



7 mars 1984

EXPLORATION FONCTIONNELLE DES POLYNUCLÉAIRES NEUTROPHILES DU CHEVAL

Par J.F. GUEIFI* et M.K. COURDOUHI**

Institut National de la Recherche Agronomique

* Laboratoire d'Exploration Fonctionnelle
E.N.V. Toulouse - 23 Chemin des Capelles
31076 TOULOUSE CEDEX

** Station de Pharmacologie-Toxicologie
180, Chemin de Tournefeuille - 31300 TOULOUSE

RESUME

L'exploration fonctionnelle des polynucléaires neutrophiles du cheval peut être réalisée aujourd'hui en effectuant un ensemble de tests de mieux en mieux connus : le chimiotactisme, la production d'anion superoxyde et la chemiluminescence, la phagocytose et la bactéricidie. L'intérêt de cette exploration est d'ordre clinique et pharmacologique.

MOTS CLES : NEUTROPHILES - CHEVAL - CHIMIOTACTISME - ANION SUPEROXYDE -
PHAGOCYTOSE

ABSTRACT

Various functional tests of equine neutrophils may be realized for diagnosis of immunodeficiency and for pharmacological survey : chemotaxis, production of superoxyde anion, chemiluminescence and bactericidal assays, phagocytic response.

1437

INTRODUCTION

METCHNIKOFF, dès la fin du XIX^e siècle, mettait en évidence la fonction essentielle des polynucléaires neutrophiles (PN) : la phagocytose. De nombreux travaux effectués depuis ont permis une approche très fine de ce phénomène.

Les PN du cheval ont fait l'objet d'études morphologiques (1) et enzymologiques (3), (7), (8), (10), et quelques travaux récents laissent entrevoir tout l'intérêt d'une exploration fonctionnelle.

I - CHIMIOTACTISME

La technique actuellement la plus utilisée est dérivée de celle décrite par NELSON, consistant à apprécier la migration des granulocytes (isolés ou en présence des autres leucocytes sanguins) sous un gel d'agarose disposé dans une boîte de Petri et dans lequel on creuse des puits. Un nombre donné de PN est placé dans le puit central. Dans les puits adjacents sont disposés d'un côté une solution tampon, de l'autre une substance chimiotactique. Après incubation dans une atmosphère riche en CO₂, on apprécie les distances parcourues par les cellules, spontanément (vers le tampon) ou sous l'action du facteur chimiotactique. Le rapport de ces deux distances mesure l'index chimiotactique.

ZINKL et BROWN (13) donnent pour les PN sanguins de chevaux adultes et en utilisant du sérum activé par le zymosan un index de $2,73 \pm 0,66$, valeurs que nous obtenons également. Ces auteurs remarquent d'autre part que la N - formul - L - méthionyl - L - phénylalanine (FMLP) a un faible pouvoir chimioattractant mais que cette substance est capable d'activer le sérum, comme le zymosan. CAMP et LEID (2) mettent en oeuvre la technique de BOYDEN en faisant migrer des PN marqués en chrome 51. Ils confirment que les PN du cheval sont peu attirés par la FMLP.

II - PRODUCTION D'ANION SUPEROXYDE ET CHEMILUMINESCENCE

Nous avons décrit une technique dérivée de celle de BABIOR permettant d'apprécier la production d'anion superoxyde par les leucocytes sanguins de chevaux. Avec $1,5 \times 10^9$ cellules phagocytaires / $1,10 \text{ mg / ml}$ de zymozan opsonisé et 6 mg/ml de cytochrome c, la moyenne obtenue chez 22 chevaux adultes sains a été de $2,45 \pm 0,48 \text{ nmol/10}^6 \text{ cellules phagocytaires/mn}$. Il existe une différence de production en fonction de l'âge (plus d'anion superoxyde formé chez les chevaux de moins de 6 ans).(4). La superoxyde dismutase inhibe la réaction (5).

WASHBURN et coll. (11) apprécient la chemiluminescence des phagocytes du cheval de même que JACOBSEN et coll. (9).

III - PHAGOCYTOSE ET BACTERIDIE

Nous avons pu vérifier que la technique décrite chez les bovins par GUIDRY et coll. (6) était valable chez le cheval (englobement de *Saccharomyces cerevisiae*).

WASHBURN et coll. (12) étudient la bactericidie (*S. zoopidemicus*) de même que JACOBSEN et coll. (*S. aureus*) (9).

Nous testons actuellement une méthode mixte permettant d'apprécier simultanément la phagocytose (englobement de bactéries marquées au C_{14}) et la vitalité des micro-organismes englobés (aptitude à incorporer de la thymidine tritiée).

La réalisation de cette batterie de tests (aussi bien sur les phagocytes sanguins - granulocytes et monocytes - que sur les macrophages) a pour intérêt :

- de permettre la détermination de valeurs usuelles et de référence

- de détecter les immunodéficiences pouvant expliquer certaines infections à répétition. En l'absence d'anomalie fonctionnelle, on peut apprécier la capacité du sérum des malades, d'activer les leucocytes ou d'opsoniser les bactéries.

- de mieux comprendre la pathogénie de certaines affections (infectieuses, parasitaires, nutritionnelles) s'accompagnant d'immuno-dépression,

- de mieux connaître le mode d'action des substances médicamenteuses. Il est en effet important de savoir si un médicament interfère avec les propriétés leucocytaires, en particulier si il s'agit d'un anti-infectieux. On peut aussi rechercher des effets immunostimulants ou vouloir mieux comprendre le mode d'action d'anti-inflammatoires. Les tests sont alors réalisés in vivo (PN d'un animal ayant reçu le médicament) ou in vitro (PN au contact du médicament) et complétés par des recherches plus élaborées permettant de percer les mystères encore nombreux de la physiologie et de la pathologie des granulocytes.

* * *

(I) BERTRAM (T.A) et COIGNOUL (F.L.). Morphometry of equine neutrophils isolated at different temperatures.

Vet. Pathol., 1982, 19, 534-543.

(2) CAMP (C.J.) et LEID (R.W.)- Chemotaxis of radiolabeled equine neutrophils.

Am. J. Vet. Res , 1982, 43, 397-401.

(3) DUBIN (A.), KOJ (A.) et CHUDZIK (J.)- Isolation and some molecular parameters of elastase - like neutral proteinases from horse blood leucocytes.

Biochem. J., 1976, 153, 389-396.

(4) GUELEFI (J.F.) et COURDOUHI (M.K.)- Production d'anion superoxyde par les leucocytes sanguins du cheval : technique et premiers résultats.

Revue Méd. vét., 1983, 134, 371-373.

(5) GUELEFI (J.F.) et COURDOUHI (M.K.)- First meeting of International Society of Animal clinical Biochemistry,

Schwäbisch Hall, 31 august - 2 september 1983, p. 189 à 193.

(6) GUIDRY (A.J.), PAAPE (M.J.) et MILLER (R.H.)- In vitro procedure for measuring phagocytosis of blood neutrophils.

Am. J. Vet. Res. , 1974, 35, 705-709.

(7) HEALY (P.J.)- Lysosomal hydrolase activity in leucocytes from cattle, sheep, goats, horses and pigs.

Res. Vet. Sci. , 1982, 33, 275-279.

(8) HEYNEMAN (R.A.)- Subcellular localization and properties of the NAD (P)H oxidase from equine polymorphonuclear leukocytes.

Enzyme, 1983, 29, 198-207.

(9) JACOBSEN (K.), GINTZ (T.), REED (S.M.), NEWBRY (J.), BAYLY (W.M.), FERRYMAN (L.E.) et LEID (R.W.)- Isolation of equine neutrophils and analysis of functional characteristics by chemiluminescence and bactericidal assays.

Am. J. Vet. Res. , 1982, 43, 1912-1916.

(10) POTEPA (J.)- Isolation and properties of an elastase - like proteinase from horse blood leucocytes.

Folia histochemica et cytochemica- 1982, 20, 41-52.

(II) WASHBURN (S.M.), KLESIOUS (P.H.) et GANJAM (V.K.)- Characterization of the chemiluminescence response of equine phagocytes.

Am. J. Vet. Res. , 1982, 43, 1147-1151.

(I2) WASHEURN (S.M.), KLESIUS (P.H.), GANJAM (V.K.) et BROWN (B.G.)-
Effect of oestrogen and progesterone on the phagocytic response of
ovariectomized mares infected in utero with hemolytic streptococci.

Am. J. Vet. Res., 1982, 43, 1367-1370.

(I3) ZINKL (J.G.) et BROWN (P.D.)- Chemotaxis of horse polymorphonuclear
leukocytes to N - formyl - L - methionyl - L - leucyl - L - phenylalanine.

Am. J. Vet. Res., 1982, 43, 613-616.