

L'apo-transferrine du sérum équin : son importance dans la typisation phénotypique

Autor(en): **Baer, A.**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Schweizer Archiv für Tierheilkunde SAT : die Fachzeitschrift für Tierärztinnen und Tierärzte = Archives Suisses de Médecine Vétérinaire ASMV : la revue professionnelle des vétérinaires**

Band (Jahr): **110 (1968)**

Heft 9

PDF erstellt am: **21.07.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-592952>

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.

Institut de Zootechnie de l'Université de Berne
(Dir. Prof. W. Weber)

L'apo-transferrine du sérum équin: son importance dans la typisation phénotypique¹

Par A. Baer²

Le polymorphisme des transferrines du sérum équin, déterminé par électrophorèse sur gel d'amidon, présente six phénotypes homozygotes: Tf D/D, Tf F/F, Tf H/H, Tf M/M, Tf O/O et Tf R/R (Braend et Stormont, 1964). Chaque phénotype se traduit par trois bandes; la première, anodique, très fine, est difficile à observer et ne joue pas de rôle essentiel dans la typisation phénotypique³. Elle se colore plus intensément à l'amido-black (elle contient plus de protéines) pour les phénotypes Tf D/D Tf F/F et Tf H/H que pour les trois autres phénotypes (Baer, 1968). Les deux autres bandes sont toujours bien visibles, la deuxième se colorant plus intensément et étant plus large que la troisième, de position catodique.

Comme leur nom l'indique, les transferrines sériques, β_1 -globulines, ont pour fonction de transporter le fer de ses dépôts (essentiellement le foie sous forme de ferritine) à l'hémoglobine des jeunes érythrocytes (Documenta Geigy, 1967). Ces globulines existent donc sous deux formes, les Fe-transferrines (Fe-Tf), qui forment le tiers des transferrines sériques, et les apo-transferrines (Apo-Tf) selon que le fer est lié ou non aux molécules.

Les charges électriques globales de ces deux molécules étant différentes (pH_i Apo-Tf = 5,58; pH_i Fe-Tf = 5,4 dans le cas de la transferrine humaine. Inman, 1956), les vitesses de migration électrophorétique vont aussi fluctuer, comme l'ont démontré Yoshioka et col. (1966) en utilisant un gel de polyacrylamide⁴.

En modifiant très légèrement les conditions d'électrophorèse sur gel d'amidon préconisées par Braend et Stormont (1964), il a été possible de mettre en évidence les apo-transferrines du sérum équin qui se sont avérées d'importantes sources d'erreur dans la typisation phénotypique.

Matériel et méthodes

Les sérums analysés, 270 en tout, provenaient d'origines diverses (Dépôt fédéral de la Remonte, Berne; Haras d'Avenches; région de Bellelay); ils appartenaient tous à la race helvétique du Cheval du Jura. Le sang, prélevé à la veine jugulaire, a été laissé reposer une nuit au frigidaire, puis centrifugé.

¹ Ce travail a bénéficié de l'appui du Fonds Guillebeau et de la Berner Hochschulstiftung.

² Adresse actuelle: Institut de Biochimie, Université de Neuchâtel, 2000 Neuchâtel, Suisse.

³ Braend avait déjà observé cette troisième bande pour le phénotype Tf H/H. (Cité dans «Serumgruppen bei Tieren» Buschmann et Schmied 1968, D.P. Parey Ed.)

⁴ Il est aussi possible que des modifications de structure moléculaire interviennent dans les variations de la mobilité électrophorétique.

La méthode d'électrophorèse horizontale sur gel d'amidon utilisée diffère essentiellement de celle décrite par Braend et Stormont (1964) par son gradient élevé qui est de 12 à 14 V/cm. A cet effet, deux bassins remplis de glace fondante ont été déposés sur les deux extrémités du gel (plaque de $23 \times 13 \times 0,6$ cm) recouvert d'un papier cellulosique Saran (produit par Dow Chemical, Midland, Mich.). Avec une concentration d'amidon de 13,5% (produit par Connaught Med. Res., Toronto, Canada), la température au centre de la plaque n'a jamais dépassé 20 à 25 °C après 2½ à 3 heures d'électrophorèse. Le gel, coupé en trois épaisseurs de 2 mm chacune, a été coloré dans une solution d'amido-black 10-B à 0,8%.

L'identification des transferrines fut réalisée par autoradiographie des électrophérogrammes après «marquage» des sérums avec l'isotope ^{59}Fe à raison de 0,4 $\mu\text{C}/\text{ml}$ (Giblette et col., 1959). Le fer radioactif était en solution physiologique sous forme de citrate ferrique (produit par «The Radiochemical Center», Amersham, Angleterre). L'électrophorèse une fois terminée, la plaque médiane du gel coupé, emballée dans du papier Saran, a été déposée sur un film Kodak Kodirex «no screen» durant 14 heures. Le film a été développé dans le révélateur Kodak d-19 B, à 20 °C.

Résultats

La présence de l'apo-transferrine sur un phérogramme se caractérise par un dédoublement des bandes habituelles; les bandes supplémentaires sont de migration électrophorétique catodique aux bandes principales. Leur coloration est d'autant plus prononcée que le sérum contient peu de fer et leur largeur correspond à celle des bandes normales. Les expériences qui ont établi l'identité de l'apo-transferrine ont consisté à libérer les Fe-transferrines de leur fer, puis à les saturer à nouveau avec des quantités croissantes de fer sous forme de sulfate ferreux. Les résultats ont été rapportés ailleurs (Baer, 1968).

Du point de vue de la typisation phénotypique, les dédoublements des bandes principales dus aux apo-transferrines sont sans importance pour les trois phénotypes Tf M/M, Tf O/O et Tf R/R. Leur phérogramme présente quatre bandes¹, espacées de telle façon qu'une erreur d'interprétation est impossible (fig. 1). Par contre, pour les phénotypes Tf D/D, Tf F/F et Tf H/H, dont les espaces séparant les bandes sont plus restreints que pour les trois autres phénotypes, les bandes des apo-transferrines jouent un rôle prépondérant de par leur position électrophorétique. En effet, un sérum de phénotype Tf D/D incomplètement saturé de fer (ce qui est toujours le cas dans les conditions physiologiques) peut facilement être interprété comme Tf D/F, pour les raisons suivantes: Soit Fe-Tf D₁ la bande anodique du phénotype Tf D/D et Fe-Tf D₂ respectivement la bande catodique, le front de la bande Apo-Tf D₁, de coloration plus faible, a une position très légèrement plus anodique que celle de Fe-Tf D₂, alors que la bande Apo-Tf D₂ correspond à la bande Fe-Tf F₂ du phénotype Tf F/F. Ainsi l'addition des bandes Apo-

¹ La troisième bande des phénotypes habituels, par sa faible coloration et sa mise en évidence difficile ne joue un rôle dans la typisation phénotypique que pour les sérums de mulets. Elle correspond, en effet, pour le phénotype équin Tf D/D exactement à la bande Tf D₃ du sérum asinien.

Tf D₁ + Fe-Tf D₂ correspond tant en largeur qu'en intensité de coloration aux bandes Fe-Tf D₂ + Fe-Tf F₁ du phénotype hétérozygote Tf D/F, alors que la bande Apo-Tf D₂ est indiscernable de celle de Fe-Tf F₂.

De même, l'Apo-Tf F₁ et l'Apo-Tf F₂ ayant une position presque identique aux Fe-Tf H₁ et Fe-Tf H₂, il est aussi possible de confondre l'Apo-Tf F/F avec Fe-Tf F/H (fig. 2).

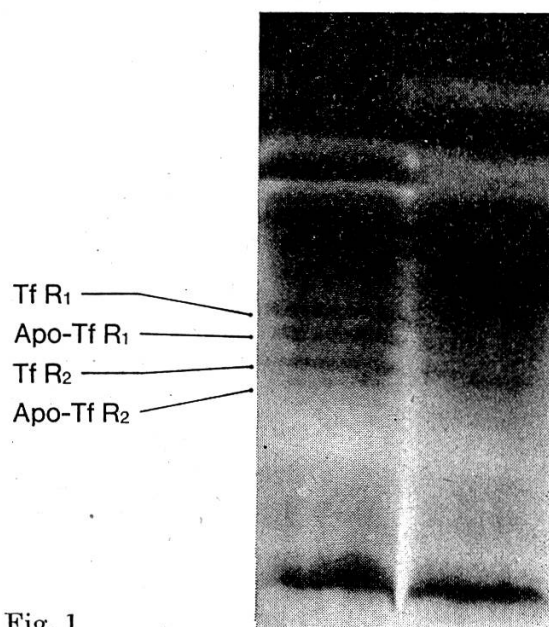


Fig. 1

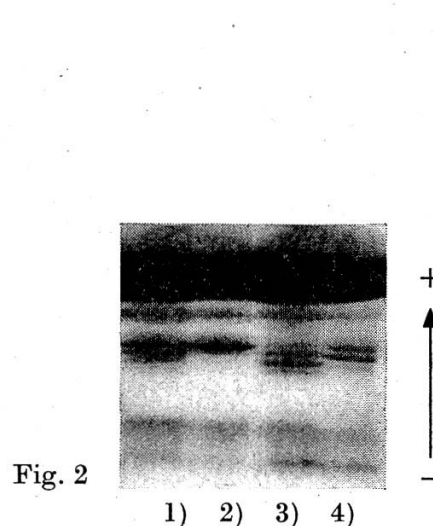


Fig. 2

Figure 1 Dédoublé de Tf R/R. Le phénotype envisagé est Tf F/R.

Figure 2 Illustration de la confusion possible entre apo-transferrines et Fe-transferrines.

- 1) Apo-Tf D/D = Tf D/F 2) Fe-Tf D/D
3) Apo-Tf D/F = Tf D/H 4) Fe-Tf D/F

Comme les gènes Tf^D et Tf^F forment à eux seuls les 50 à 75% des répartitions génotypiques des transferrines de presque toutes les populations chevalines, on comprend facilement l'importance des apo-transferrines dans une typisation systématique ou, surtout, lors d'une recherche en paternité! Les différences que cela peut occasionner sont illustrées au tableau 1.

Tableau 1 Comparaison des fréquences géniques de 270 sérums obtenues avant et après adjonction de fer.

Gène	Fréquence obtenue avant adjonction de fer	Fréquence obtenue après adjonction de fer
TfD	0,292	0,326
TfF	0,340	0,383
TfH	0,140	0,072

Discussion

L'apparition des apo-transferrines sur un électrophérogramme semble étroitement liée à la méthode utilisée. Ainsi, le Dr M. Braend qui a eu l'obligeance de typiser quelques-uns de nos sérums n'a pas observé de lignes supplémentaires, alors que le système de tampons utilisé dans les deux méthodes est identique. Il est donc probable que seul le gradient plus élevé est responsable de cette meilleure séparation électrophorétique.

D'une façon générale, nous pensons qu'il faut suspecter des erreurs de typisation dues aux apo-transferrines si les répartitions phénotypiques théoriquement attendues et celles expérimentalement trouvées sont trop divergentes pour une population génétiquement équilibrée. Ces divergences doivent être plus particulièrement prononcées pour les phénotypes où les gènes Tf^D , Tf^F et Tf^H interviennent. De même, si les répartitions de ces trois gènes sont sensiblement égales lors d'analyses systématiques de plusieurs populations chevalines indépendantes (plusieurs races, par exemple), il faut penser à des erreurs de typisation. Ainsi sommes-nous presque certain que les fréquences des gènes Tf^D , Tf^F et Tf^H que nous avons déterminées pour 320 chevaux de selle (Baer, 1967) sont en grande partie erronées car elles correspondent à peu près à celles trouvées chez le Cheval du Jura, avant adjonction de fer au sérum. Nous pensons aussi que pour toute recherche en paternité, il faut ajouter 2 à 3 γ de fer par ml de sérum avant l'analyse, quelle que soit la méthode électrophorétique utilisée. A cet effet, on peut utiliser 0,35 g de $FeSO_4(NH_4)_2SO_4 + 6H_2O$ avec 50 ml de CH_3COOH 1,0 n, dissout dans 1 litre d'aq. bidest. Cette solution contient alors 50 γ de Fe^{++} /ml.

Du point de vue physiologique, l'apo-transferrine peut rendre d'appréciables services. Elle nous a permis par exemple, de déterminer la capacité de liaison du fer de chacune des bandes d'un phénotype, à partir d'une préparation de transferrines purifiées par chromatographie et d'en déterminer le rapport Fe-Tf/Apo-Tf in vivo (Baer, 1968).

Résumé

Il a été possible, par électrophorèse sur gel d'amidon de mettre en évidence les apo-transferrines (= transferrines libres de fer). Comme la vitesse de migration électrophorétique de ces molécules est plus lente que celle des transferrines chargées de fer, des phénotypes homozygotes peuvent être typisés comme hétérozygotes. La raison en est expliquée.

Zusammenfassung

Durch Stärkegelelektrophorese war es möglich, die Apo-transferrine (= eisenfreie Transferrine) darzustellen. Da die elektrophoretische Migrationsgeschwindigkeit dieser Moleküle langsamer ist als diejenige der mit Eisen geladenen Transferrine, können homozygote Phenotypen als heterozygote typisiert werden. Der Grund dafür ist erklärt.

Riassunto

Con la elettroforesi è stato possibile individuare le Apo-transferrine (= transferrine ferroprive). Siccome la velocità di migrazione delle molecole in esame è più lenta di

quella delle transferrine caricate con ferro, è stato possibile tipizzare i fenotipi omozigoti quali eterozigoti. Ne è spiegato il motivo.

Summary

It has been possible to show the apo-transferrins (= iron free transferrins) by means of starch gel electrophoresis. As these molecules have a slower electrophoretic migration speed than the Fe-transferrins, some homozygous phenotypes could be typed as heterozygous ones. The reason of this fact is explained.

Bibliographie

Baer A.: Le polymorphisme biochimique et la recherche en paternité chez le cheval. *Schweiz. Arch. Thk.* 109, 378 (1967). – Baer A.: Le polymorphisme biochimique des transferrines chez le cheval. Quelques aspects zootechniques, biochimiques et immunologiques. Thèse de doctorat. Fac. Méd. vét. Université de Berne (1968). – Braend M. et Stormont C.: *Nord. Vet. Med.* 16, 31 (1964). – Documenta Geigy (1967) Acta clinica 7. – Giblette E., Hickmann C. et Smithies O.: *Nature* 183, 1590 (1959). – Imman J.: Studies on the purification and properties of human β^1 -metal-combining protein. Doctoral Thesis, Div. Med. Sciences, Harvard University (1956). [Cité dans Gottschalk A.: « Glycoproteins, their composition, structure and function. » Elsevier Ed. (1966). – Yoshioka R., Fuji T. et Ito Y.: *Biochem. Biophys. Res. comm.* 24, 203 (1966).]

Remerciements

Nous tenons à remercier particulièrement le Dr M. Braend, à Oslo, pour l'amical intérêt qu'il a porté à cette étude et pour la peine qu'il a prise d'analyser quelques-uns de nos sérums.

Nous remercions aussi Mlle A. Aeberhardt pour son consciencieux travail de laboratoire, ainsi que nos confrères qui ont prélevé une partie des 270 échantillons de sérum.

Der Tierarzt und die Konzentration in der Schweinehaltung. Von K. Neubrand. Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 81, 142–143 (1968).

Die Konzentration in der Schweinehaltung ist überall zu beobachten. Bestandesvergrößerungen bringen neue gesundheitliche Probleme. Die tierärztlichen Leistungen werden in den spezialisierten und rationalisierten Betrieben in die Kalkulation der Kosten miteinbezogen. Die Tendenz der Tierhalter, kranke Einzeltiere selbst zu behandeln, wird immer deutlicher. Der spezialisierte Betriebsleiter ist gezwungen, sich ein beachtliches Fachwissen auch auf dem Gebiet der Gesundheitspflege anzueignen. In solche Betriebe wird durch die Beratung von vielen Seiten eine Fülle von Meinungen und praktischen Erfahrungen getragen, so daß es der Tierarzt schwer hat, auch weiterhin *der* kompetente Fachmann in allen gesundheitlichen Fragen zu bleiben. Er ist gezwungen, sein Fachwissen auf dem neuesten Stand zu halten. Besondere Bedeutung hat die Erstellung einer umfassenden Diagnose, die durch Laboruntersuchungen und den Beizug von Spezialisten ergänzt werden soll. Neben der Bekämpfung von Bestandeskrankheiten wird vom Tierarzt vermehrte Mithilfe bei der Gesunderhaltung großer Schweineherden verlangt. Für die rasche Erkennung entstehender Krankheiten sind neben regelmäßigen klinischen Kontrollen labordiagnostische Untersuchungen erkrankter und gefallener Tiere unentbehrlich. Es wird angeregt, die tierärztlichen Befunde nach der Schlachtung als diagnostisches Instrument vermehrt auch zum Nutzen der Erzeuger auszuwerten.

H.U. Bertschinger, Zürich