

M66 194

Communications — Mededelingen

MALARIA CONGENITALE DE LA SOURIS ET ADENOSINE TRIPHOSPHATE (ATP)

par

J. GILLET, G. MARECHAL, F. HERMAN et M. VAN SCHOOR
Université Catholique de Louvain, Ecole de Santé Publique et
Faculté de Médecine, Bruxelles, Belgique

Résumé — Les souris adultes de souche TB sont très sensibles au *P. berghei*. La concentration en ATP de leurs globules rouges est de 116 mg/100 ml. Les foetus, en revanche, sont réfractaires à l'infection malarique; la concentration en ATP de leurs globules rouges est de 152 mg/100 ml la veille de la naissance, et de 438 mg/100 ml au 12^e jour de la gestation. On conclut que la résistance des foetus à la malaria ne peut s'expliquer par un taux faible d'ATP dans les globules rouges.

KEYWORDS : Malaria, Congenital; Plasmodium berghei; Adenosine Triphosphate

Au cours de recherches antérieures sur la malaria congénitale de la souris avec *Plasmodium berghei* deux d'entre nous (Gillet et Herman, 1971 a et b; 1974) ont observé que le parasite passe régulièrement le filtre placentaire depuis le 15^e jour de la gestation pour se retrouver dans un milieu foetal défavorable à son développement. Nous avons ainsi été amenés à soulever l'existence d'un facteur freinant dans le foetus la multiplication du plasmodium et expliquant la rareté des cas aigus de malaria après la naissance.

Une récente mise au point (Oelshlegel et Brewer, 1975) ayant mis l'accent sur une relation possible entre l'évolution des formes érythrocytaires de plasmodium et la teneur en adénosine triphosphate (ATP) des globules rouges, nous avons été amenés à prendre cette hypothèse en considération dans l'espoir de trouver une explication au phénomène résumé plus haut. Dans la présente recherche, nous avons dosé l'ATP dans le sang de foetus âgés de 12 à 19 jours, de souriceaux âgés de 0 à 20 jours et enfin de souris adultes de 40 jours.

Méthodes

Souris. Les souris sont de races TB dont les adultes sont particulièrement sensibles au *P. berghei* (Gillet et Herman, 1971 b).

Prélèvements. La fécondation de la souris est vérifiée par la mise en évidence de la kératinisation vaginale. Les foetus de 12 à 19 jours sont prélevés au thermocautère, en évitant soigneusement toute contamination par du sang maternel, et saignés dans un verre de montre, en prélevant le sang au cœur dans un tube hépariné. Le sang de deux à six foetus de même âge est réuni dans un échantillon afin d'obtenir une quantité

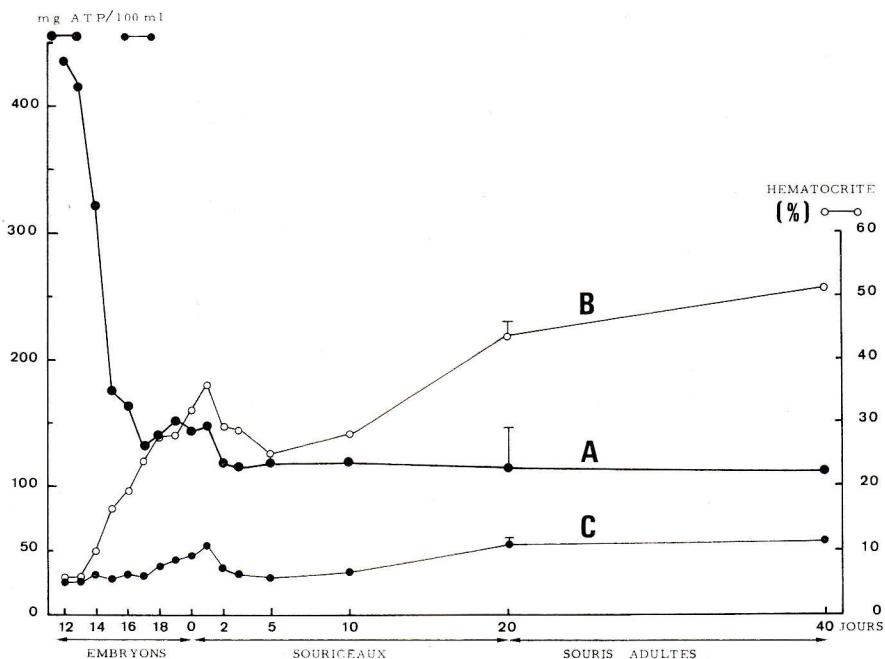
totale de sang de 30 à 50 μ l. Les souriceaux de 0 à 10 jours sont saignés au cœur. Ceux de 20 jours et les adultes sont saignés au bout de la queue. Par âge, quatre à six échantillons ont été dosés et les résultats ont été analysés par la méthode de variance classique.

Dosages. L'hématocrite est mesuré après centrifugation à 2 000 t/min pendant 5 minutes. Les globules rouges sont extraits dans l'acide perchlorique 0,6 N puis centrifugés 20 minutes à 2.000 t/min. L'ATP est dosé dans un aliquot (20 à 100 μ l) du surnageant par une méthode enzymatique (Jaworek, Gruber & Bergmeyer, 1970).

Résultats

Les moyennes de 4 à 6 dosages sont pointées à la figure 1, courbe A, en mg ATP pour 100 ml de globules rouges en regard de l'âge des sujets ayant fourni les échantillons : fœtus, souriceaux et souris adultes.

Chez ces dernières, la concentration en ATP est de 116 mg pour 100 ml de globules, valeur à considérer comme normale. La concentration intraglobulaire de l'ATP ne peut pas se calculer avec précision, puisque nous n'avons pas mesuré la teneur en eau dans les globules et que nous ignorons la répartition intracellulaire de l'ATP et en particulier la proportion d'ATP combiné. Néanmoins, si l'on admet une concentration moyenne d'eau globulaire de 65 %, et si l'on admet que la quantité d'ATP lié est négligeable, la concentration intraglobulaire d'ATP est estimée à 3,6 mMoles par litre d'eau intracellulaire.



Dosage de l'A. T. P. dans le sang des embryons, des souriceaux et des souris adultes de souche TB/ESP. (le plasma ne contenant pas d'A. T. P.).

La concentration globulaire en ATP atteint son maximum chez le fœtus âgé de 12 jours : 438 mg pour 100 ml, soit une concentration 3,8 supérieure à celle mesurée chez l'adulte (116 mg/100 ml). On remarque que la concentration globulaire en ATP diminue surtout entre le treizième jour où elle s'élève à 417 mg/100 ml et le quinzième jour où elle n'est plus que de 178 mg/100 ml; cette chute de 239 mg/100 ml en 48 heures est particulièrement brutale car cette valeur est deux fois plus élevée que la concentration en ATP trouvée chez la souris adulte (116 mg). Du 15^e jour de la gestation jusqu'au 3^e jour après la naissance, la courbe accuse des oscillations sans grande signification statistique. Il est possible que l'évolution de cette courbe s'explique par la succession de trois populations d'érythrocytes décrites (Fantoni *et al.*, 1969; Marks et Rifkind, 1972) : diminution rapide des érythroblastes embryonnaires du douzième au seizième jour, apparition puis disparition des érythroblastes fœtaux avec un maximum au dix-huitième jour et ensuite vers la fin de la période fœtale, apparition des érythrocytes d'adultes qui atteindraient leur numération normale 4 à 6 jours après la naissance.

L'hématocrite est pointé en fonction de l'âge sur la figure 1, courbe B. Il est très faible chez le fœtus de douze jours (6 %), et s'élève progressivement pendant la gestation, pour atteindre un maximum de 36 % au lendemain de la mise bas. Il diminue ensuite appréciablement jusqu'au sixième jour après la naissance, où il n'atteint plus que 25 %. Ensuite, il remonte vers la valeur de l'adulte, 51 % au vingtième jour.

Les teneurs du sang total en ATP varient d'une façon semblable à l'hématocrite (courbe C). Des mesures séparées montrent que le taux d'ATP dans le plasma est négligeable, quel que soit l'âge de l'animal. Les teneurs du sang total en ATP égalent donc simplement les produits obtenus en multipliant les concentrations globulaires par l'hématocrite. Elles montrent une évolution temporelle fort similaire à celles de l'hématocrite (courbe B).

Discussion

Pour tenter d'expliquer l'influence défavorable du milieu fœtal sur l'évolution de *P. berghei*, on pense en premier lieu au rôle possible de l'hémoglobine fœtale, hypothèse avancée dans le paludisme humain (Lehmann, 1953; Allison, 1954; Gilles, 1957).

Selon une étude de Van Ros et collaborateurs (1972), ce facteur n'interviendrait pas chez la souris dans le phénomène observé; les mêmes auteurs ont exclu une déficience en glucose-6-phosphate déshydrogénase (G-6-PD).

Selon l'hypothèse de Oelshlegel et Brewer (1975), une baisse de la concentration globulaire en ATP assurerait un certain degré de protection contre le paludisme. Les arguments en faveur de cette manière de voir sont suggestifs. Un taux initial élevé d'ATP dans les érythrocytes paraît avoir une influence significative sur la vitesse de développement des parasites de la malaria ainsi que sur la sévérité des accès tant avec *P. falciparum* chez l'homme (Brewer et Powell, 1965) qu'avec *P. cynomolgi* chez le singe (Eaton et Brewer, 1969). De même Brewer et Coan (1969) ont signalé qu'une parasitémie aiguë à *P. berghei* ou à *P. vinckei* chez le rat peut s'accompagner d'une réduction de l'ATP globulaire pouvant aller jusqu'au sixième du taux initial (de 6,67 à 1,12 micromoles d'ATP par gramme d'hémoglobine); Fletcher et collaborateurs (1970) ont relevé un

phénomène similaire chez le singe. Ces observations paraissent s'accorder avec une étude génétique de Brewer (1967 a) qui note que le taux moyen de l'ATP érythrocytaire est plus bas chez les noirs des Etats-Unis d'Amérique que chez les individus de race blanche (respectivement 3,17 et 3,47 micromoles d'ATP par gramme d'hémoglobine); les premiers, originaires d'Afrique, ont été exposés pendant des générations au paludisme qui aurait sélectionné des gènes réduisant la teneur des érythrocytes en ATP et conférant aux porteurs une certaine résistance à l'affection. Ce même facteur héréditaire expliquerait la protection contre la malaria assurée par le gène de la β -thalassémie dont les porteurs hétérozygotes ont un taux d'ATP globulaire inférieur de 16 % à la valeur normale (Brewer, 1967 b; Brown, 1976).

La résistance des foetus de souris à *P. berghei* ne peut pas s'expliquer par l'hypothèse de Oelshlegel et Brewer (1975) puisque le taux d'ATP érythrocytaire est de 1,5 à 3,8 fois plus élevé chez le foetus résistant que chez l'adulte sensible. Les facteurs intervenant dans ce phénomène restent encore à trouver.

Congenitale malaria bij de muis en adenosine trifosfaat (ATP)

Samenvatting — Volwassen TB muizen zijn zeer gevoelig t.o.v. *P. berghei*. De ATP concentratie van hun rode bloedcellen is 116 mg/100 ml. De foetussen, echter, zijn weerstandig aan malaria infectie; de ATP concentratie van hun rode bloedcellen is 152 mg/100 ml juist voor de geboorte, en 438 mg/100 ml op de 12^{de} dag van de dracht. Men concludeert dat de resistentie van de foetussen t.o.v. malaria niet kan worden uitgelegd door een gering gehalte aan ATP in de rode bloedcellen.

Congenital malaria in mice and adenosine triphosphate (ATP)

Summary — Adult TB mice are very susceptible to *P. berghei*. The ATP concentration of their erythrocytes is 116 mg/100 ml. The foetus, however are resistant against malaria; the ATP concentration of their erythrocytes is 153 mg/100 ml just before birth, and 438 mg/100 ml at the 12th day of gestation. It is concluded that the resistance of the mice foetus against malaria is not explained by a decreased level of ATP in their erythrocytes.

J. GILLET et F. HERMAN : Unité de parasitologie, Ecole de Santé Publique de l'Université Catholique de Louvain (U. C. L., Clos Chapelle aux Champs, 30 (Boite 3046), B-1200 Bruxelles, Belgique.

G. MARECHAL et M. VAN SCHOOR : Unité de physiologie générale des muscles, Faculté de Médecine de l'Université Catholique de Louvain (U. C. L.), avenue Hippocrate, 55 (boite 5530), B-1200 Bruxelles, Belgique.

Reçu pour publication le 22 novembre 1977.

REFERENCES

- Allison, A. C. (1954) : Protection afforded by sickle-cell trait against subtertian malarial infection, *Brit. Med. J.*, **1**, 290-294.
- Brewer, G. J. (1967a) : Genetic and population studies of quantitative levels of adenosine triphosphate in human erythrocytes, *Biochemical genetics* **1**, 25-34.
- Brewer, G. J. (1967b) : Metabolism of ATP in thalassemic and iron-deficient erythrocytes. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, **70**, 1016.
- Brewer, G. J. & Powell, R. D. (1965) : A study of the relationship between the content of adenosine triphosphate in human cells and the course of falciparum malaria : a new system that may confer protection against malaria. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, **54**, 741-745.
- Brewer, G. J. & Coan, C. C. (1969) : Interaction of red cell ATP levels and malaria and the treatment of malaria with hyperoxia, *Military Medicine*, **134**, 1056-1067.
- Brown, K. N. (1976) : Resistance to malaria. In « Immunology of parasitic infections, 269-295, ed. by Cohen, S. & Sadun, E. Blackwell Scientific Publications, London.
- Eaton, J. W. & Brewer, G. J. (1969) : Red Cell ATP and Malaria Infection, *Nature* **222**, 389-390.

- Fantoni, A. A. de la Chapelle, O., Chui, R. A., Rifkind, R. A. & Marks, P. A., (1969) : Control mechanisms of the conversion from synthesis of embryonic to adult Hb. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **165**-194.
- Fletcher, K. A., Fielding, C. M. & Maegraith, B. G. (1970) : Studies on the role of adenosine phosphates in erythrocytes of *Plasmodium*. *Annals of Tropical Medicine & Parasitology*, **64**, 487-496.
- Gilles, H. M., (1957) : The development of malarial infection in breast-fed gambiai infants. *Ann. Trop. Med. Parasit.*, **51**, 58-62.
- Gillet, J. & Herman, F. (1971a) : Sur l'évolution de *Plasmodium berghei berghei* chez l'embryon de la souris. *C. R. Soc. Biol.*, **165**, 2029-2030.
- Gillet, J. & Herman, F. (1971b) : Observation sur l'évolution de la malaria du rongeur (*P. berghei berghei*) dans l'embryon de la souris, études longitudinale et transversale. *Ann. Soc. belge Méd. Trop.*, **51**, 655-678.
- Gillet, J. & Herman, F. (1974) : Recherche sur le paludisme congénital de la souris avec *Plasmodium berghei berghei*. Passage transplacentaire du parasite et son évolution. *Bull. O. M. S.*, **51**, 385-398.
- Jaworek, D., Gruber, W. & Bergmeyer, H. V. (1970) : « ATP bestimmung mit 3-Phosphatglycerat kinase » in « methoden der Enzymatischen Analyse », H. V. Bergmeyer Ed. Verlag Chemie p. 2020-2024.
- Lehmann, H. (1953) : Sick-cell anaemia. *Brit. Med. J.*, **2**, 1217.
- Marks, P. A. & Rifkind, R., (1972) Protein synthesis : its control in erythropoiesis, *Science*, **175**, 955.
- Oelshlegel, F. J. Jr. & Brewer, G. J. (1975) : Parasitism and the red blood cell, in « The red blood cell », 2d ed. vol. II, 1263-1302, ed. by Surgenor, D. M. N. Academic Press, London.
- Van Ros, G., Gillet, J., Deville, J., Vervoort, T. & Herman, F. (1972) : Hémoglobines et glucose-6-phosphate déshydrogénase de l'embryon de souris de souche GIF/TB partiellement résistant au paludisme expérimental à *Plasmodium berghei berghei*. *Ann. Soc. belge Méd. Trop.*, **52**, 515-530.