

Activité glucose-6-phosphate-déshydrogénase des adultes de "Schistosoma mansoni"

Autor(en): **Dodin, A. / Brygoo, E.R. / Richaud, J.**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Acta Tropica**

Band (Jahr): **23 (1966)**

Heft (9): **Thérapeutique nouvelle de la Bilharziose et de l'amibiase :
Symposium de Lisbonne 2 au 4 Juin 1965**

PDF erstellt am: **22.07.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-311357>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Activité glucose-6-phosphate-déshydrogénase des adultes de *Schistosoma mansoni*

A. DODIN *, E. R. BRYGOO * et J. RICHAUD *

Poursuivant l'étude des enzymes de *Schistosoma mansoni* nous nous sommes intéressés au métabolisme des hydrates de carbone et plus particulièrement à l'activité glucose-6-phosphate-déshydrogénase (G6PD) dont l'importance commence à être mieux connue dans différents domaines.

Nous avons d'abord procédé à une étude quantitative de l'activité G6PD des parasites en la comparant à l'activité d'hématies d'hommes, de rats et de souris. Nous avons ensuite cherché à mettre en évidence la localisation de l'enzyme au niveau du trématode.

A. Etudes quantitatives

Matériel et méthodes

Le principe de la méthode repose sur la réduction enzymatique du triphosphopyridinenucléotide (TPN) par le glucose-6-phosphate en présence de G6PD. La production de TPN réduit (TPNH) augmente la densité optique du milieu ; le déroulement de la réaction est suivi au spectrophotomètre en lumière ultra-violette.

Les schistosomes, mâles et females, proviennent de souris infestées 45 jours auparavant avec des cercaires de *S. mansoni* émises par des *Biomphalaria pfeifferi* de notre élevage, exposés à des miracidia d'origine humaine. Les parasites sont recueillis vivants par lavage des veines mésentériques de souris sacrifiées à l'éther. Les vers, lavés trois fois en solution de PBS, sont passés au broyeur de Ten Brock, puis congelés et décongelés 5 fois entre -70° et $+37^{\circ}\text{C}$. Les broyats sont ensuite dilués en eau distillée jusqu'à ce

* Institut Pasteur, Tananarive, Madagascar.

que l'opacité soit compatible avec l'utilisation du spectrophotomètre.

Le sang, prélevé sur rats et souris par ponction cardiaque et sur homme par ponction veineuse, recueilli sur héparine, est centrifugé à 3000 t/min à $+4^{\circ}\text{C}$. Toutes les opérations ultérieures s'effectuent à cette température. Le plasma est rejeté, les cellules sont lavées 4 fois en PBS, puis 0,2 ml du culot sont hémolysés dans 1,8 ml d'eau distillée. On centrifuge à 10.000 t/min et l'on décante le surnageant clair qui est utilisé immédiatement pour la mesure.

Les mesures de G6PD sont effectuées selon les techniques et avec les réactifs Calbiochem (Calsuls G6PDH tests). La lecture s'effectue au photomètre en ultra-violet dans la bande des 340 millimicrons. L'unité utilisée est la quantité d'enzyme qui donne une augmentation de densité optique de 1. Cette activité se rapporte au poids d'hémoglobine (en g) pour les hématies, calculé selon la technique de Wong au thiocyanate d'ammonium. Nous l'avons également calculé par rapport à la quantité d'azote total titrée par la méthode de Kjeldahl. Nos mesures ont été effectuées sur 0,05 ml de produits actifs dans 2,95 ml de produits réactifs.

Résultats

Les hématies humaines normales nous ont donné des taux de 8,9 à 9,4 unités G6PD/min/g d'Hb. Ces chiffres nous ont permis de contrôler technique et réactifs car ils correspondent à ceux fournis par les laboratoires Calbiochem qui considèrent comme normal un chiffre de 9,1 unités G6PD/min/g d'Hb.

Dans les mêmes conditions les hématies de rats nous ont donné 7,7 unités G6PD/min/g d'Hb et 136,1 unités G6PD/min/g d'N total ; les hématies de souris nous donnèrent 43,50 unités G6PD/min/g d'N total.

Ces dosages d'activité G6PD nous ayant permis de maîtriser la technique nous avons pu procéder au titrage de l'activité des *S. mansoni* adultes. Nous avons alors constaté une différence remarquable entre l'activité des extraits de mâles d'une part et les extraits de femelles d'autre part. A deux dosages successifs les mâles nous ont donné des activités de 517,1 et 515,3 unités G6PD/min/g d'N tandis que les femelles nous donnaient 114,9 et 115,6 unités.

Etant donné que le pourcentage d'N par rapport à la matière sèche était comparable dans les deux sexes (8,1 et 7,7 pour les mâles ; 8,07 et 8,5 pour les femelles) on doit admettre qu'il s'agit bien d'activités enzymatiques quantitativement différentes dans les deux sexes.

B. Localisation de l'activité enzymatique

Une telle différence d'activité enzymatique entre les sexes des parasites nous conduisait à rechercher sa localisation dans le ver.

Méthodes

La technique de W. B. Sutton, réduction du 2-6-dichlorophénol-indophénol par la G6PD en présence de TPNH suivie au microscope, ne nous a donné que des résultats fugaces et difficilement reproductibles. Nous avons alors utilisé les produits commercialisés par Calbiochem sous le nom de « Spot test » pour le dépistage des déficiences en G6PD chez l'homme. Sous l'influence de la G6PD le TPN est transformé en TPNH tandis que l'électron se fixe sur le sel de tétrazolium et le transforme en formazan. Celui-ci se dépose sous forme de granules rouges-violetes au point d'impact de l'enzyme.

Nous avons placé dans 3 ml de milieu de Hanks (tampon phosphate) des schistosomes mâles et femelles et ajouté 0,10 ml de réactif « Spot tests ». Après une incubation de 4 heures à l'étuve à 37°C les schistosomes étaient toujours vivants. Nous les avons examinés au microscope et photographiés.

Résultats

Mâles et femelles prennent de manières très différentes le colorant révélateur de l'activité enzymatique : les mâles sont beaucoup plus colorés particulièrement à leur périphérie tandis que chez les femelles, seuls les vitellogènes semblent teintés.

Au fort grossissement on observe que, chez les mâles, la cuticule est respectée mais que les amas de gros grains de formazan soulignent les crêtes papillaires. On connaît chez les Trématodes digénétiques l'existence de glandes tégumentaires. G. DUBOIS en a décrit plusieurs systèmes chez les Strigeida. Sans doute l'activité enzymatique que nous mettons ainsi en évidence est-elle en rapport avec des glandes tégumentaires.

Par comparaison il est remarquable de noter que les téguments des femelles immergées dans le même bain que les mâles ne retiennent absolument pas de formazan. Par contre, chez celle-ci l'action enzymatique, sans atteindre l'importance de celle du tégument chez les mâles, manifeste cependant une grande activité au niveau des lobules des glandes vitellogènes. On observe des granules colorés dans le vitelloducte et jusque dans l'œuf en formation.

Ainsi, à la différence quantitative d'activité enzymatique que nous avons mise en évidence entre les mâles et les femelles de *S. mansoni*, correspond une différence de localisation anatomique de cette activité : des glandes tégumentaires localisées dans les papilles sont particulièrement actives chez le mâle tandis que chez les femelles l'activité se localise au niveau des vitellogènes.

C. Applications

La mise en évidence d'une activité enzymatique facile à caractériser nous conduisit à rechercher si certains produits chimiques, antibilharziens connus ou potentiels, avaient une activité sur l'action enzymatique.

La tyramine dont nous connaissons l'action *in vitro* n'a aucun pouvoir inhibiteur sur l'activité enzymatique. Par contre la série des thymoanaleptiques du type amitryptilline, imipramine et chlorpromazine semble inhiber la réaction enzymatique autant, du moins, que permette d'en juger le brunissement intense des parasites.

Nous avons également utilisé le sérum de sujets bilharziens, au 7^e jour du traitement par le CIBA 32644-Ba. Alors que ce sérum ne contient pas d'anticorps précipitants nous avons obtenu une inhibition totale de la coloration test de l'activité enzymatique. Le sérum du même sujet sans anticorps précipitant avant traitement, ne montrait, lui, aucune activité.

Nous avons cherché à apprécier quantitativement l'inhibition de l'activité enzymatique. L'activité des broyats de femelles est diminuée de plus de 50 p. 100 par l'adjonction du sérum de sujet traité (46 unités au lieu de 115) tandis que celle des broyats de mâles ne diminue que de 20 p. 100 (411 unités au lieu de 515).

Ces résultats sont encore trop fragmentaires pour que l'on puisse en tirer des conclusions définitives ; il n'en reste pas moins que la mise en évidence d'une activité G6PD au niveau des adultes de *Schistosoma mansoni* ouvre des perspectives intéressantes pour des recherches immunologiques et thérapeutiques.

Résumé

Les adultes de *Schistosoma mansoni* présentent une activité glucose-6-phosphate-déshydrogénase. Celle des mâles est près de cinq fois plus importante que celle des femelles. Alors que chez les premiers l'activité semble prédominer dans des éléments sous-

cuticulaires localisés dans les papilles des téguments, chez les femelles l'activité se manifeste au niveau des vitellogènes. Le sérum d'un malade au septième jour d'un traitement par le CIBA 32644-Ba inhibe cette activité enzymatique.

Summary

Schistosoma mansoni adults exhibit a glucose-6-phosphate-dehydrogenase activity, that of the males being almost 5 times more important than that of the females. In the males this activity appears to predominate in the sub-cuticular elements of the tegumental papillae, whereas in the females it is found in the vitellogenous cells. In one case, on the 7th day of treatment with CIBA 32644-Ba, this enzyme activity was found to be inhibited by the patient's serum.

Références

- DODIN, A. & BRYGOO, E. R. (1964). Effet des monoamines sur la formation des œufs de *Schistosoma mansoni*. Perspectives thérapeutiques. — Bull. Soc. Path. exot. 57, 489-494.
- DODIN, A., CAPRON, A. & BRYGOO, E. R. (1960). Etude biomorphologique et manométrique de l'oxydation enzymatique de quelques composés phénoliques par les glandes vitellines de certains trématodes. — Ann. Inst. Pasteur 99, 533-546.
- DODIN, A., CAPRON, A. & BRYGOO, E. R. (1960). Enzymes de *Schistosoma mansoni* (Sambon, 1907). Mise en évidence qualitative d'une histamino-oxydase et d'une succino-déshydrogénase chez la cercaire *in vivo* et le schistosome adulte *in vitro*. — C. R. Soc. Biol. 64, 575-578.
- WONG, J. (1923). J. biol. Chem. 55, 421 in: Ann. Biol. cl. 3, 1943.