

QUELQUES DONNÉES RELATIVES AUX PHÉNOMÈNES AUTO- LYTIQUES DE LA PEAU (*).

GIULIO RADAELI

(Clinique Dermosyphilopatique de la R. Université de Pavia
dirigée par le prof. U. MANTEGAZZA).

RÉSUMÉ DE L'A.

Une des manifestations les plus fréquentes des processus de dégénération cellulaire est représentée par l'apparition plus ou moins marquée de phénomènes de lysis: cela n'a pas besoin d'être démontré. Il est certain toutefois qu'il existe des processus de dégénération dans lesquels les phénomènes de lysis sont extraordinairement accentués (atrophie jaune aiguë du foie), tandis que dans d'autres processus de dégénération la lysis manque presque complètement (comme, p. ex. dans la caséose). D'autre part, la pathologie générale enseigne qu'un élément cellulaire soustrait, n'importe comment, à ses conditions normales de vie, ou lésé d'une manière quelconque, peut tomber rapidement en lysis sans qu'on puisse y reconnaître d'autres agents actifs en dehors des agents spontanés du biochimisme altéré.

Toutefois, si nous connaissons bien ce phénomène dans ses lignes générales, nous devons reconnaître que nous sommes insuffisamment informés sur les causes intimes qui, en agissant sur la cellule, rendent possible aux phénomènes autolytiques de s'affirmer et de prévaloir. Il nous manque, jusqu'à présent, une explication satisfaisante des lois qui règlent physiologiquement la conservation de la structure de la cellule et de celles qui permettent, à un moment donné, l'exaltation des actions enzymatiques jusqu'à leurs conséquences extrêmes.

Si, pour le moment, nous nous rapportons uniquement aux composants protéiques cellulaires, nous trouvons que les explications qu'on a données jusqu'ici, pour expliquer, dans des conditions physiologiques,

(*) Communication à la XXVIII Réunion della Società Italiana di Dermat. e Sifil., Pavia, 21-24 Octobre 1933 et *Giornale Italiano di Dermatologia e Sifilologia*, 1934 - XII. - Pour la Bibliographie voir la note complète.

la résistance à la lysis, sont certainement aussi insuffisantes que celles qui regardent la perte de cette résistance dans des conditions particulières.

Les rapports qui existent entre l'activité des protéases et le potentiel d'oxydo-réduction cellulaire restent, jusqu'à présent, à l'état d'hypothèse (RONDONI).

Les rapports entre activité des protéases et concentration des ions H dans les cellules sont, sans doute, bien plus suggestifs, en ce que, justement, la réaction actuelle des protoplasmas vivants ne serait pas favorable au développement des actions protéolytiques dont nous nous occupons ici. Cette explication (qui est celle de BRADLEY et qui a été acceptée par MITCHELL et HAMILTON) peut toutefois ne pas sembler suffisante: 1° parce qu'il est certain que, du moins dans quelques organes, le pH, même pendant la vie, peut descendre à des valeurs si petites qu'elles peuvent consentir une activité protéolytique limitée; 2° parce que, même en admettant que les protéases cellulaires des organes soient en prévalence du type des pepsinases, il résulte des données de certains AA. (SCHIMA, p. ex., pour le foie) qu'il existe un optimum d'autolyse à un pH même supérieur et pas trop éloigné de celui qu'on remarque normalement dans cet organe.

De même HOPPENHEIMER, sur des données de CHIARI, rejette l'opinion que les protéases intracellulaires se trouvent à l'état de proferments inactifs.

Beaucoup d'AA. ne considèrent pas, actuellement, si dans les protoplasmas cellulaires il existe, ou non, un pouvoir antiprotéolytique comparable à celui du sang, quoique, p. ex., dans le grand traité de HOPPENHEIMER, sa présence ne soit pas exclue formellement et semble résulter de l'expérience de plusieurs AA. (FERMI, WELSCH, PUGLIESÈ et COGGI, STAWRAKY, etc.).

Dans l'impossibilité où nous nous trouvons aujourd'hui de donner une explication complète et satisfaisante de la résistance des protéines cellulaires à des agents qui deviennent si décisifs et si actifs à un moment donné, nous ne pouvons pas manquer de nous associer à FERMI et à HOPPENHEIMER pour reconnaître que la cause de cette résistance, strictement liée aux conditions particulières de la protéine vivante, n'est pas encore claire.

Mes recherches représentent une tentative d'étudier *in vitro* le processus autolytique à la suite de l'action de quelques agents physiques,

étrangers à l'organisme, mais capables de provoquer l'autolyse *in vivo*. Et puisque c'est la peau qui est le plus sujette à l'action de ces agents, cet argument m'a semblé intéressant, même au point de vue de la dermatologie. L'éventualité d'une possible reproduction, dans mes expériences, de phénomènes analogues à ceux qu'on observe *in vivo* m'a semblé justifier suffisamment le commencement de mes recherches. Ainsi aurais-je pu avoir sous la main des faits susceptibles d'être mesurés et plus facilement analysés dans leur essence.

*
* *
*

Comme agents capables de provoquer "*in vivo*„ une altération cellulaire j'ai pris en considération la *congélation* et les *radiations ultra-violettes* qui offrent, toutes les deux, un intérêt tout particulier. Il est inutile de s'arrêter sur la capacité de ces facteurs à provoquer des faits autolytiques *in vivo*. Je rappelle seulement 1^o) que les rayons U.V. peuvent provoquer une lysis limitée à de petites portions du protoplasma même sans lésion de la totalité de la cellule (radiopiqûre de TCHACHOTINE); 2^o) que l'action qu'on peut relever *in vivo* par l'augmentation de l'azote résidu dans la peau après des irradiations ultra-violettes (KAPLANSKY) contraste avec ce que nous connaissons sur la violente action destructive que les rayons ultra-violets exercent sur les enzymes en général (ce qui augmente l'intérêt d'une recherche qui tend, pour ainsi dire, à mettre d'accord avec ce qu'on observe *in vivo* les faits qu'on peut observer *in vitro* sur des enzymes plus ou moins purifiées); 3^o) que quelques AA. (GUILLAUME, PFEIFFER, p. ex.) ont mis en rapport les manifestations locales et générales produites par les rayons U. V. avec des produits de désintégration protéique; 4^o) que la supposition d'une exaltation progressive d'une action enzymatique particulière après l'irradiation concorderait avec la constatation de la période de latence qui précède toute manifestation objective ou subjective due à l'irradiation même; 5) qu'il ne me résulte pas qu'on ait fait, *in vitro*, des recherches sur l'influence des rayons U. V. sur les phénomènes autolytiques; 6) qu'on peut très bien admettre que les rayons U. V. rendent inactifs les pouvoirs physiologiques qui s'opposent habituellement à la prévalence des pouvoirs lytiques, comme on pourrait les voir p. ex. dans le pouvoir antitryptique si controversé.

Un premier groupe de mes expériences a eu pour but d'étudier

si l'on devait réellement considérer comme présent un pouvoir antiprotéolytique (antitryptique) dans des extraits d'organes qui, par le lavage, avaient été privés de toute trace de sang. Si l'on avait pu démontrer cela, on aurait eu une première manière pour étudier l'effet des agents susdits. Je rappelle ici que WELSCH aurait vu disparaître le pouvoir antitryptique dans le "foie par P."; que WEINBERG aurait trouvé que les rayons U. V. rendent inactif le pouvoir antitryptique du sérum de sang et que PFEIFFER et BAYER auraient vu que, même moyennant des actions photodynamiques (éosine + lumière + O₂), on réussit à détruire *in vitro* ce pouvoir antitryptique.

Technique. On a préparé des bouillies d'organes de cobayes et de lapin, moyennant trituration avec du sable siliceux et dilution de la masse broyée en un volume de solution physiologique presque égal au double du poids initial du fragment d'organe qu'on a traité. Pour tuer les animaux on les avait saignés. Les organes (foie et rein) étaient lavés par voie veineuse avec une solution physiologique pour qu'il n'y eût plus de sang. Lorsque la suspension était prête on la soumettait à la centrifugation et on se servait de la partie liquide qui venait à se trouver au dessus du sédiment. On suivait la méthode viscosimétrique de CHROMETZKA pour la recherche du pouvoir antitryptique.

Même avec 1 cc d'un extrait préparé de la manière susdite, nous n'avons jamais réussi à mettre en évidence un pouvoir antitryptique de cet extrait, en employant comme ferment la trypsine de MERCK. Par contre le pouvoir antitryptique de cc 0,1 de sérum de sang pouvait être clairement démontré dans des conditions expérimentales identiques et en suivant le même procédé.

A ce propos il est intéressant d'ajouter, relativement aux expér. de WEINBERG dont nous avons parlé, que, dans de nombreuses expér. sur le sérum humain, même dilué à $\frac{1}{10}$, il n'a jamais été possible de constater une diminution du pouvoir antitryptique, même avec des irradiations ultra-violettes très violentes (45 minutes avec la lampe BACH à 50 cm de distance, et jusqu'à 40 minutes avec la lampe KROMAYER) dans des expér. faites avec ou sans contact de l'air, dans des tubes de quartz à 5 cm de distance. (1).

(1) Je rappelle ici, incidemment, que j'ai pu nettement observer un pouvoir antitryptique comparable à celui du sang dans le liquide de bulles tant spontanées (dermatite de DUHRING) que provoquées (cantharide). Ce fait n'est pas nouveau, parce que l'on sait que les exsudats et les transsudats peuvent présenter ce pouvoir. J'en

Mes expériences successives ont eu leur point de départ des observations de CHIARI qui a démontré qu'un morceau de foie de lapin, qui ne subit pas une autolyse protéique évidente pendant 24 hh., subit rapidement un processus autolytique si on le plonge dans une sol. de FINa à 1 % et que ce processus est déjà démontrable après 6 hh. de séjour dans le thermostat, s'il a été préalablement congelé (neige carbonique) ou exposé à des vapeurs de chloroforme, d'alcool ou d'éther.

J'ai employé comme antiseptique une sol. plus légère et, par conséquent, faiblement alcaline (0,3 %) de FINa, préparée dans une sol. de NaCl à 0,5 %, m'étant préoccupé de ne pas employer un de ces antiseptiques communs (comme, p. ex., le chloroforme) qui peuvent accélérer l'autolyse, comme il a été démontré par les expér. dont j'ai parlé. Le pH de cette sol. de FINa, évalué par le paranitrophénol dans le comparateur de HELIGE, est de 6,8.

Pour la détermination des produits de l'autolyse protéique je me suis servi d'un micro-Kjeldal selon BANG. J'ai employé, pour le titrage de l'azote non précipitable avec l'ac. trichloro-acétique, une sol. de H_2SO_4 N/60. Je faisais toujours les oxydations et les titrages sur deux échantillons et je titrais jodométriquement le H_2SO_4 résidu.

J'ai répété l'expér. de CHIARI sur des morceaux de foie de lapin, traités soit par congélation (glace et sel, air liquide) soit avec le chloroforme. Les résultats que j'ai obtenus m'ont permis de confirmer ceux que CHIARI avait obtenus en précédence. Ce qui m'intéressait surtout c'était de pouvoir constater si l'on pouvait observer des effets analogues à ceux qu'on avait remarqués sur les cellules intègres de parties d'organes, même sur d'autres parties du foie dont le complexe édifice cellulaire eût été détruit préalablement par un traitement mécanique (trituration avec du sable siliceux). Les cellules étant ainsi lésées profondément, ou détruites, il en résultait la possibilité d'attribuer les effets qu'on observait à des propriétés des composants cellulaires et non au biochimisme particulier de la cellule vivante. Cette exclusion portait l'expérience sur un terrain plus facilement accessible à des recherches ultérieures.

parlé ici parce qu'il faut qu'on y pense lorsqu'on s'occupe de recherches sur les enzymes protéolytiques du liquide de bulles, parce qu'on sait que dans le sérum de sang, qui a ce pouvoir caractéristique, la recherche de ces enzymes doit être précédée (STEPHAN, SCHIERGE) par des actions particulières (secoûment avec chloroforme, etc), procédés qui rendent possible leur révélation.

a) Quelques expér., qui devront être répétées en modifiant les conditions expérimentales, ont démontré que l'on obtient un commencement évident d'autolyse déjà dans les premières 6 hh. en traitant par congélation et avec le chloroforme une bouillie de foie de lapin, déjà diluée avec une solution de FINa et NaCl. On a pu voir un léger effet de la congélation même lorsqu'on n'employait que la partie de la bouillie qui se trouve au-dessus du sédiment obtenu par centrifugation forte et prolongée (donc absence certaine d'éléments cellulaires restés intègres).

b) De cette manière on démontrait aussi que la trituration et la dilution avec FINa ne provoquent pas, à elles seules, une instauration de processus autolytiques. De plus on voyait qu'on pouvait encore démontrer l'effet de la congélation et du chloroforme sur la bouillie. Pour cela j'ai pu penser, par hypothèse, que même les effets d'autres moyens capables de provoquer *in vivo* des phénomènes autolytiques, pouvaient être étudiés sur la même bouillie de foie, diluée dans la sol. habituelle de FINa, centrifugée ou non.

Puisque l'on sait (MONA SPIEGEL et d'autres AA.) que les rayons U. V. altèrent les protéines en solution et qu'une des théories, par lesquelles on a voulu expliquer la résistance des protéines cellulaires aux enzymes, se base sur l'admission d'un équilibre biochimique très délicat, inhérent à leur parfait état d'intégrité, je suis passé immédiatement à la préparation des expériences avec les rayons ultra-violets.

D'après mes recherches bibliographiques il me résulte que seulement PFEIFFER et BAYER ont étudié si les actions photodynamiques (éosine + lumière + O₂) étaient capables de rendre plus digérables les protéines par la trypsine. Ces AA. ont employé (mais avec un résultat négatif) la caséine du commerce qui ne peut absolument pas, selon moi, être comparée aux délicates protéines de la cellule vivante. Je trouve, par contre, plus intéressante l'observation de TALARICO qui a constaté que le lait, soumis aux irradiations ultra-violettes, devient moins facilement digérable par la trypsine. Mais pas même le lait ne peut être comparé à un protoplasma vivant.

Comme source de rayons U. V. j'ai employé la lampe de BACH, en me servant de capsules de PETRI, ouvertes, en variant la durée de l'irradiation de 7' à 60'. Les épreuves ont été faites soit en irradiant le liquide décanté d'une bouillie de foie après une forte centrifuga-

tion, soit en irradiant de petites parcelles de foie de lapin plongées dans la sol. habituelle de FINa et NaCl .

Les résultats que j'ai obtenus dans de nombreuses expér. m'ont permis de démontrer une augmentation des processus autolytiques initiaux (6 hh de thermostate à 37%). Même dans une expér. faite sur la bouillie habituelle centrifugée (avec une irradiation durée 7' et 15' et avec une autolyse suivie pendant 37 et 63 hh.) il m'a été impossible de remarquer une accélération du processus.

Toutefois, le résultat négatif de ces expériences, dans lesquelles même les enzymes contenues dans la bouillie ou dans la cellule devaient nécessairement subir l'irradiation, laissait encore des doutes. Puisque les rayons ultra-violetts peuvent détruire les enzymes, on pouvait penser à une éventuelle inactivation de ces enzymes mêmes.

D'autre part il était intéressant de connaître si par hasard, à la suite de l'irradiation, il s'était vérifié une variation de la résistance primitive des protéines à l'action des enzymes.

Ces deux circonstances avaient pu se vérifier contemporanément pendant mes expériences et pouvaient expliquer la cause du résultat qui était identique. Pour ces considérations j'ai aussi essayé d'irradier seulement une petite partie de la bouillie que j'examinais: partie que j'ajoutais ensuite à la masse principale. Pas même en faisant ainsi, après 6 hh. de thermostate à 37°, il m'a été possible de relever une différence relativement aux contrôles. Je dois ajouter que, même en ajoutant à la masse totale de l'extrait une petite quantité de cet extrait même, dans laquelle les protéines avaient été coagulées en les chauffant à 100°, il m'a été impossible de remarquer des différences.

J'ai encore voulu rechercher si, en soumettant l'extrait aqueux centrifugé à l'irradiation, ou en le chauffant à 100°, il devenait plus digérable par la trypsine (MERK) que j'ajoutais en un second temps. Le résultat de ces expériences a aussi été négatif, car le foie cru irradié, ou cuit, s'est démontré également attaquant par le ferment. Du reste ce qui regarde la coagulation par la chaleur coïncide avec les données déjà connues.

Conclusions. - 1) La recherche d'un pouvoir antytriptique dans les extraits aqueux de foie et de rein de cobayes et de lapin a donné un résultat négatif.

2). - Le chloroforme et la congélation, conformément aux recher-

ches de CHIARI, provoquent un commencement rapide des processus autolytiques sur des morceaux intègres.

3). - L'action de la congélation et celle du chloroforme résultent évidentes non seulement sur les morceaux intègres, mais aussi sur les organes réduits en bouillie. Il reste ainsi prouvé que l'intégrité cellulaire n'est pas indispensable à la production du phénomène. Je trouve prématurée toute discussion sur la manière d'agir de la congélation et du chloroforme, car nous n'avons pas de données collatérales pour éclaircir les faits qui peuvent se produire parallèlement à l'autolyse et qui peuvent agir sur elle (p. ex. les variations du pH).

4). - Les processus autolytiques ne résultent pas accélérés, *in vitro*, par les irradiations ultra-violettes, même lorsqu'elles sont considérablement prolongées.

5). - Les expériences de contrôle ont exclu l'influence d'une inactivation des enzymes.

6). - A la suite des irradiations ultra-violettes le substratum protéique cellulaire ne résulte pas plus attaqué ni par les catépsines cellulaires ni par la trypsine.

Il ne semble donc pas que l'irradiation puisse compromettre une résistance aux ferments hydrolysants, résistance qui est propre des protéines cellulaires.

7). - Pour ce qui concerne le problème du mécanisme d'action des rayons ultra-violettes sur la peau, mes expériences actuelles ne peuvent pas, du moins pour le moment, ouvrir la voie à une nouvelle interprétation.
