

FONCTION RESPIRATOIRE ET METABOLISMES ERYTHROCYTAIRES
EN HAUTE ALTITUDE

J. Arnaud*, H. Vergnes**, N. Gutierrez*

* Institut Bolivien de Biologie d'Altitude - La Paz - Bolivie

** Centre d'Hématologie du CNRS - Hôpital Purpan - Toulouse

Des millions d'hommes vivent depuis des siècles à très haute altitude (> 3000 m) ; pourtant ce n'est que récemment que quelques travaux se sont attachés à essayer de comprendre les mécanismes d'adaptation de l'organisme à ces conditions d'exception.

Les études physiologiques ayant débuté depuis très longtemps, ont amené à penser à des mécanismes régulateurs biochimiques très fins.

Historiquement, les premiers travaux sur la biochimie d'altitude, relatifs à la fonction respiratoire érythrocytaire, reviennent à DELRUE, en 1933 (1). Ce dernier a observé une élévation significative du taux de Glutathion Réduit. En 1942, DARLING et ROUGHTON (2) montraient le rôle de la Methémoglobine dans la fixation de l'oxygène sur l'hémoglobine. Plus récemment (1967), CHANUTIN et CURNISH (3) d'une part, R. BENESH et R.E. BENESH (4) d'autre part, signalaient le rôle des phosphates organiques et en particulier du 2-3 DPG, dans la régulation de l'affinité de l'hémoglobine pour l'oxygène. La même année, J. HOREJSI (5) remarquait le rôle de Glutathion Réduit dans la situation de la courbe de saturation de l'hémoglobine en oxygène. En 1968, C. LENFANT (6) démontrait magistralement le rôle du 2-3 DPG dans les processus d'adaptation à la haute altitude. Enfin, divers auteurs : EATON (7), MORPURGO (8), LENFANT (6), GOURDIN (9) ont mesuré le taux de 2-3 DPG, ATP et Methémoglobine à différentes altitudes.

L'hypoxie hypobarique étant le facteur essentiel caractérisant la haute altitude, nous avons dirigé nos travaux sur les mécanismes moléculaires de la respiration. L'érythrocyte s'avère être d'une part le centre de ces mécanismes, d'autre part la cellule la plus simple de l'organisme humain, ce qui en facilite l'étude. Les fonctions essentielles du globule rouge sont réalisées principalement par l'hémoglobine, pigment respiratoire dont le fonctionnement est contrôlé et régulé par diverses molécules issues des métabolismes intermédiaires de la cellule :

- l'ATP et le 2-3 DPG formés au sein du métabolisme énergétique
- la Methémoglobine et le Glutathion Réduit dont les taux sont réglés par le métabolisme oxydo-réducteur.

Le but de notre travail est d'étudier les différents métabolismes érythrocytaires afin d'essayer d'expliquer l'origine des variations des taux de ces différentes molécules clefs en fonction de l'altitude. Pour notre étude, nous avons fait appel à trois populations contactées à diverses altitudes :

- Population Européenne (Toulouse - France), sur laquelle les techniques de dosage ont été mises au point, nous donnant ainsi les premières valeurs de référence pour une altitude de 212 m.
- Population "Aymara", originaire de l'Altiplano bolivien, étudiée à haute altitude : 3.600 à 4.000 m (La Paz - Bolivie) et en basses terres : 450 m (Yapacani).
- Population "Quechua", originaire de l'Altiplano bolivien, étudiée à haute altitude : 3.600 m (Potosi) et en basses terres : 450 m (Yapacani).

ETUDE PRELIMINAIRE

Nous désirons connaître en premier lieu les taux d'ATP (10), 2-3 DPG (11), MetHb (12) et GSH (13) érythrocytaires chez les Quechuas et Aymaras vivant en haute altitude et basses terres et les comparer à ceux de référence obtenus chez les Européens Toulousains (tableau 1).

Autant pour l'ATP que le 2-3 DPG et le GSH à altitude similaire (500 m d'une part, 3.600 m d'autre part), nous n'avons noté aucune différence significative entre populations Amérindiennes et Européennes. Par contre, dans le cas du pourcentage de MetHb, les Amérindiens semblent assez homogènes et ceci quelque soit l'altitude ; mais les valeurs diffèrent de celles obtenues chez les Européens en basses terres. Le facteur ethnique apparaît ici important.

L'influence de l'altitude est très nette sur le taux des quatre molécules : l'ATP est multiplié par 1,52 ; le 2-3 DPG par 1,35 ; le GSH par 1,11 et la MetHb par 2,03.

Ces trois groupes "Européens", "Quechuas", "Aymaras" dont les facultés d'adaptation à la haute altitude apparaissent différentes physiquement et physiologiquement, ont au niveau biochimique des réponses plus variables. Leurs bilans énergétiques, comme le montrent les taux d'ATP et 2-3 DPG, semblent assez comparables, ce qui laisse supposer un métabolisme énergétique similaire. Par contre, les mesures de GSH et MetHb indiquent que le métabolisme oxydo-réducteur pourtant très imbriqué dans le métabolisme énergétique, a des réactions plus nuancées selon les groupes.

A la lumière de cette première étude, nous avons orienté notre travail vers deux directions :

- métabolisme énergétique pour lequel nous avons pu accepter de comparer des résultats obtenus sur des groupes différents afin de considérer uniquement l'influence de l'altitude.

		POPULATION EUROPEENNE (TOULOUSE) 212 m.	POPULATIONS AMERINDIENNES			
			YAPACANI - 450 m.		POTOSI 3600 m.	LA PAZ 3600 m.
			POPULATION "QUECHUA"	POPULATION "AYMARA"	POPULATION "QUECHUA"	POPULATION "AYMARA"
A T P	n	24	52	76	105	75
en nM/ml	GH	\bar{x} 1369	1236	1395	1967	1931
	f	166	161	222	152	251
2-3 DPG	n	21			105	75
en nM/ml	GH	\bar{x} 4442			5847	6134
	f	488			378	319
G S H	n	52	75	84	97	75
en mg/100ml	GH	\bar{x} 70.14	71.57	72.64	80.64	79.84
	f	6.22	9.86	10.20	9.10	8.49
Met HB	n	79	75	84	97	85
en %	\bar{x}	1.04	1.04	1.52	1.88	1.74
	f	0.89	0.97	0.63	1.08	0.89

Tableau I : variations des taux d'ATP, 2-3 DPG, GSH et Met HB chez les amérindiens et européens en fonction de l'altitude

- métabolisme oxydo-réducteur pour lequel nous avons essayé de séparer la part qui revient à l'altitude et celle qui provient de la différence ethnique.

Au niveau de ce dernier point, nous nous sommes proposés de dégager et différencier les caractères de l'adaptation et ceux de l'accommodation à l'altitude.

METABOLISME ENERGETIQUE

Les besoins globulaires en énergie étant très réduits, ils sont largement couverts par un métabolisme énergétique faible. En premier lieu, nous désirons connaître la consommation de glucose par les erythrocytes en haute altitude.

1 - Activité glycolytique

Nous avons mesuré l'activité glycolytique érythrocytaire en laissant incuber des échantillons de globules rouges dans une solution de Krebs-Ringer à pH et température constants sous agitation permanente. Avant et après incubation, les taux de glucose et lactate sont mesurés afin d'établir les consommations de glucose et formations de lactate exprimées en μ Moles par ml de globules rouges et par heure. Le calcul nous permet d'obtenir les pourcentages d'activité des deux voies principales (14) :

- glycolyse anaérobie ou voie d'EMBDEN-MEYERHOF
- shunt des pentoses ou voie de DICKENS-HORECKER.

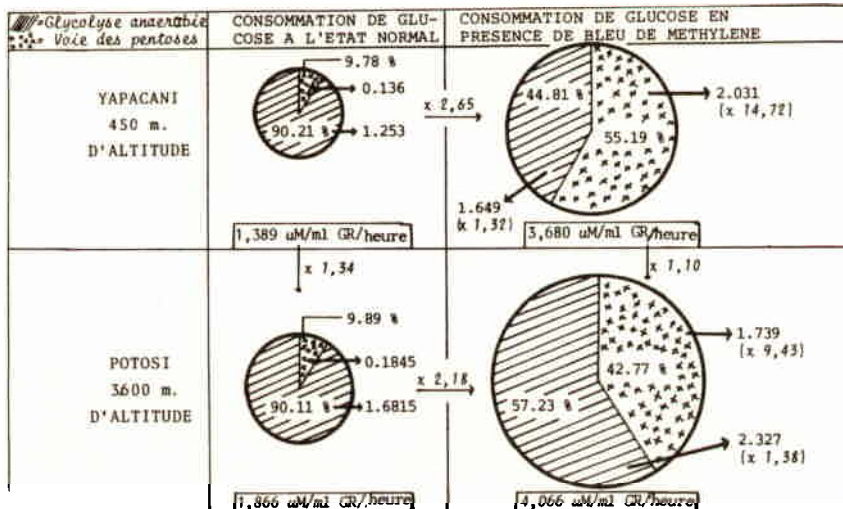


Figure 1 : Influence de l'altitude sur l'activité glycolytique érythrocytaire avec ou sans bleu de méthylène chez les "Quechuas"

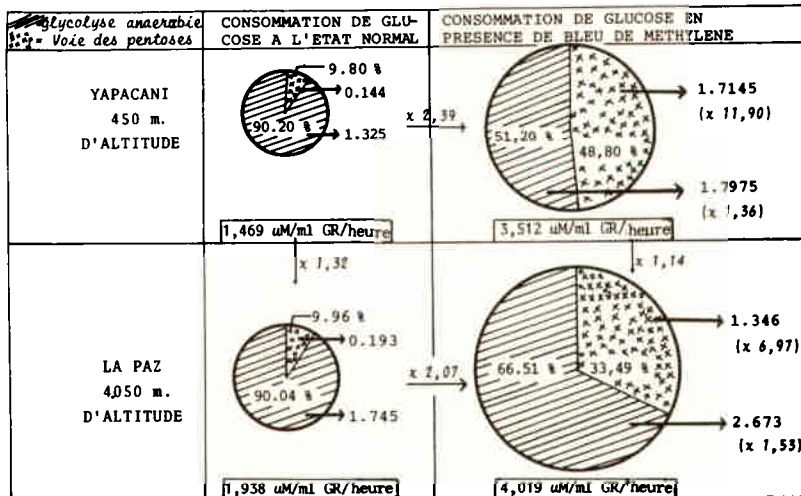


Figure 2 : Influence de l'altitude sur l'activité glycolytique érythrocytaire avec ou sans bleu de méthylène chez les "Aymaras"

Ainsi de la KH à la GAPDH, tous les enzymes présentent une tendance vers l'augmentation, cette dernière étant très significative chez les deux kinases : la HK et la PFK. Par contre, on note une tendance vers la diminution de la PGK à la LDK avec des valeurs très significativement différentes chez les deux kinases : la PGK et la PK.

Il est intéressant de noter que la scission en deux groupes s'effectue au départ du cycle de RAPOPORT-LUEBERING où se forme le 2-3 DPG.

3 - Interprétation

La diminution de la P_{O2}, par pseudo-effet-Pasteur, favorise la consommation de glucose, ce que nous avons vérifié au cours de la mesure de l'activité glycolytique. Cette action est aussi importante sur la glycolyse anaérobie et sur la voie des pentoses, ce qui laisse supposer cette action au-dessus du carrefour du G6P.

La mesure des activités enzymatiques confirme cette hypothèse : la HK est significativement augmentée alors que la G6PD et la PHI semblent peu atteintes. Cette action de l'altitude au niveau enzymatique permet l'établissement de nouveaux équilibres au sein de la glycolyse.

L'effet le plus notable porte sur la PFK, enzyme allostérique qui pourrait posséder un site de régulation pour l'oxygène.

L'activation de la PFK a pour conséquence une diminution de la concentration en F6P qui déplace l'équilibre établi par la PHI aux dépens du G6P. Ceci réduit l'inhibition que ce dernier porte sur la HK par "Feed Back" et donc favorise la consommation de glucose.

Chaque molécule de glucose "brûlée" par la glycolyse anaérobie permet la formation de deux liaisons riches en énergie au sein des molécules d'ATP.

L'activation de la glycolyse se résume dans une élévation du rapport :



Ce dernier rapport est le plus important dans la régulation de la glycolyse et du cycle de RAPOPORT-LUEBERING. Ces effets sont les suivants (18) :

- une inhibition des deux kinases catalysatrices des réactions productrices d'ATP, c'est-à-dire la PGK et la PK, ce qui se traduit par une déviation de la glycolyse vers le cycle du 2-3 DPG. L'inhibition de la PGK oriente directement vers la DPGM ; par contre, l'inhibition de la PK a un effet plus indirect qui débute par une accumulation de PEP et remonte jusqu'au 3PG (19). Le haut niveau en 3PG, cofacteur de la DPGM, favorise la formation de 2-3 DPG, d'autant plus que le 3PG inhibe la DPGP.

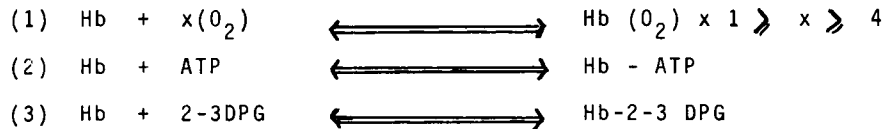
Enfin, la DPGM a une activité dix fois supérieure à la DPGP.

- une régulation de l'activité de la HK et surtout de la PFK. Cette dernière possède un site de régulation pour l'ATP dans sa molécule : à forte concentration en ATP, cet enzyme est ralenti.
- une activation des deux enzymes, du cycle de RAPOPORT-LUEBERING, favorisant le passage par le 2-3 DPG et diminuant la formation d'ATP par "court-circuit" de la PGK.

Le haut niveau en 2-3 DPG qui résulte de cette nouvelle glycolyse a aussi de nombreuses répercussions :

- inhibition de la HK et de la PFK
- inhibition par "Feed Back" de la DPGM
- activation de la PGM qui abaisse la concentration en 3 PG et diminue les effets régulateurs de ce dernier intermédiaire
- enfin, inhibition de la AMP désaminase, ce qui a pour conséquence d'éviter la destruction du AMP par la voie de l'IMP. Ceci permet au globule rouge de maintenir élevé son "pool" d'adénines nucléotides (20).

D'autre part, la baisse de la P_{O2} a une action sur les équilibres suivants :



L'équilibre (1) se trouve déplacé vers la gauche, faute d'oxygène ; par contre, l'augmentation d'hémoglobine desoxygénée déplace les équilibres (2) et (3) vers la droite aux dépens de l'ATP et 2-3 DPG libres. Ceci provoque donc la diminution de concentration de ces deux dérivés, ce qui favorise une aspiration de la glycolyse.

Ainsi, on peut estimer que les hauts niveaux en ATP et 2-3 DPG sont la conséquence de la baisse de la P_{O2} qui modèle une nouvelle glycolyse et déplace les équilibres d'affinité de l'hémoglobine pour les composés phosphorilés.

	Ht.	Hb	N° GR	Meth	Tests de Brewer		G.S.H.	Test d'instabilité		Test de Mills et	
	en %	en gr% /ml ST	en 10 ⁶ /mm ³	Hb en %	en %	avec BM	sans BM	en mg% de GR	en %	en mg% ml de GR	en %
AYMARA de YAPACANI 450 m.	84 41,20 4,12	84 14,54 1,42	84 4,40 0,48	84 7,52 0,63	81 3,80 1,14	81 39,00 7,54	84 72,64 10,20	83 61,28 11,30	83 84,49 9,29	84 63,48 10,88	84 87,13 8,07
QUECHUA de YAPACANI 450 m.	75 39,91 4,48	75 14,26 1,37	75 4,74 0,51	75 1,64 0,97	69 3,80 1,72	63 33,25 11,60	75 71,57 9,86	72 59,67 9,86	72 83,07 11,01	71 61,00 9,43	71 84,96 9,51
AYMARA de LA PAZ 3600 m.	85 51,75 2,93	85 18,23 1,09	85 5,74 0,33	85 5,14 0,89	85 7,79 1,50	85 47,31 8,66	85 79,84 8,49	85 68,89 10,14	85 86,27 8,44	85 70,25 10,03	85 88,34 7,29
QUECHUA de POTOSI 3600 m.	97 50,27 3,53	97 17,90 1,29	97 5,38 0,42	97 3,29 1,08	97 7,19 2,07	97 49,34 7,21	97 80,64 9,10	97 72,58 8,76	97 90,01 7,05	97 71,92 9,06	97 89,19 6,87

Tableau II : Tests et dosages permettant d'étudier les systèmes oxydo-réducteurs érythrocytaires. Etude comparative à deux altitudes sur deux populations.

		GAPDH	LDH	GPFD	6PGD	DPNH DIAPHORASE	TPNH DIAPHORASE	GGG REDUCTASE
AYMARA	n	50	50	50	50	50	50	50
DE	x	19,88	18,96	1,490	0,929	1,676	0,470	0,685
LA PAZ	D.S	1,51	1,27	0,176	0,193	0,383	0,103	0,106
(3600 m)								
EUROPÉENS	n	30	30	30	30	30		30
DE	x	14,70	22,27	1,570	0,940	3		0,596
TOULOUSE	D.S	3,41	4,27	0,240	0,110	1,10		0,120
(250 m)								
TEST DE	t	S	N.S	N.S	N.S	S		N.S

S = SIGNIFICATIF N.S. = NON SIGNIFICATIF

Tableau III : Etude comparative des enzymes des systèmes réducteurs érythrocytaires chez des populations européennes et amérindiennes à deux altitudes différentes.

METABOLISME OXYDO-REDUCTEUR

L'élévation du pourcentage de Methémoglobine en altitude peut avoir trois origines (21) :

- une exaltation des systèmes d'oxydation peu contrôlables et mal connus à ce jour
- une anomalie de la molécule d'hémoglobine
- une diminution de l'activité réductrice en rapport avec le fonctionnement de la glycolyse et le shunt des pentoses où les diaphorases doivent jouer un rôle primordial. Pour étudier ce dernier point, nous avons adopté une série de tests et dosages qui permettent de faire fonctionner ces différents systèmes d'oxydo-réduction dans les conditions d'hypoxie.

1 - Tests indirects

Les tests de BREWER (22) avec et sans bleu de méthylène permettent de doser indirectement les deux systèmes diaphorasi-ques NADH et NADPH dépendants. Ces tests consistent en une méthé-mogloblinisation complète des erythrocytes intacts par le nitrite de sodium, suivie d'une incubation à 37°C sous agitation permanente et d'une mesure du pourcentage de Methémoglobine résiduel.

Le test d'Instabilité du Glutathion réalisé sur des échantillons de globules rouges incubés en présence de méthyl-phényl-hydrazine, renseigne d'une part sur les activités des deux deshydrogénases du shunt des pentoses génératrices de NADPH, d'autre part sur l'activité de la Glutathion Réductase.

Le test de MILLS et RANDALL (23) consiste en une incu-bation de globules rouges en présence de glucose, vitamine C et azide de sodium (inhibiteur de la Catalase). Il renseigne sur l'activité de la Glutathion Peroxydase.

Ces deux derniers tests ne nous signalent aucune dif-férence significative entre haute altitude et basses terres (tableau II). Les tests de BREWER par contre, nous laissent sup-poser une influence très nette des variations d'altitude sur le fonctionnement de ces systèmes.

2 - Dosage direct des enzymes réducteurs

Les dosages des diaphorases NADH et NADPH dépendants (24), Glutathion Réductase, G6PD et 6PGD (17) confirment les hypo-thèses formulées après la première série de tests (Tableau III). La Glutathion Réductase présente une tendance vers l'augmentation et les G6PD et 6PGD sont inchangées. Par contre, la NADH diapho-rase possède une activité en altitude égale à 56 % de celle des basses terres. D'autre part, la NADPH que nous n'avons dosé à ce jour qu'en haute altitude a une activité plus faible que celle ren-contrée dans la littérature : 50 à 60 % (25).

3 - Activité glycolytique en présence de bleu de méthylène

La mesure de l'activité glycolytique fut réalisée comme antérieurement, mais en additionnant à la solution d'incubation une petite quantité de bleu de méthylène. La consommation de glucose très augmentée, n'est pas suivie d'une formation de lactate dans les mêmes proportions, ce qui confirme une action du bleu de méthylène bien plus efficace sur le shunt des pentoses. Cependant, on note une excitation de la consommation de glucose, due à ce colorant, bien plus faible en altitude qu'en basses terres (fig. 2 et 3). Ce phénomène est plus accentué au niveau du shunt des pentoses.

4 - Interprétation

L'erythrocyte lutte constamment contre l'oxydation de ses constituants et principalement ceux de l'hémoglobine : l'hème et la globine. Ces derniers sont protégés par une série de systèmes réducteurs qui utilisent des cofacteurs réduits au niveau de la glycolyse (26). L'augmentation des taux de GSH et pourcentage de Methb laisse supposer un fonctionnement un peu différent de ces systèmes dans les conditions d'hypoxie chronique.

L'augmentation de la glycolyse et du shunt des pentoses favorise les rapports



ce qui doit permettre à l'erythrocyte de lutter contre les agressions oxydantes.

Le haut niveau en Glutathion Réduit rencontré dans les erythrocytes en haute altitude peut être dû à :

- une diminution des besoins en cet élément, ce qui est peu vraisemblable en raison du haut pourcentage en Methb d'une part, du niveau normal d'activité de la Glutathion Peroxydase d'autre part.
- une augmentation d'activité de la Glutathion Réductase. Cette augmentation n'est pas significative en altitude ; on ne peut parler que d'une tendance vers l'augmentation. Cet enzyme a pour cofacteur le NADPH₂ qui ne devrait pas être limitant en haute altitude en raison de sa réduction facilitée.
- une mobilisation possible par l'hémoglobine d'une fraction de GSH dont le rôle sur la courbe de dissociation de l'hémoglobine a été avancé par HOREJSI (5).

Parmi les systèmes réducteurs capables de lutter contre la Methémoglobine, la NADH diaphorase représente 67 %, le Glutathion Réduit 12 %, enfin la NADPH diaphorase, système accessoire 5 % seulement (d'après SCOTT, 21).

Une augmentation du pourcentage de Methémoglobine peut donc être expliquée par une diminution d'activité de la NADH diaphorase, alors que le Glutathion Réduit est augmenté. Cette baisse d'activité, supposée lors du test de BREWER sans bleu de méthylène, fut confirmée par la mesure directe de l'enzyme. Cet enzyme doit pourtant avoir à sa disposition une quantité de NADH₂ suffisante pour son bon fonctionnement.

De même, le test de BREWER en présence de bleu de méthylène, laissait apparaître une diminution d'activité de la NADPH₂ diaphorase que nous n'avons pas vérifiée personnellement. Toutefois, la mesure de l'activité glycolytique en présence de bleu de méthylène, nous a donné un deuxième argument à notre hypothèse. En effet, la consommation de glucose est très significativement augmentée avec le bleu de méthylène selon des rapports chez les Aymaras de 2,07 en altitude et 2,39 en basses terres. Malgré cette augmentation de consommation de glucose par la glycolyse, cette dernière ne représente plus 90 % de la dégradation, mais seulement 66.51 % en altitude et 51.20 en basses terres. La voie la plus sensible à l'action du bleu de méthylène est la voie des pentoses qui utilise 33.49 % du glucose consommé en altitude et 48.80 % en basses terres.

La réponse des deux voies à l'excitation de l'hypoxie en présence de bleu de méthylène est différente :

- la glycolyse anaérobie est multipliée par :
1,53 en altitude
1,36 en basses terres
- la voie des pentoses est multipliée par :
6,97 en altitude
11,90 en basses terres

Nous constatons donc que la voie de la glycolyse anaérobie est sensible au bleu de méthylène malgré ce qui a pu être décrit à ce jour. D'autre part, le bleu de méthylène est plus actif en basses terres sur le shunt des pentoses qu'en altitude ; or ce colorant permet le fonctionnement du système accessoire : la NADPH₂ diaphorase. Celle-ci doit avoir une activité plus faible en altitude.

CONCLUSIONS

A la suite de ces travaux, deux séries de conclusions peuvent être tirées :

1 - Adaptation et Accomodation à la haute altitude.

Nous avons étudié le comportement des systèmes oxydo-réducteurs érythrocytaires de deux populations Amérindiennes : les Aymaras et les Quechuas. Leurs taux de GSH et Methb ne présente aucune différence significative, par contre, au niveau enzymatique, les résultats sont plus diversifiés.

Le test de BREWER sans bleu de méthylène donne des résultats identiques en basses terres, mais en altitude le système NADH diaphorase des Aymaras semble plus faible que celui des Quechuas. (Tableau II).

D'autre part, le test de BREWER avec bleu de méthylène en basses terres, montre une activité NADPH₂ diaphorase des Aymaras inférieure à celle des Quechuas, alors qu'en altitude aucune différence significative n'est à noter (Tableau II).

Enfin, dans la mesure de l'activité glycolytique en présence de bleu de méthylène, on note (fig. 1 et 2) une sensibilité plus faible à l'action de ce colorant de la voie des pentoses des Aymaras :

- en basses terres, la voie des pentoses est multipliée par :
11,90 chez les Aymaras
14,72 chez les Quechuas.
- en altitude, la voie des pentoses est multipliée par :
6,97 chez les Aymaras
9,43 chez les Quechuas.

Tout ceci nous amène à supposer que :

- les systèmes diaphorases sont plus faibles en altitude qu'en basses terres
- les systèmes diaphorases des Aymaras en altitude comme en basses terres sont plus faibles que chez les Quechuas.

Or, il est considéré que les Aymaras originaires de l'altiplano sont de ces deux groupes andins, les mieux adaptés à la haute altitude. Par contre, les Quechuas originaires des vallées andines, ne sont venus sur l'altiplano que plus récemment. Le bas niveau des systèmes diaphorases favorisant l'élévation du pourcentage de MetHb, est un critère d'adaptation à l'hypoxie d'altitude. Nous supposons que les Aymaras sont, à ce titre, un exemple d'"ADAPTATION" alors que les Quechuas sont un exemple d'"ACCOMMODATION".

Lors des migrations de populations de l'altiplano andin vers l'orient bolivien par exemple, les Aymaras ont eu de très sérieuses difficultés à s'habituer aux nouvelles conditions de basses terres. D'autre part, nous avons pu remarquer qu'en basses terres, les Aymaras ont leurs activités enzymatiques (systèmes réducteurs) qui ne retrouvent pas des valeurs normales ; elles restent un peu inférieures. Au contraire, les Quechuas, même en haute altitude n'obtiennent pas des valeurs d'altitude comme celles des Aymaras ; elles restent supérieures.

2 - Fonction respiratoire du globule rouge en haute altitude

Il a été montré un rôle sur la position de la courbe de dissociation de l'oxyhémoglobine, des quatre molécules dont nous avons étudié la formation (fig. 4) :

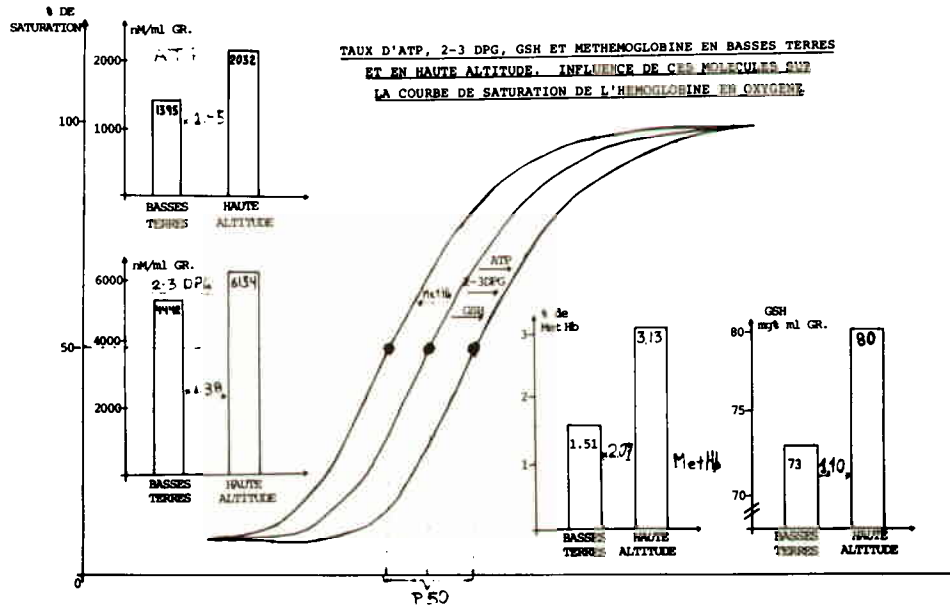


Figure 4 - Taux d'ATP, 2-3 DPG, GSH ET METHEMOGLOBINE EN BASSES TERRES ET EN HAUTE ALTITUDE, INFLUENCE DE CES MOLECULES SUR LA COURSE DE SATURATION DE L'HEMOGLOBINE EN OXYGENE

- le 2-3 DPG, l'ATP, et le GSH ont le même effet sur la courbe c'est-à-dire, un déplacement vers la droite, ce qui correspond à une diminution d'affinité de l'hémoglobine pour l'oxygène (6, 5).
- la MethHb par contre à un effet opposé, c'est-à-dire un déplacement de la courbe vers la gauche (2).

Ainsi, l'importance du métabolisme énergétique se résume en un seul effet, le déplacement vers la droite de la courbe dû aux hauts niveaux en ATP et 2-3 DPG.

Ce déplacement a pour avantage de faciliter la libération d'une plus grande quantité d'oxygène aux tissus pour des variations de P_{O_2} plus faible (fig. 4). Tout ceci dépend essentiellement d'un équilibre entre ces différentes molécules afin que leurs effets puissent se compenser.

Les systèmes réducteurs à l'origine du taux de GSH et pourcentage en MethHb paraissent jouer un grand rôle dans ce contrôle.

En effet, ces deux molécules issues d'un même métabolisme ont des effets opposés.

Les équilibres qui s'établissent entre l'hémoglobine et le GSH, ce dernier à titre de protecteur de l'hème, règlent la position de la courbe de saturation de l'hémoglobine en oxygène.

Dans le cas de méthémoglobinisation importante, on note en effet :

- une hypoxie par déplacement à gauche de la courbe
- une réponse à cette hypoxie par la glycolyse qui favorise ainsi le 2-3 DPG et l'ATP et rétablit ainsi la courbe dans sa position.

Ces compensations successives doivent être interrompues. Nous supposons que le GSH assume ce rôle. Il est augmenté à la suite de l'hypoxie et peut ainsi mieux protéger d'une part l'hémoglobine contre l'oxydation, d'autre part, l'hémoglobine récemment réduite par la NADH diaphorase contre une nouvelle oxydation. C'est en cela que son action revient à une diminution du taux de Methb et donc à un déplacement de la courbe vers la droite, au même titre que la vitamine C (21).

Il semble qu'une position initiale en basses terres de la courbe à gauche, soit un élément en faveur d'une meilleure adaptation à la haute altitude. En effet, le mouton qui possède une courbe très à droite en basses terres s'adapte très mal à la haute altitude. Par contre, le lama, animal de haute altitude possède une courbe très à gauche avec des taux de Methb très élevés (15 %) (27).

Ainsi, le fonctionnement des systèmes réducteurs joue un rôle primordial en altitude et le pourcentage de Methb, aussi paradoxal que cela puisse paraître semble être un critère d'adaptation à la haute altitude.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- (1) Delrue G., Vischer A., Bouckaert J.P. : Modifications du taux de Glutathion sanguin durant le séjour à haute altitude. C.R. Soc. Biol. 1933, 113, 942.
- (2) Darling R.D., Roughton F.J.W. : The effect of Methemoglobin on the equilibrium between oxygen and hemoglobin. Amer. J. Physiol. 1942, 137, 56.
- (3) Chanutin A., Curnish R.R. : Effect of organic and inorganic phosphates on the oxygen equilibrium of human erythrocytes. Arch. Biochem. Biophys. 1967, 121, 96.
- (4) Benesh R., Benesh R.E. : The effect of organic phosphates from the human erythrocyte on the allosteric properties of hemoglobin. Biochem. Biophys. Res. Commun. 1967, 26, 162.
- (5) Horejsi J. : Effect of Glutathione and some other substances on the oxygen dissociation curve of hemoglobin and experimental therapy of hemorrhagic shock with solutions enriched with Glutathione. Red. Cell Metabolism and Function - Advances in Experimental Medicine and Biology - Vol. 6 - edited by G.J. BREWER, 1970, 9.
- (6) Lenfant C., Torrance J., English E., Finch C.A., Reynafarje C., Ramos J., Faura J. : Effect of altitude on oxygen binding by hemoglobin and on organic phosphate levels. J. Clin. Invest. 1968, 47, 2652.
- (7) Eaton J.W., Brewer C.J., Schultz J., Sing C. : Variation in 2-3 Diphosphoglycerate and ATP levels in human erythrocytes and effects on oxygen transport. P. 21 in Red Cell metabolism and function. Plenum Press New York, 1970.
- (8) Morpurgo G., Rattagua P., Carter N.D., Modiano G., Passi S. : The Bohr effect and the Red Cell 2-3 DPG and hemoglobin content in Sherpas and Europeans at low and at high altitude. Experientia, 1972, 28, 1280.
- (9) Gourdin D., Vergnes H., Gutierrez N. : Methemoglobin in Man living at high altitude. Brit. J. Haemat. 1975, 29, 243.
- (10) Keitt A.S. : Reduced nicotinamide adenine dinucleotide-linked analysis of 2-3 diphosphoglyceric acid : spectrophotometric and fluorometric procedures. J. Lab. Clin. Med. 1971, 77, 470, 475.

- (11) Cartier P., Temkine H. : le 2-3 diphosphoglycerate et le glucose 1-6 diphosphate du globule rouge. Techniques de dosage. Ann. Biol. Clin. 1967, 10-12, 1119-1128.
- (12) Evelyn K.A., Malloy H.T. : Microdetermination of oxyhemoglobin, Methemoglobin and sulfhemoglobin in a single sample of blood. J. Biol. Chem. 1938, 126, 655.
- (13) Kaplan J.C., Dreyfus J.C. : Dosage du glutathion erythrocytaire par un disulfure aromatique nitré : l'acide 5-5 dithibis (2-nitrobenzoïque). Bull. Soc. Chim. Biol. 1964, 46, 775.
- (14) Cartier P. : La glycolyse du globule rouge normal et pathologique. Exposés Annuels de Bioch. Med. 1969, 29, 25.
- (15) Aisenberg A., Potter V. : J. Biol. Chem. 1957, 224, 115.
- (16) Cartier P., Leroux J.P. : Les enzymes des erythrocytes : Ann. Biol. Clin., 1962, 20, 273.
- (17) Cartier P., Leroux J.p., Marchand J. Cl. : Techniques de dosage des enzymes glycolytiques tissulaires. Ann. Biol. Clin., 1967, 25, 169.
- (18) Leroux J.P., Najman A. : Biochimie et physiologie du 2-3 Diphosphoglycérate erythrocytaire. Ann. Biol. Clin. 1971, 29, 279.
- (19) Cartier P., Najman A., Leroux J.P., Temkine H. : Les anomalies de la glycolyse au cours de l'anémie hémolytique par déficit du globule rouge en pyruvate kinase. Clin. Chim. Acta., 1968, 22, 165.
- (20) Cartier P., Labie D., Leroux J.P., Najman A., Demaugre F. : Déficit familial en diphospho glycérate mutase : étude hématologique et biochimique. Nouv. Rev. Française Hémat., 1972, 12, 269.
- (21) Richard J. : Les methémoglobinémies. Revue du Praticien, 1968, 18, 4463.
- (22) Knutsen C.A., Brewer G.J. : Am. J. of Clin. Path., 1966, 45, 82.
- (23) Mills G.C., Randall H.P. : Hemoglobin Catabolism - II : The protection of hemoglobin from oxydative breakdown in the intact erythrocyte. J. of Biol. Chem., 1958, 232, 589.
- (24) Hegesh E., Calmanovici N., Avron M. : New method for determining ferrihemoglobin reductase (NADH methemoglobin reductase) in erythrocytes. J. Lab. Clin. Med., 1968, 72, 339.

- (25) Heunekens F.M., Kerwar G.K., Kajita A. : Methemoglobin Reductases. Hereditary disorders of erythrocyte metabolism. 1967, 87 edited by BEUTLER. Grune et Stratton - Ny and LONDON.
- (26) Kaplan J.C. : Les systèmes d'oxydo-réduction du globule rouge et leurs anomalies. Nouv. Revue Franç. Hémat., 1966, 6, 809.

SUMMARY

Different molecules intervene in the regulation of the respiratory function of the red blood cell :

The ATP, the 2-3 DPG and the methémoglobine.

Various authors have demonstrated a different mobilisation of these regulation systems in the erythrocytes, in populations living at high altitude (> 3000 m), as a consequence of the considerable fall of PO_2 .

The study consists of two parts :

- First, the measurement of the rate of these different elements in the amerindian populations living at high altitude and low lands.
- Second, the detailed study of the energetic metabolism and the reducer metabolism of the erythrocytes in the same populations. The latter study has been realised at the enzyme level. These are molecules which allow all possibilities of regulation, that is to say acclimatization or adaptation.

Concerning the first point, the respective percentage rates of ATP, 2-3 DPG and Methemoglobine in relation to those obtained in low lands are : 145 %, 130 %, and 200 %.

The enzymatic activity values obtained show an increase of activity of all enzymes from HK to GAPDH and a decrease of the activity from PGK to LDH. The division into two groups takes places at the RAPPOPORT cycle's level, thus favouring the formation of 2-3 DPG and ATP.

At the level of the reducer system, the altitude methemoglobinisation can be explained by a fall of 50 % of the activity of two diaphorases.