

(LABORATOIRE DE BACTÉRIOLOGIE MÉDICALE DE L'UNIVERSITÉ.
DIRECTEUR: M. C.-J. SALOMONSEN)

RECHERCHES EXPÉRIMENTALES SUR LA SENSIBILISATION OPTIQUE DU PROTOPLASMA

PAR

OLAV HANSSSEN (CHRISTIANIA)

L'influence physiologique des radiations du spectre sur les organismes unicellulaires a été l'objet de nombreuses recherches; nous faisons allusion aux travaux publiés par MM. Downes et Blunt, Marschall, Ward, Engelmann, Finsen, Hertel, Bie, Dreyer et par d'autres encore.

L'un des principaux résultats obtenus par ces recherches consiste dans la vérification de ce fait que l'influence délétère des rayons augmente avec l'indice de réfraction et devient surtout manifeste dans la région des rayons violets et ultra-violets.

A cette règle il y a toutefois des exceptions singulières; citons à titre d'exemple les résultats qu'a obtenus M. G. Dreyer par ses recherches sur les Infusoires¹. Tandis que certains de ces animaux se montraient excessivement sensibles à l'action des rayons ultra-violets, il y en avait d'autres qui n'étaient pas beaucoup plus influençables par l'ultra-violet que par le jaune ou par le jaune vert à grande longueur d'onde. C'est ce qui ressort du tableau suivant où on a choisi pour unité le temps fatal par éclaircissement à travers du cristal de roche.

¹ G. Dreyer, Undersøgelser over lysets indvirkning på Infusorier. Meddelelser fra Finsens Lysinstitut, t. VII, 1903.

Infusoire	Cristal de roche	Verre incolore	Verre bleu	Chromate de potasse à 5%
J	1 :	2 :	3 :	7
H	1 :	5 :	8 :	42
G	1 :	20 :	30 :	
B	1 :	120 :	180 :	

D'ailleurs on a constaté quelquefois dans une même espèce d'Infusoires des variations, non seulement absolues mais relatives, de la sensibilité aux diverses qualités de lumière.

La cause de ces variations singulières n'a pas jusqu'ici fait l'objet de recherches approfondies.

Par contre on a consacré des études assez détaillées aux modifications déterminées dans la sensibilité du protoplasma par le traitement avec diverses substances fluorescentes.

Nos premières notions sur l'action et sur la nature de ces substances sont dues à M. Tappeiner et à ses élèves qui ont recueilli des matériaux considérables pendant plusieurs années de recherches continues¹. Mais c'est à M. Dreyer² que revient l'honneur d'avoir donné l'explication de ce phénomène en l'interprétant comme un processus de sensibilisation. Nous renvoyons au mémoire où M. Dreyer a rendu compte de ses recherches faites à l'Institut Finsen.

Les pages qui suivent contiennent les résultats de recherches entreprises à l'instigation de M. Dreyer, actuellement professeur à Oxford. Je tiens à lui exprimer ici ma reconnaissance pour l'aide qu'il m'a fournie et pour l'intérêt qu'il a bien voulu me témoigner.

Mes études ont porté sur l'influence exercée par les diverses radiations lumineuses sur des organismes sensibilisés ou laissés à l'état normal. Les animaux en expérience étaient

¹ Tappeiner und Jodlbauer, Die sensibilisierende wirkung fluorescierenden substanzen. Gesammelte untersuchungen über die photodynamische erscheinung. Leipzig 1907.

² Dreyer, Sensibilisering af Mikroorganismer og dyriske Væv. Meddelelser fra Finsens Lysinstitut. T. VII. 1903.

des Daphnies. En vue des comparaisons à établir je communique en outre quelques expériences sur les réactions de *Nassula* et de Paramécies normales et sensibilisées.

Comme source de lumière je me servais d'une lampe électrique à arc de charbon. La lumière était concentrée à l'aide d'un concentrateur Finsen-Reyn à lentilles de cristal de roche. Le courant de la lampe était de 20 ampères et de 50 volts.

La chambre où se trouvaient les Daphnies éclairées était formée de deux lames de quartz à surface plane, appliquées aux deux bords d'un mince anneau de liège. L'ouverture de l'anneau, qui était placée dans le champ éclairé, mesurait 1^{cm} de diamètre; la profondeur de la chambre était de 3^{mm}.

La chambre était disposée perpendiculairement à la direction des rayons et au-delà de leur foyer, à l'endroit où le diamètre du cône lumineux atteignait 1^{cm.5}.

Pendant l'éclairement la chambre était continuellement arrosée d'eau afin d'éviter les effets de la chaleur.

L'éclairement a eu lieu soit à travers le seul cristal de roche — on obtenait ainsi, en plus des effets du spectre visible, ceux des radiations ultra-violettes —, soit à travers plusieurs filtres absorbant des régions différentes du spectre visible.

Les filtres, qui étaient des chambres à lames plan-parallèles disposées à un centimètre l'une de l'autre, étaient remplies de divers liquides absorbants (voir ci-dessous). Ils étaient placés dans la partie du cône lumineux qui se trouvait comprise entre le concentrateur et la chambre à Daphnies, et étaient constitués par

du verre incolore (dans ce cas le filtre était rempli d'eau), qui absorbait les radiations les plus extérieures de l'ultra-violet;

une solution de sulfate de nickel à 5 % absorbant tous les rayons ultra-violet et un petit nombre des rayons violets visibles;

une solution ammoniacale de sulfate de cuivre à 3 %, transparente au violet bleu, au bleu et à quelques-uns des rayons vert jaunâtre;

une solution de chromate de potasse à 5 %, transparente aux rayons rouges, orangés, jaunes et jaune verdâtre; et enfin

une solution de bichromate de potasse à 5 %, transparente au rouge, à l'orangé et au jaune.

L'intensité des diverses radiations employées n'a pas été déterminée. Le nombre de Daphnies observées dans chaque essai était de 4 à 6. Comme terme du temps fatal on notait le moment où tout mouvement avait cessé. Les temps fatals indiqués dans les tableaux sont les moyennes de plusieurs temps observés.

Voici les résultats obtenus:

Dans les cas où l'éclairement se fait à travers du cristal de roche, on observe après un temps d'induction de quelques secondes seulement des symptômes d'excitation manifestes: Les Daphnies qui, avant l'éclairement, sautillent tranquillement dans la chambre, vont et viennent maintenant, animés de mouvements vifs, leurs pattes et leurs antennes s'agitant sans cesse.

Après quelques minutes on observe des symptômes de paralysie; les Daphnies descendent lentement jusqu'au fond; elles esquissent de temps en temps un saut vers la surface de l'eau et agitent toujours les antennes, les pattes et la queue jusqu'à ce que, après 4 ou 5 minutes, tout mouvement ait définitivement cessé.

En interrompant l'éclairement avant que les effets de la paralysie se soient produits, on verra les effets de l'excitation se continuer pendant quelque temps.

Et si ensuite les Daphnies sont éclairées à travers les divers filtres ci-dessus énumérés, on obtiendra une excitation encore distincte, quoique beaucoup plus faible, par suite d'éclairéments passant par du verre et du sulfate de nickel;

la lumière passant par le sulfate de cuivre déterminera un effet juste assez fort pour être aperçu, tandis que celle qui aura passé par du chromate ou du bichromate de potasse n'aura pas d'effet appréciable.

Cette différence entre les excitations provoquées par les divers rayons du spectre nous était déjà connue par des travaux antérieurs. Elle s'explique d'un côté par l'apport, dans les animaux traités, de quantités lumineuses différentes — que ce soit d'ailleurs le nombre des radiations parvenues aux animaux, qui varie, ou bien que l'absorption des radiations s'y fasse plus ou moins complètement. D'un autre côté on pourrait peut-être l'attribuer à la dissemblance des effets physiologiques produits par les diverses régions du spectre.

En entreprenant les expériences dont je vais rendre compte au chapitre suivant je me suis proposé d'obtenir des effets de plus en plus intenses en augmentant non pas la quantité lumineuse mais la sensibilité des Daphnies en expérience par l'addition de certaines substances sensibilisatrices.

Ce procédé a donné de très bons résultats. Les Daphnies, qui ne mouraient qu'après 4 heures d'éclairement à travers un filtre à sulfate de cuivre, succombaient au bout de 3 minutes dans les cas où l'on avait ajouté à l'eau où elles se trouvaient une solution de dichloranthracènedisulfouate de sodium. Les Daphnies sensibilisées à l'aide du bleu de méthylène mouraient après 3 minutes d'éclairement à travers du bichromate de potasse, tandis qu'à l'état non sensibilisé elles supportaient 8 heures d'éclairement à travers le même filtre.

En éclairant les Daphnies sensibilisées par des radiations différentes du spectre, on observera que, conformément à ce qui est le cas pour les Daphnies normales, il ne se produit d'action excitatrice prononcée que par suite d'éclaircements passant par du cristal de roche, du verre ou du sulfate de nickel.

Ce résultat présente des analogies frappantes avec celui

qu'a obtenu M. Hertel¹ par ses recherches sur la fonction locomotrice de la lumière dans les larves des *Loligo* et des Tritons. Ici les radiations ultra-violettes étaient seules susceptibles de déterminer des mouvements locomoteurs; les radiations bleues et jaunes se montraient dépourvues de cette propriété malgré l'influence si forte et si caractéristique qu'elles exercent sur les chromatophores.

M. Hertel en conclut que l'effet provoqué par les radiations ultra-violettes consiste en des mouvements réflexes qui n'impliquent pas l'intervention des chromatophores mais seulement l'absorption, dans les nerfs, des radiations ultra-violettes.

M. Steinach² de son côté tire de ses études sur la fonction locomotrice de la lumière chez les Céphalopodes cette conclusion que l'*irritamentum* moteur est mis en jeu dans les chromatophores.

En considérant les résultats déjà acquis j'ai été amené à attribuer l'absence d'effet exciteur des radiations rouges, jaune-vert et bleues, appliquées aux Daphnies sensibilisées, à la distribution particulière du pigment dans l'organisme.

Aux cas où ces radiations traverseraient l'appareil musculo-nerveux sans y être retenues, aussi bien que dans ceux où elles n'y arriveraient pas du tout par voie réflexe ni autrement, les mouvements de l'animal n'auraient pas un caractère plus vif que d'ordinaire.

La réaction par augmentation de l'agilité était donc tout indiquée comme moyen de constater la répartition des divers pigments dans les Daphnies. Cependant, les expériences effectuées avec les substances sensibilisatrices ci-dessous indiquées n'ont pas abouti à la découverte de différences bien marquées.

¹ Hertel, Einiges über die bedeutung des pigmentes für die physiologische wirkung der lichtstralen. Zeitschrift für allgemeine physiologie. 1906.

² Steinach, Ueber die locomotorische funktion des lichts bei Cephalopoden. Pflügers Archiv, 87, 1901.

II.

Malgré les nombreuses recherches qu'on a consacrées à l'action des substances sensibilisatrices, le nombre est assez restreint de celles qui ont eu pour objet la connaissance exacte de l'influence exercée par les diverses radiations du spectre sur les organismes sensibilisés. Rappelons, à côté des expériences de M. Dreyer¹ sur la sensibilisation des *Nassula* et du *Bacillus prodigiosus*, les recherches si précises que M. Hertel² a consacrées à ce genre de questions.

M. Tappeiner et ses élèves n'ont contribué à l'étude de ce problème que par un assez petit nombre d'essais peu complets.

Dans les pages qui suivent je vais rendre compte d'essais qui ont eu pour but de déterminer les temps fatals pour les Daphnies — sensibilisées et non sensibilisées — exposées aux diverses radiations du spectre.

Les substances dont j'ai étudié les effets sont les suivantes: dichloranthracènedisulfouate de sodium; hydrochlorate d'hydrastine; éosine; érythrosine; rose bengale; bleu de méthylène; rouge neutre; nigrosine.

Les solutions employées étaient toutes assez étendues pour que la possibilité d'un effet toxique pût être considérée comme exclue. Placées à l'obscurité les Daphnies vivaient dans ces solution aussi longtemps que dans l'eau ordinaire.

Comme les différentes solutions ne représentent pas les concentrations optimum au point de vue de la sensibilisation, les résultats obtenus ne nous renseignent pas sur la puissance sensibilisatrice relative des substances.

Quant aux régions du spectre qu'absorbent les différentes solutions, c'étaient pour le dichloranthracènedisulfouate de sodium au $1/10,000^e$ et pour l'hydrochlorate d'hydrastine au $1/100,000^e$ les radiations ultra-violettes et violettes.

L'éosine au $1/40,000^e$ absorbe la partie du spectre qui s'étend

¹ l. c. ² l. c.

depuis le vert inclusivement jusque dans le violet. L'action des radiations va diminuant dans le même sens.

L'érythrosine au $1/80,000^e$, le jaune vert et toutes les nuances du vert.

Le rose bengale au $1/200,000^e$, depuis le milieu du jaune jusqu'au milieu du vert.

Le rouge neutre au $1/20,000^e$, depuis le jaune jusqu'à l'ultra-violet.

Le bleu de méthylène au $1/20,000^e$, le rouge tout entier et le commencement du jaune.

Les résultats des recherches se trouvent indiqués dans le tableau suivant (I) et dans les planches I—II.

Tableau I.

Filtre	Durées fatales pour les				
	Normales	Sensi-			
		Dichloranthra- cènesulfouate de sodium $1/10,000$	Éosine $1/40,000$	Érythrosine $1/80,000$	Rose bengale $1/200,000$
Cristal de roche ..	4 m.	$1\frac{1}{4}$ m.	$3\frac{1}{2}$ m.	2 m.	$1\frac{1}{2}$ m.
Verre	30 m.	$1\frac{1}{2}$ m.	9 m.	6 m.	$5\frac{1}{2}$ m.
NiSO ₄ à 3 %	100 m.	3 m.	12 m.	7 m.	6 m.
CuSO ₄ à 3 %	plus de 4 h.	3 m.	35 m.	27 m.	35 m.
K ₂ CrO ₄ à 5 % ...	plus de 6 h.	plus de 6 h.	15 m.	10 m.	7 m.
K ₂ Cr ₂ O ₇ à 5 % ...	plus de 8 h.	plus de 8 h.	20 m.	15 m.	12 m.

Il résulte du tableau I et des planches I—II que les substances sensibilisatrices employées se répartissent d'après leurs effets en 4 groupes différents.

Le groupe 1 se compose du dichloranthracènesulfouate de sodium et de l'hydrochlorate d'hydrastine.

Les durées fatales pour les Daphnies sensibilisées à l'aide de la première de ces deux substances ne diffèrent pas, dans le cas d'éclairement par radiations vertes, jaunes et rouges, de celles notées pour les Daphnies traitées dans l'eau pure.

Mais éclairées à travers du sulfate de cuivre les Daphnies placées dans du dichloranthracènedisulfouate de sodium meurent au bout de 3 minutes tandis qu'éclairées de même les Daphnies laissées dans l'eau pure ne meurent qu'après plus de 4 heures.

L'hydrochlorate d'hydrastine détermine également une augmentation faible, il est vrai, mais certaine de la sensibilité au violet bleu. Son action est trop peu prononcée pour se faire sentir par éclairement à travers du verre et du cristal de roche.

Le second groupe est représenté par le bleu de méthylène qui rend très sensible aux radiations rouges. Traitées avec

cette substance les Daphnies, qui dans l'eau pure ne sont pas tuées par 8 heures d'éclairement à travers le bichromate de potasse, meurent après 3 minutes de cet éclairement.

Avec éclairement à travers du sulfate de cuivre, substance opaque aux rayons rouges, la durée fatale pour les Daphnies sensibilisées comme les

précédentes est sensiblement la même que pour les Daphnies normales.

Au troisième groupe appartiennent l'éosine, l'érythrosine, le rose bengale et le rouge neutre qui rendent sensible au vert et au vert jaune. Il en résulte dans les courbes une montée déterminée par le CuSO_4 qui ne laisse passer que peu de radiations vert-jaune comparativement aux filtres NiSO_4 et K_2CrO_4 .

Daphnies sensibilisées			
Rouge neutre $1/500,000$	Bleu de méthylène $1/11,000,000$	Hydrochlorate d'hydrastine $1/100,000$	Nigrosine $1/100,000$
2 m.	2 m.	4 m.	4 m.
2 $\frac{1}{2}$ m.	2 $\frac{1}{2}$ m.	30 m.	30 m.
3 m.	3 m.	60 m.	90 m.
16 m.	plus de 3 h.	75 m.	plus de 4 h.
5 m.	3 m.	plus de 6 h.	plus de 6 h.
10 m.	3 m.	plus de 8 h.	plus de 8 h.

Le quatrième groupe est représenté par la nigrosine qui ne semble exercer aucune action sensibilisatrice sur les Daphnies.

Pour faciliter les comparaisons on a réuni dans la planche I les courbes des Daphnies normales et celles des Daphnies sensibilisées par le dichloranthracènedisulfouate de sodium, par le bleu de méthylène ou par l'érythrosine.

Dans les planches I—II la courbe placée en haut est toujours celle des durées fatales pour les Daphnies normales.

Que si l'on compare les résultats obtenus par les différentes expériences de sensibilisation avec la situation des raies d'absorption des matières colorantes, on ne tardera pas à constater une étroite relation entre la région absorbée et l'action exercée par les radiations.

Les régions du spectre auxquelles étaient exposées les Daphnies étaient trop étendues et trop mal délimitées pour nous permettre une analyse plus approfondie du rapport qui existe entre l'étendue de la sensibilisation et celle de l'absorption.

Le mémoire de M. Hertel dont je viens de parler fournit, sur l'action de l'éosine et sur celle de l'érythrosine quelques renseignements exacts. Voir le tableau que nous reproduisons ci-contre :

Solution neutre d'éosine au $1/1200^e$. Absorption de 538 à 470 $\mu\mu$. Solution d'érythrosine au $1/6000^e$. Absorption de 526 à 485 $\mu\mu$.

Essais sur Paramécies				
Longueur d'onde des radiations	Avec éosine	Sans éosine	Avec érythrosine	Sans érythrosine
518 $\mu\mu$.	mort après 2—3 m.	pas de changement après $1/4$ h.	mort après 3 m.	pas de changement après 15 m.
448 $\mu\mu$.	pas de changement après $1/4$ h.	<i>idem</i>	pas de changement après 15 m.	<i>idem</i>
280 $\mu\mu$.		mort après 2 m.		mort après 2 m.

Ces recherches ne nous indiquent pas si le maximum de sensibilisation coïncide avec le maximum d'absorption. On sait que tel n'est pas le cas pour la sensibilisation photographique où le maximum d'action se trouve déplacé vers la région rouge du spectre.

M. H.-W. Vogel¹ explique ce fait par le plus grand pouvoir réfringent de l'agent (collodium) et il invoque à l'appui de son hypothèse la loi de Kundt d'après laquelle les raies d'absorption se rapprochent de la région rouge du spectre à mesure qu'augmente le pouvoir réfringent de l'agent.

Étant donné la nature colloïdale du protoplasma et le pouvoir réfringent considérable des albumines, il me paraît fort probable que cette loi préside également à la sensibilisation physiologique.

Certains résultats obtenus par voie expérimentale peuvent s'interpréter dans le même sens.

M. Dreyer² a constaté par exemple, en éclairant des bactéries sensibilisées à l'érythrosine par des radiations réfractées par un prisme de quartz, que l'action du jaune vert aussi bien que celle du jaune peut être délétère.

Les résultats ci-dessus rapportés d'expériences sur l'action sensibilisatrice du dichloranthracènesulfate de sodium et sur celle de l'hydrochlorate d'hydrastine dans le cas d'éclairage par radiations bleues-violettes, sont favorables à cette hypothèse.

Parmi les substances employées, la nigrosine était seule non-fluorescente en solution aqueuse. Elle seule s'est encore montrée dépourvue de puissance sensibilisatrice. En cela il y a analogie entre la nigrosine et la fuchsine, qui a d'ailleurs cette autre ressemblance avec la nigrosine de sensibiliser la plaque photographique.

M. Tappeiner est d'avis qu'il existe entre l'absence de

¹ Cité dans: Eder, Die chemischen wirkungen des farbigen lichts, 1879, p. 28. ² l. c.

puissance sensibilisatrice, qu'on a constatée dans ces deux substances, et leur manque de fluorescence une connexion étroite qui distinguerait selon lui la sensibilisation biologique de celle que nous rencontrons dans la photographie.

Contre cette manière de voir on pourrait objecter qu'en raison de sa dépendance de l'agent la fluorescence n'est pas regardée ordinairement comme une propriété inhérente aux substances. Plusieurs substances qui ne présentent pas de fluorescence dans une solution aqueuse en ont au contraire dans les solutions influides; c'est le cas pour les gélatines par exemple.

Ce phénomène n'est donc pas assez distinctement délimité pour être employé comme principe de classification dans une analyse théorique.

Ajoutons qu'il n'y a pas de rapport constant entre l'intensité de la fluorescence et la puissance sensibilisatrice. Il existe des substances dont l'action sensibilisatrice est très forte, tandis qu'elles n'ont qu'une fluorescence faible, et réciproquement.

Pour certains groupes, et notamment pour la série des fluorescéines M. Tappeiner a tâché de démontrer que l'action sensibilisatrice augmente à mesure que diminue la fluorescence.

Nous ferons remarquer que d'après des recherches faites par M. Tappeiner lui-même l'hypothèse d'un tel parallélisme n'a pas de fondement suffisant dans la réalité; en outre les expériences de M. Busck¹ font voir que la règle en question ne s'applique pas à tous les termes de la série des fluorescéines.

Enfin les expériences sur lesquelles s'appuie M. Tappeiner ne sont pas assez exactes pour fournir les matériaux d'une démonstration probante.

En effet les substances examinées donnent des raies d'absorption différentes, en d'autres termes: les radiations actives

¹ G. Busck: Die Photobiologische sensibilisation und ihre eiweissverbindungen. Biochemische Zeitschrift. I. 1906.

sont situées dans des régions différentes du spectre; il s'ensuit qu'en éclairant d'un jour diffus les animaux sensibilisés la quantité d'énergie apportée différera d'après la situation des raies d'absorption, et tout calcul direct de la puissance sensibilisatrice relative des diverses substances donnera des résultats inexacts.

Quant à la relation entre la sensibilisation physiologique et la sensibilisation photographique, le peu que nous savons sur la nature de ce dernier phénomène après tant d'années écoulées depuis la découverte de Vogel, ne nous permet pas de nous prononcer là-dessus.

Nous ignorons par exemple pourquoi les diverses substances sensibilisatrices agissent différemment sur l'iodure, le bromure et le chlorure d'argent et, au fond, c'est là un fait tout aussi étonnant que l'impossibilité de sensibiliser la plaque photographique à l'aide du dichloranthracènedisulfouate de sodium ou des autres sensibilisateurs biologiques.

En constatant des ressemblances entre deux processus encore inconnus, il est plus prudent d'en conclure à une analogie qu'à l'identité complète.

Et rien ne nous empêche de considérer les deux processus en question comme analogues.

Dans un travail publié il y a quelques années M. Tappeiner repousse l'explication de ces phénomènes par l'hypothèse d'une sensibilisation. Il allègue contre cette théorie que les Paramécies ne sont pas tuées ni les Ferments détruits par des éclaircissements prolongés de radiations à ondes longues.

M. Busck¹ a fait remarquer que cette objection était basée sur des résultats fautifs, dus à une technique défectueuse.

Pour éclaircir la question nous donnons ci-contre les tableaux II et III et la planche IV. On remarquera que les courbes des temps fatals notés pour les Infusoires ne divergent pas beaucoup de celles obtenues pour les Daphnies.

¹ l. c.

Tableau II.

Filtres	Temps fatals pour les <i>Nassula</i>		
	Normaux	Sensibilisés	
		Érythrosine au $\frac{1}{400,000}^e$	Rose bengale au $\frac{1}{4,000,000}^e$
Cristal de roche	40 sec.	24 sec.	22 sec.
Verre	2 $\frac{1}{2}$ m.	40 sec.	45 sec.
NiSo ₄ à 3 0/0	4 m.	75 sec.	75 sec.
CuSo ₄ à 3 0/0	20 m.	12 m.	12 m.
K ₂ CrO ₄ à 5 0/0	50 m.	3 m.	4 m.
K ₂ Cr ₂ O ₇ à 5 0/0	80 m.	4 m.	4 m.

Tableau III.

Filtres	Temps fatals pour les Paramécies	
	Normales	Sensibilisées par le dichlor- anthracènedisulfouate de sodium au $\frac{1}{1,000,000}^e$
Cristal de roche	30 sec.	8 sec.
Verre	3 m.	8 sec.
NiSo ₄ à 3 0/0	6 m.	25 sec.
CuSo ₄ à 3 0/0	14 m.	25 sec.
K ₂ CrO ₄ à 5 0/0	50 m.	plus de 12 m.

A la suite de ses recherches sur le rôle joué par l'oxygène dans l'action des substances photodynamiques, M. Tappeiner a obtenu des résultats qui se trouvent, sur un point déterminé, en désaccord avec l'hypothèse qui voit dans ces processus des cas de sensibilisation optique. M. Tappeiner adopte la classification déjà employée par d'autres auteurs (voir par exemple les travaux de M. Bie¹ sur l'action bactéricide de la lumière) en établissant dans le cas des ferments deux sortes d'influences exercées par les radiations lumineuses sur les organismes. L'une de ces catégories d'influence aurait pour condition nécessaire la présence de l'oxygène. Elle se trouverait renforcée par l'action concomitante de substances photo-

¹ Bie, Om lysets virkning paa bakterier. Eksperimentelle undersøgelser. Thèse. Copenhague, 1903.

dynamiques. Cette influence est caractéristique de toute lumière exempte de radiations ultra-violettes. L'autre, celle des radiations ultra-violettes, ne serait pas nécessairement conditionnée par l'oxygène et, comme on pouvait s'y attendre dans ces circonstances, elle ne serait pas augmentée par l'application de substances photodynamiques. Mais si nous considérons les expériences sur lesquelles on a basé la théorie de l'indispensabilité de l'oxygène pour la sensibilisation par radiations ultra-violettes, leur force démonstrative ne semble pas très grande. Les substances sensibilisatrices employées dans ces essais étaient l'éosine et le dichloranthracènedisulfouate de sodium, „zwei fluorescierende stoffe, deren absorption im ultra-violetten gebiet bekannt ist“. Quant à l'éosine, rien ne prouve que cette substance rende les organismes sensibles à l'influence des radiations ultra-violettes. Le fait qu'elle absorbe des radiations appartenant à cette région du spectre n'est pas une preuve suffisante, car il se pourrait très bien qu'une substance qui absorbe des radiations appartenant à deux parties différentes du spectre ne rende sensible qu'à l'un de ces deux groupes de radiations. Ainsi l'éosine renforce peut-être seulement l'action du vert jaune tout en absorbant simultanément des radiations ultra-violettes¹. Pour ce qui est du dichloranthracènedisulfouate de sodium, j'ai fait observer plus haut qu'il faut compter avec la possibilité que cette substance exerce son maximum de sensibilisation vis-à-vis des radiations comprises dans la partie visible du spectre. Donc tout ce que nous pouvons conclure des essais en question c'est que les radiations visibles du spectre n'agissent sur les organismes qu'en présence de l'oxygène. Pour obtenir des essais parfaitement convaincants il faudrait opérer avec des

¹ D'après une communication que nous devons à l'obligeance de M. Odin Christensen, professeur à l'Ecole Supérieure d'Agriculture à Copenhague, le liquide de Fehling absorbe des rayons rouges aussi bien que des rayons ultra-violetts, et cependant cette dernière radiation produit seule une action photo-chimique (réduction).

substances sensibilisatrices dont les régions d'absorption et de sensibilisation fussent toutes deux contenues dans la partie ultra-violette du spectre.

L'action des substances fluorescentes sur la toxine de la diphtérie a été étudiée par MM. Jodlbauer et Tappeiner¹. Leurs recherches ont donné pour résultat que la réaction photodynamique détruit plus promptement le groupe toxophore que le groupe haptophore, et les auteurs voient dans ce fait „ein neues hilfsmittel für das studium der immunitetsreaktionen“. Ils écartent l'explication qui me paraît la plus probable, à savoir que la toxine n'avait pas été entièrement détruite et que c'est le reste injecté qui avait déterminé la formation de l'antitoxine.

Tout récemment M. Dreyer et l'auteur de la présente étude ont démontré² que la destruction, par radiations lumineuses, des toxines, ferments, glycosides et anticorps n'est jamais complète et qu'elle s'opère suivant la formule de la réaction monomoléculaire $\frac{dx}{dt} = k(a - x)$. Que cette formule soit également valable pour la destruction des organismes par sensibilisation, c'est ce que nous avons démontré par nos expériences relatives à l'action du vert jaune sur les hématies sensibilisées par l'éosine³. Dans les résultats obtenus il n'y a rien qui nous autorise à dire que le groupe toxophore soit plus vite détruit par la réaction photodynamique que le groupe haptophore. Ici comme ailleurs la réaction dite photodynamique s'est trouvée être une simple réaction contre les radiations lumineuses.

Somme toute, je ne trouve rien qui puisse être invoqué en faveur de cette assertion faite, en 1904, par M. Tappeiner: „Es ist offenbar eine ganz neue wirkung welche beim zusatz

¹ l. c., p. 135.

² Georges Dreyer et Olav Hansen, Recherches sur les lois de l'action de la lumière sur les glycosides, les enzymes, les toxines, les anticorps. C. R. de l'Académie des Sciences, 1907.

³ Georges Dreyer et Olav Hansen, Sur la loi de la vitesse d'hémolyse des hématies sous l'action de la lumière, etc. Comptes rendus, 1907.

des eosins, bzw. anderer analoger stoffe zur geltung kommt“. Et d'autre part je ne trouve pas de faits contraires à l'hypothèse qui voit dans la sensibilisation physiologique et la sensibilisation photographique des processus analogues, en entendant par sensibilisation une susceptibilité augmentée vis-à-vis des radiations du spectre auxquelles les objets étaient peu ou point sensibles avant la sensibilisation.

III.

Une question qu'on ne saurait passer sous silence quand on veut faire l'analyse du mécanisme de la sensibilité est celle de la *résorption* des substances sensibilisatrices.

Il y a plusieurs années MM. Jodlbauer et Tappeiner ont insisté sur l'importance de ce facteur pour la faculté élective des Bactéries et des Mucédinées vis-à-vis des divers sensibilisateurs.

Les matériaux utilisés dans l'exposé ci-dessus fournissent un nouvel exemple de cette propriété élective: ils montrent que l'hydrochlorate d'hydrastine, substance agissant fortement sur les Paramécies d'après MM. Jodlbauer et Tappeiner, n'a sur les Daphnies qu'une action juste assez forte pour être aperçue.

Il est vrai qu'on peut aussi s'expliquer ce phénomène par la présence dans le protoplasma d'une acidité déterminée ou d'autres substances qui en empêcheraient la sensibilisation, comme l'action sensibilisatrice de l'éosine sur les plaques au iodo-bromure d'argent est neutralisée par l'addition d'un acide.

L'examen microscopique des organismes sensibilisés: Daphnies, *Nassulae* ou Paramécies, ne donne pas de renseignements positifs, les cellules ne laissant paraître les colorations qu'à l'état mort ou mourant.

Notons, à titre d'exceptions, le rouge neutre et le bleu de méthylène, matières colorantes agissant sur les organismes vivants, qui teignent les granules du contenu cellulaire chez les Infusoires aussi bien que ceux de certains groupes de

cellules chez les Daphnies: épithélium de l'intestin, foie, épithélium de la glandule de la carapace, branchies.

Il semble toutefois que les résultats suivants, obtenus par mes essais, doivent être interprétés comme des cas de résorption.

Expérience I: 1) Les Daphnies maintenues à l'obscurité pendant 72 heures dans une solution de bleu de méthylène au $1/1,000,000^e$ mouraient après 3 minutes d'éclairement à travers un filtre $H_2Cr_2O_7$.

2) A 9^h 15 du soir les Daphnies étaient placées dans une solution de bleu de méthylène au $1/1,000,000^e$.

A 9^h 25, éclairement à travers un filtre $H_2Cr_2O_7$. — Après 12 minutes: pas de Daphnies mortes.

A 10^h 30, nouvel éclairement. — Après 12 minutes: pas de Daphnies mortes.

A 9^h du lendemain matin, nouvel éclairement. — Après 3 minutes, toutes les Daphnies étaient mortes.

Expérience II: Des Daphnies maintenues à l'obscurité dans une solution de bleu de méthylène au $1/1,000,000^e$ étaient toutes tuées après 3 minutes d'éclairement à travers un filtre $H_2Cr_2O_7$.

A 8^h du soir, quelques-unes des Daphnies étaient enlevées par filtrage. Après avoir été soigneusement lavées elles furent placées dans l'eau qu'on changea à plusieurs reprises pendant la première heure

Temps fatal à 9^h: 3 m.
 10^h: 3 m.
 minuit: 3 m.
 2^h: 3 m.

Des essais faits avec de l'érythrosine donnèrent des résultats analogues.

Dans d'autres essais où on se servait du dichloranthracène-disulfouate de sodium comme sensibilisateur, l'espace de temps que demandait la sensibilisation pour devenir complète était bien moins long.

Expérience III: 1) Des Daphnies maintenues pendant 20 heures à l'obscurité, dans du dichloranthracènesulfouate de sodium au $1/20,000^e$, mouraient après 15 secondes d'éclairement à travers du cristal de roche. Les Daphnies non sensibilisées mouraient après 4 minutes du même éclairage.

2) L'eau où se trouvaient les Daphnies fut additionnée de dichloranthracènesulfouate de sodium au $1/20,000^e$ immédiatement avant l'éclairement

Éclairement à 9^h; temps fatal: 3 m. 30 sec.
 9^h 04 2 m.
 9^h 07 1 m. 30 sec.
 9^h 08 15 sec.

Cette fois-ci on n'a par retiré de Daphnies pour les laver et les éclairer ensuite dans l'eau.

D'après ces expériences, le bleu de méthylène et l'érythro-sine se trouvent contenus dans le protoplasma sous la forme de combinaisons difficiles à dissocier et dont nous ne connaissons pas la nature.

M. Herter¹ a constaté que chez le lapin, et notamment dans le foie de cet animal, le bleu de méthylène se transforme très vite en une substance qui n'est réduite en bleu de méthylène qu'après traitement avec HCl².

En considérant les résultats obtenus par les expériences précédentes, j'ai été amené à rechercher si le protoplasma pouvait être sensibilisé simultanément pour les divers rayons du spectre.

Au point de vue théorique une telle sensibilisation devrait se produire dans les cas où les substances sensibilisatrices ne s'exclueraient pas les unes les autres, mais seraient seulement retenues par des groupes de cellules différents ou par des groupes différents de la même molécule.

Les substances utilisées dans ces recherches étaient le dichloranthracènesulfouate de sodium et le bleu de méthylène, ces deux substances ayant les régions de sensibilisation les plus éloignées l'une de l'autre. Les résultats des essais ressortent avec évidence du tableau IV et de la planche III.

¹ Herter, Ueber die anwendung reducirbarer farbstoffe beim studium der vertheilung von giften und ihrer wirkung auf die Zellthätigkeit. Hoppe Seylers Zeitschrift, t. 42, 1904.

² Après que j'eus terminé cette étude mon attention a été attirée sur une dissertation qu'a publié M. F. Osthelder (Munich) sous le titre de „Einige beobachtungen über die photodynamische wirkung auf zellen (Paramæcien)* [Voir le compte rendu du Münch. Med. Wochenschr. fasc. 50, 1907]. M. Osthelder y démontré qu'une fois sensibilisées par l'éosine et le rose bengale les Paramécies peuvent être centrifugées et lavées sans perdre pour cela la sensibilité acquise. Tel n'est pas le cas pour les Paramécies sensibilisées par le dichloranthracènesulfouate de sodium. On n'a pas constaté l'existence d'une période de latence.

Tableau IV.

Filtre	Temps fatals pour les Daphnies sensibilisées		
	Dichloranthracènedisulfate de sodium au $1/10,000^e$	Bleu de méthylène au $1/1,000,000^e$	Dichloranthracènedisulfate de sodium au $1/15,000$ plus Bleu de méthylène au $1/1,500,000^e$
Cristal de roche	$1\frac{1}{4}$ m.	2 m.	2 m.
Verre	$1\frac{1}{2}$ m.	$2\frac{1}{2}$ m.	9 m.
NiSO ₄ à 3 % . . .	3 m.	3 m.	11 m.
CuSO ₄ à 3 % . . .	3 m.	plus de 3 h.	12 m.
K ₂ CrO ₄ à 5 % . . .	plus de 6 h.	3 m.	16 m.
K ₂ Cr ₂ O ₇ à 5 % . . .	plus de 8 h.	3 m.	22 m.

Comment se fait maintenant cette résorption des substances sensibilisatrices?

M. Overton¹ a démontré dans son travail sur la propriété qu'ont les cellules vivantes de résorber les matières colorantes d'aniline, que cette propriété dépend uniquement de la „lipoidlöslichkeit“ des substances en question.

Or, un examen approfondi des tableaux de M. Overton montre qu'il y a parmi les substances sensibilisatrices quelques-unes qui sont „lipoidlöslich“ et d'autres qui sont „lipoidunlöslich“.

C'est encore le cas pour les substances colorantes non sensibilisatrices.

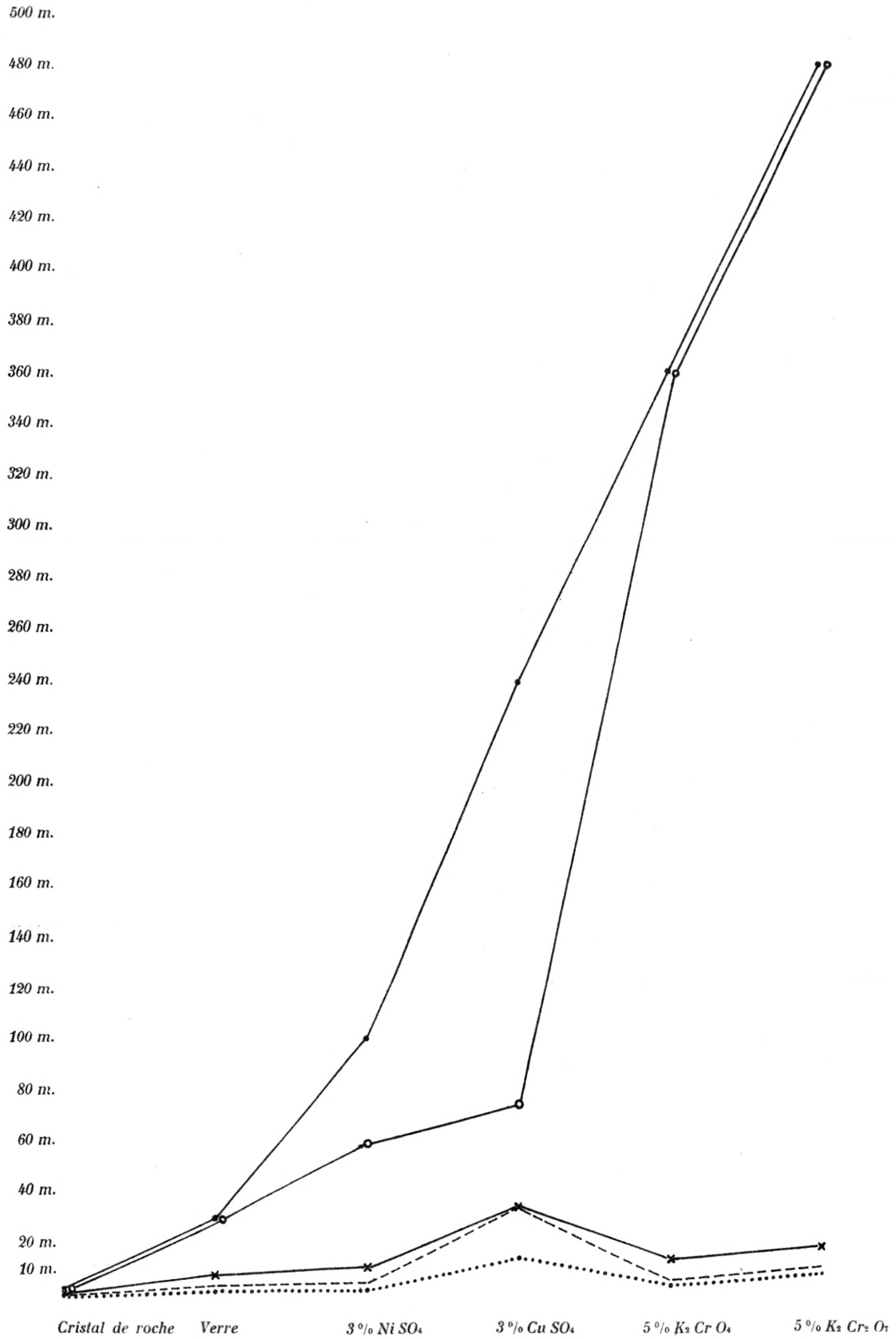
Il ne paraît pas qu'il soit possible d'établir un parallélisme entre ces deux propriétés physiques.

Il suit de là: 1°, que le rôle joué par la résorption dans le mécanisme sensibilisateur peut être conditionné soit par des agents osmotiques soit par des agents „adénoïdes“ (Overton);

et 2°, que les processus de sensibilisation exigent pour se produire non seulement la résorption des substances sensibilisatrices et l'absorption de telle ou telle région du spectre, mais encore la présence de certains facteurs qui échappent actuellement aux recherches expérimentales.

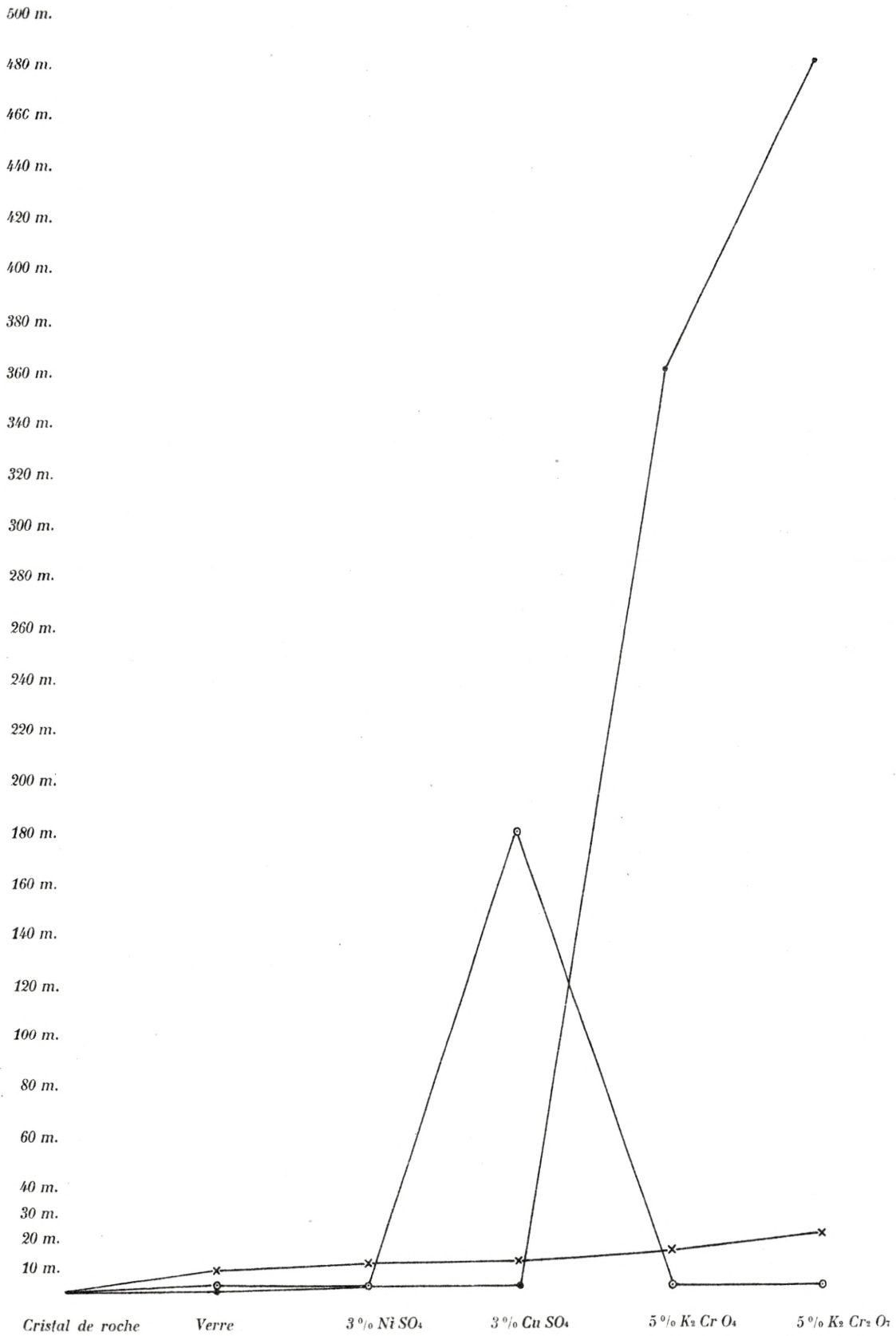
¹ Overton, Studien über die aufnahme der anilinfarben durch die lebende zelle. Jahrbücher für wissens. Botanik. 1900.

- *daphnies normales*
- chlorhydrate d'hydrastinine $1/160000$
- ×— eosine $1/40000$
- - - - - rose bengale $1/200000$
- ······ rouge neutre $1/500000$

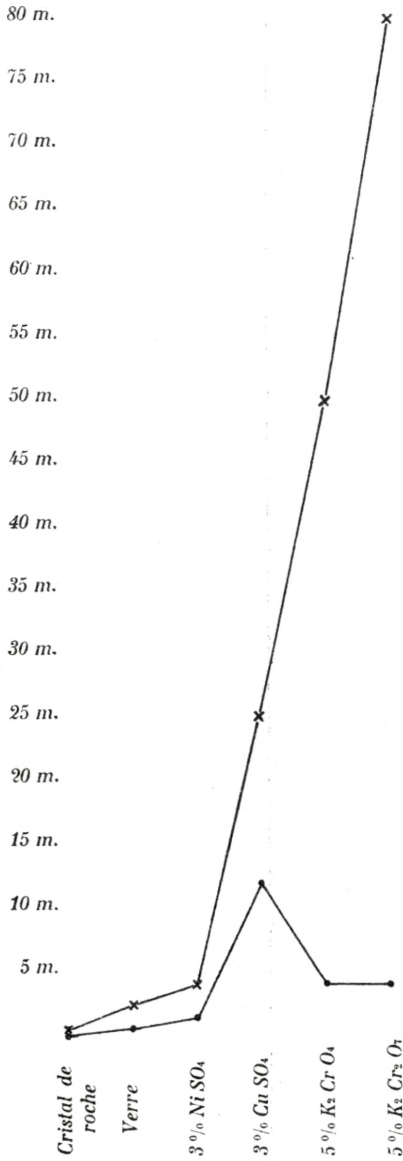


Sensibilisation double

- dichloranthracènedisulfouate de sodium $\frac{1}{10000}$
- bleu de méthylène $\frac{1}{1000000}$
- ×—× dichloranthracènedisulfouate de sodium $\frac{1}{15000}$
+ bleu de méthylène $\frac{1}{1500000}$



Nassulæ
Rose bengalæ $\frac{1}{4000000}$



Paramécies
Dichloranthracène-
disulfouate de sodium
 $\frac{1}{1000000}$

