui s'obtient dans le cas envisagé par le refroidissement à 0°, on peut faire la preuve de la phase négative : le filtrat d'un mélange floculé de plasma et de néosalvarsan à 0° est plus anti-coagulant que le mélange non filtré.

Mais l'absence de toute précipitation ne sera pas la preuve qu'aucune coagulation ne s'est produite. Il y a des coagulations, c'est-à-dire des formations de fibrine, qui ne donnent que des produits solubles. L'exemple le mieux étudié est la coagulation d'une solution diluée de fibrinogène par le sérum chloroformique de chien, autolysé pendant plusieurs jours à la température ordinaire. Il n'apparaît aucun caillot, mais le mélange devient opalescent et le fibrinogène est protéolysé ⁽¹⁾. Dans ce cas, la protéolyse est la preuve *a posteriori* de la coagulation. Mais la protéolyse, de règle après les coagulations des solutions diluées de fibrinogène pur, ne se produit pas ou est difficile à mettre en évidence dans les plasmas incomplètement coagulés. Il faut alors chercher d'autres indices de la coagulation, telles qu'opalescence, apparition de particules à l'ultramicroscope, augmentation de la viscosité, etc...

⁽¹⁾ P. NOLF. Action coagulante du chloroforme sur le plasma de chien. *Arch. intern. Physiol.*, 1921, XVIII, 549-571.

Ces faits étant établis, il devient facile de comprendre la signification de la phase négative de WOOLDRIDGE *in vivo*. Il convient de faire remarquer d'abord que l'adjonction d'une substance déterminée au sang ne se fait pas dans les mêmes conditions *in vivo* et *in vitro*. Dans les vaisseaux de l'animal vivant, le sang n'a aucune tendance à se coaguler spontanément. Dans un vase de verre, la coagulation est provoquée par le seul contact de la paroi de verre. La substance étudiée est donc ajoutée à deux liquides différents, *in vitro* à un liquide en voie de coagulation, *in vivo* à un liquide en équilibre de solution colloïdale. On peut donc prévoir que la résistance à l'effet coagulant propre de la substance sera plus grand *in vivo*; en d'autres termes que le plasma d'une même espèce se comportera *in vivo* comme un liquide plus stable.

A cette circonstance favorable au maintien de la fluidité du sang vient s'ajouter l'action de la paroi vasculaire. Celle-ci s'empare avidement par adsorption de tous les complexes, homologues de la fibrine, qui résultent de l'union de la thrombozyme avec les colloïdes hépatiques. Les complexes solubles dans l'eau disparaissent de la circulation avec une rapidité presque aussi grande que les complexes insolubles. Or ces complexes sont des centres de coagulation. Leur disparition rapide est un autre facteur de stabilité. Cette intervention de la paroi sera surtout efficace au cours des injections lentes de la substance coagulante. Elle permettra une défibrination progressive du sang, en évitant la mort par thrombose massive.

Ces circonstances favorables au maintien de la fluidité du sang dans les vaisseaux permettent de comprendre pourquoi tous les agents coagulants sont capables de provoquer une phase négative *in vivo*, tant ceux qui produisent une phase négative *in vitro* que ceux qui *in vitro* donnent une coagulation massive avec un sérum coagulant.

Avec ces derniers agents, dont les prototypes sont le sérum chloroformique ou les extraits aqueux d'organes, les résultats sont différents suivant l'intensité de l'action coagulante, la quantité injectée et la vitesse d'injection. Injecté rapidement en quantité suffisante, un agent très coagulant donnera une coagulation massive *in vivo* comme *in vitro*.

La même substance très coagulante est-elle injectée lentement, on assistera à une défibrination progressive, qui pourra être complète, si la quantité administrée est suffisante. Grâce à la fixation par l'en-

dothélium vasculaire de l'agent coagulant lui-même et de tous les produits de la coagulation, le milieu plasmatique ne se transforme pas en un sérum, il reste anticoagulant.

On peut mettre facilement en évidence le rôle protecteur de la paroi vasculaire en remplaçant celle-ci par une substance inerte, telle que le phosphate tricalcique, dans une expérience en tube de verre. Il convient d'employer un liquide bien stable, tel qu'un plasma d'oiseau conservé à 0° depuis quelques jours. On en met 2 cc. dans un premier tube à réaction, autant dans un témoin. L'adjonction de 0.2 cc. de sérum chloroformique d'oiseau au tube témoin entraîne la gélification en 3 minutes. On laisse couler la même quantité de sérum chloroformique dans le premier tube et immédiatement après, sans temps perdu, 0.2 cc. d'une émulsion très épaisse de phosphate tricalcique ; on agite vivement. Le phosphate se prend aussitôt en flocons visqueux ; mais le plasma reste fluide pendant des heures. Un échantillon décanté donne un caillot ferme une minute après addition de la dixième partie de son volume de sérum chloroformique. La partie du plasma restée au contact du précipité calcique a donné un caillot mou, très incomplet le lendemain. Cette expérience réalise *in vitro* une phase négative, en tous points analogue à celle que l'on observe sur l'oiseau vivant quand on lui injecte du sérum chloroformique. Et il n'y a pas de raison de croire que la seule explication possible pour la phase négative *in vitro*, c'est-à-dire l'adsorption de l'agent coagulant et des premiers produits de la coagulation, n'est pas applicable aux phénomènes qui se passent dans l'appareil vasculaire.

Ce pouvoir de fixation de l'endothélium vasculaire pour la thrombine injectée et les produits de la coagulation n'est d'ailleurs pas illimité, comme le montrent des expériences, citées dans un mémoire précédent, sur des oiseaux privés de leur foie et de tout le tractus digestif.

L'administration d'un agent thromboplastique plus faible, capable de produire la coagulation *in vitro* après plusieurs minutes seulement, comme la céphaline, la tributyrine, la crème de lait, etc., ne provoquera jamais de thrombose vasculaire, quelque rapide que soit l'injection. Mais la phase négative sera d'autant mieux marquée que l'injection est plus rapide. Dans les injections lentes, il est possible que la fixation de la substance par les cellules endothéliales se fasse directement, sans grande consommation de colloïdes plasmatiques, la substance étant fixée avant d'avoir pu provoquer dans le plasma circulant

l'union des substances-mères de la fibrine. Ceci explique l'importance essentielle de la vitesse d'injection pour toutes les substances qui ne sont pas douées d'une vive affinité pour les colloïdes plasmatiques. On n'obtient avec elles une réaction suffisante de ces colloïdes entre eux et avec la substance injectée et son corollaire, la phase négative, qu'en mélangeant vivement une dose suffisante de la substance à une quantité relativement faible du sang circulant.

Au cours des injections lentes de produits de cette espèce, le sang subit deux influences de sens opposé. D'un côté, une très faible partie des substances-mères de la fibrine est coagulée à la surface de l'endothélium, ce qui a pour effet d'augmenter la stabilité du sang; de l'autre, le produit injecté tend à s'accumuler dans le sang (bien que l'endothélium vasculaire le fixe plus ou moins vite à mesure de sa pénétration dans l'appareil vasculaire), ce qui a pour conséquence une diminution de la stabilité du sang.

La résultante de ces deux effets sera positive ou négative suivant les cas. Quand on injecte brusquement à l'oiseau une quantité suffisante de céphaline, on observe un allongement du temps de coagulation; lui en donne-t-on autant, mais lentement, la coagulabilité est augmentée.

Le cas des substances insolubles qui produisent une phase négative *in vitro*, est le plus simple. Avec elles, il faut s'attendre à constater le même phénomène renforcé *in vivo*. C'est ce qui a été obtenu lors de l'injection de petites quantités de phosphate tricalcique gélatineux à l'oiseau.

Avec des substances neutres ou très légèrement alcalines, comme la peptone et le néosalvarsan, les choses se passent différemment *in vitro* et *in vivo*. *In vitro*, les complexes formés dans le plasma sous l'influence de la substance restent habituellement en solution. Ils exercent sur la stabilité du mélange des influences de sens opposé suivant leur plus ou moins grande solubilité, leurs dimensions, leur signe électrique, etc. *In vivo*, ces complexes dans lesquels domine la thrombozyme, se fixent sur la paroi endothéliale, en quantité d'autant plus grande que l'injection a été plus rapide. Il en résulte une augmentation de la stabilité du plasma, augmentation qui n'est pas neutralisée, à l'encontre de ce qui peut se passer avec les substances électro-négatives, comme la céphaline, par la présence d'un excédent de la substance dans le plasma, mais au contraire accrue (néosalvarsan).

Aussi, est-ce avec ces dernières substances que la phase négative de WOOLDRIDGE est la plus caractérisée. L'oiseau normal, comme le mammifère d'ailleurs, donne, après une injection intraveineuse de sérum chloroformique ou d'un extrait aqueux de tissu (agents thromboplastiques forts), un plasma qui n'offre qu'une tendance extrêmement faible à la coagulation spontanée. Mais ce plasma n'est pas à proprement parler anticoagulant, doué de la propriété de s'opposer à la coagulation du sang normal auquel on le mélange *in vitro*. Au moins en est-il ainsi quand les quantités injectées sont celles qui ont été employées dans ces expériences. Pour obtenir un plasma anticoagulant, il faut recourir à un artifice qui consiste à faire subir à l'oiseau avant l'administration de sérum chloroformique, une saignée qui lui enlève un peu plus de la moitié de son plasma. Après cette préparation, l'administration d'une dose modérée (2 à 3 cc. par kilogramme) de sérum chloroformique peut produire une défibrination complète, avec disparition presque complète du fibrinogène, résultat que l'on n'obtient jamais chez l'animal normal. Le plasma après l'injection est très pauvre en substances-mères de la thrombine. Le traitement par le chloroforme donne des quantités de thrombine environ cent fois moins considérables que dans un plasma normal. Ce plasma est anticoagulant. Il faut donc pousser la défibrination très loin avant d'arriver à un liquide qui soit anticoagulant. Au contraire, le plasma de l'animal injecté de néosalvarsan est déjà nettement anticoagulant, alors qu'il a gardé la presque totalité de son fibrinogène et des substances-mères de la fibrine et il en est de même avec la peptone. Cette différence provient de ce que le néosalvarsan, comme le phosphate tricalcique gélatineux, provoque *in vitro* et *in vivo* une coagulation qui est élective et qui intéresse à un plus haut degré la thrombozyme ⁽¹⁾.

Il convient en terminant de faire remarquer qu'aucune limite tranchée n'existe entre le groupe du sérum chloroformique et le groupe de la peptone. On passe insensiblement de l'un à l'autre et telle substance peut, suivant la quantité administrée ou l'espèce animale, être rangée tantôt dans l'un tantôt dans l'autre. Rien de moins étonnant, si l'on songe qu'à l'origine de toutes ces apparences

(1) Dans l'action anticoagulante du plasma de néosalvarsan, il convient en outre de faire une part à ce qui reste du toxique dissous dans le plasma.

il existe toujours un phénomène constant, une coagulation. C'est à une coagulation qu'est due l'action anticoagulante *in vitro* des précipités calciques ; c'est encore à une coagulation qu'il faut attribuer chez l'oiseau l'action anticoagulante *in vivo* de la peptone ou du néosalvarsan (abstraction faite de l'action directe des fortes doses).

La phase négative est l'envers d'une coagulation. On n'obtient celle-là qu'à la condition de provoquer celle-ci. Pour marquer que le phénomène initial fondamental est une coagulation, je n'ai pas hésité à réunir des réactions à première vue aussi différentes, au moins chez les mammifères, que les suites d'une injection intraveineuse d'extrait de tissu ou de peptone, leur assignant à toutes une origine thromboplastique. Quand il s'agit d'une coagulation *in vitro*, l'épithète thromboplastique a été employée jusqu'ici pour signifier une coagulation complète, fournissant un sérum coagulant. Rien ne s'oppose à ce que l'on étende la signification du mot à toutes les coagulations, celles qui donnent un sérum coagulant et celles qui sont accompagnées d'une phase négative. C'est, je crois, ne pas s'écarter de la direction indiquée par WOOLDRIDGE que d'affirmer que la phase négative est toujours la suite d'une action thromboplastique.

La réponse si constante de l'oiseau à l'injection de substances thromboplastiques est déjà très intéressante en elle-même, parce qu'elle rend beaucoup plus manifestes que chez le mammifère les modalités de la coagulation *in vivo*. La différence est due à la plus grande stabilité naturelle du plasma de l'oiseau : dans ce plasma, spontanément peu coagulable, toute diminution de la teneur en thrombozyme se marque par un allongement marqué du temps de coagulation. Si l'on voulait trouver, parmi les mammifères, un réactif des coagulations intravasculaires, qui soit l'équivalent en sensibilité de l'organisme de l'oiseau, il faudrait s'adresser non pas à un animal complet, mais au foie isolé, vivant du chien. Il est très probable *a priori* que la plupart des substances dont l'introduction dans les veines de l'oiseau provoque un allongement du temps de coagulation du sang, donneraient un résultat analogue, si on les injectait par la veine porte dans un foie isolé, vivant de chien. L'effet a été obtenu il y a de longues années déjà pour un certain nombre d'entre elles par DELEZENNE et par moi-même. La réaction de l'oiseau n'est donc pas particulière à cet animal, elle est l'expression nette de phénomènes qui se passent également chez les mammifères et les autres vertébrés, mais de façon habituellement moins apparente.

Si l'oiseau est un excellent réactif des modifications de l'équilibre des colloïdes du plasma, consécutives à l'introduction de substances diverses dans les vaisseaux, il convient par contre très mal pour l'étude des réactions viscérales qui font habituellement suite à ces interventions.

Si l'on prend parmi les substances essayées dans ces expériences, celle dont l'action a été le mieux étudiée, le sérum chloroformique, on constate que chez les mammifères, elle produit des réactions viscérales très violentes : une chute considérable de la pression artérielle chez le lapin, plus profonde encore chez le chien ; et, chez le cobaye, le spasme bronchique mortel. Chez l'oiseau, il est rare de noter autre chose que les troubles de la coagulation ; parfois, une chute de la pression artérielle, mais moins profonde que chez les mammifères et fugace. Par contre, le temps de coagulation du lapin est à peine influencé par l'injection de sérum chloroformique à la dose de 2 cc. par kilogramme.

En m'appuyant sur un nombre considérable de faits actuellement connus, je crois pouvoir affirmer que les substances capables de produire une phase négative chez l'oiseau sont les mêmes qui provoquent en injection intraveineuse chez le mammifère un choc analogue au choc peptonique ou anaphylactique. Sous une autre forme, c'est la répétition d'une opinion que j'ai formulée il y a dix ans ⁽¹⁾, d'après laquelle les chocs peptonique ou anaphylactique ne sont que des cas particuliers de ce que l'on peut appeler le choc thromboplastique.

Le parallélisme qui existe entre les effets observés chez l'oiseau et ceux constatés chez le mammifère reçoit toute sa signification du fait que même chez l'oiseau, les manifestations viscérales ou artérielles, pour n'être pas toujours aussi nettes que chez le mammifère, sont cependant assez souvent présentes pour permettre de conclure à l'existence d'un lien de causalité entre elles et les altérations humoraux. Il est difficile d'admettre que des substances aussi diverses que la peptone, le sérum chloroformique homologue ou un antigène quelconque (chez l'animal anaphylactisé) produisent le spasme bronchique du cobaye ou le collapsus vasculaire du chien, parce que

⁽¹⁾ P. NOLF. La composition protéique du milieu humoral (3^e mémoire). De l'anaphylaxie. *Arch. intern. Physiol.*, 1910, X, 37-77.

ces substances excitent de la même manière les muscles bronchiques du premier ou paralysent également les vaisseaux du second. Au contraire, la possibilité de produire avec toutes ces substances les mêmes altérations de la coagulabilité du sang fait apparaître une explication simple de ces relations : les réactions des organes seraient la conséquence non pas de l'action directe sur eux de la substance injectée, mais de la coagulation intravasculaire qu'elle provoque. Pour être acceptable, une telle explication doit satisfaire à un certain nombre de conditions.

La première est que les altérations humorales consécutives à l'administration de ces substances si diverses, soient constantes et relèvent d'un mécanisme bien déterminé. Les faits contenus dans ce mémoire et dans un mémoire sur les injections à l'oiseau du sérum chloroformique permettent de croire qu'il en est bien ainsi.

La seconde condition pourrait se formuler de la manière suivante : une substance n'est capable de produire un choc analogue au choc peptonique ou anaphylactique, qu'à la condition d'exercer une action thromboplastique *in vivo*, définie par une coagulation intravasculaire plus ou moins complète avec une phase négative. Pour faire cette épreuve, il conviendrait peut être de choisir comme animal de choix, l'oiseau.

Cette seconde condition a été trouvée remplie pour toutes les substances dont il est question dans ce mémoire. Le seul symptôme de choc un peu net que l'on puisse observer chez l'oiseau, est une chute de la pression artérielle, qui a été observée (de façon inconstante) avec le sérum chloroformique, de façon plus constante avec la céphaline, avec les émulsions de substances grasses, avec la peptone, avec le néosalvarsan. Il est intéressant de constater qu'elle fut plus régulière, plus nette avec les substances thromboplastiques capables de produire une phase négative bien accusée (peptone, néosalvarsan) qu'avec les autres.

Enfin la troisième condition veut que toute substance capable de produire une coagulation vasculaire plus ou moins complète avec phase négative, puisse déterminer tous les symptômes caractéristiques du choc, tels que la chute de la pression artérielle du lapin et du chien, le spame bronchique du cobaye, etc... Ce point sera examiné dans de prochaines publications.

Conclusions

Injectés dans les veines de l'oiseau, les agents thromboplastiques solubles les plus divers produisent une coagulation intravasculaire plus ou moins complète. Quand l'injection est brusque et l'agent très actif (sérum chloroformique, extrait aqueux d'organe), la coagulation est massive et l'animal meurt de thrombose cardio-vasculaire. Si l'injection est lente ou si l'agent injecté rapidement est peu actif, la thrombose fait défaut, mais la coagulation a néanmoins lieu. Elle se manifeste par l'apparition d'une phase négative de WOOLDRIDGE.

La phase négative de WOOLDRIDGE se constate chaque fois qu'un plasma se coagule *in vitro* ou *in vivo* au contact d'une paroi qui fixe les produits (fibrine et thrombine) de la coagulation. L'endothélium vasculaire possède cette propriété à un haut degré. Il importe peu que les produits de la coagulation soient insolubles (fibrine concrète) ou solubles. La paroi endothéliale s'empare de ces derniers aussi avec avidité.

La fixation par une paroi des produits d'une coagulation a pour effet de rendre le plasma résiduel moins sensible aux influences coagulantes. Ce sont les caractères du plasma dans la phase négative de WOOLDRIDGE.

Les émulsions de gouttelettes liquides (chloroforme, tributyrine, huile d'olives, huile de vaseline), peuvent produire tous les effets des agents thromboplastiques solubles. Dans l'ordre des activités thromboplastiques décroissantes, elles provoqueront ou une thrombose massive (chloroforme) ou une phase négative de WOOLDRIDGE (tributyrine) où seront dépourvues de tout effet (vaseline). Les émulsions très fines des graisses thromboplastiques sont inoffensives pour l'oiseau. Les émulsions grossières des mêmes graisses le tuent par embolie bulbaire. Les émulsions grossières de graisses non thromboplastiques sont sans danger (vaseline).
