

# DOSAGE DE L'ACIDE L-LACTIQUE PAR VOIE ENZYMATIQUE DANS LE SANG DE LA VEINE OMBILICALE

R. DE ROM

*Clinique d'Obstétrique et de Gynécologie,  
Université de Gand, Belgique*

## INTRODUCTION

La présente étude a pour but la recherche d'un critère biochimique valable, qui permette de déterminer le degré d'anoxie ou d'hypoxie présent au moment de la naissance.

De très nombreuses tentatives ont été faites dans ce sens. Presque tous les auteurs qui se sont penchés sur le problème ont eu recours à des déterminations de la saturation d'oxygène dans le sang de la veine et de l'artère ombilicale. Les résultats obtenus jusqu'à présent sont en grande partie contradictoires: si d'aucuns constatent une chute de la saturation d'oxygène après certaines complications obstétricales causant de l'anoxie foetale, d'autres par contre ne trouvent aucune corrélation entre l'oxymétrie et les antécédents obstétricaux ou l'état de l'enfant à la naissance.

Kaiser<sup>1</sup> explique ces discordances d'abord par la difficulté d'obtenir des échantillons de sang foetal dans des conditions standardisées; ensuite et surtout par le fait que la majorité des travaux portent sur la saturation d'oxygène qui est un renseignement faux, puisque c'est la pression d'oxygène qui est essentielle pour le métabolisme normal de toute cellule. Or cette pression d'oxygène est bien liée à la saturation mais elle est également une fonction de nombreux autres paramètres, comme le pH sanguin et la pression partielle de dioxyde de carbone (Effet Bohr), la différence d'affinité pour l'oxygène de l'hémoglobine foetale et adulte, l'absence d'anhydrase carbonique dans les hématies foetales.

Pour échapper aux difficultés méthodologiques et aux discordances qu'entraîne la détermination du taux d'oxygène, nous avons abordé le problème de l'anoxie foetale par une voie différente, notamment en mesurant un des catabolites du glucose qui apparaît lorsque l'organisme est privé d'oxygène: l'acide L-lactique. On sait que la capacité d'anaérobiose de l'organisme foetal est bien supérieure à celle de l'adulte, et détermine en grande partie la résistance extraordinaire du foetus à la privation d'oxygène. On peut donc s'attendre à voir augmenter le taux sanguin d'acide L-lactique dans les cas de souffrance foetale<sup>2-7</sup>.

Peu de recherches ont été faites dans ce sens en clinique humaine. En 1928, Blair Bell *et al.*<sup>8</sup> observèrent que la teneur en lactate dans le sang veineux et artériel du cordon ombilical était environ deux fois plus élevée que celle dans le sang veineux et artériel maternel. Ils purent aussi constater que le sang de l'artère ombilicale était plus riche en lactate que celui de la veine.

Eastman<sup>9</sup>, en 1931, dosa l'acide lactique dans le sang du cordon ombilical dans 24 cas; il conclut que le taux est normal pendant la vie intra-utérine, mais est régulièrement élevé à la naissance: les chiffres qu'il cite varient de 28 à 45 mg/100 ml avec une moyenne de 35 mg/100 ml. En cas d'asphyxie du nouveau-né, le taux d'acide lactique s'élève pour atteindre des concentrations allant jusqu'à 90 mg/100 ml.

Loeser<sup>10</sup>, l'année d'après, compara la concentration de lactate dans la veine ombilicale et le sang veineux maternel dans 12 accouchements normaux et faciles chez des multipares, et 6 césariennes pratiquées tout au début du travail. La teneur chez le foetus est, à deux exceptions près, plus élevée que chez la mère. La concentration de lactate dans le cordon ombilical est en moyenne de 16,4 mg/100 ml après accouchement par les voies naturelles, et de 16,8 mg/100 ml dans les césariennes\*.

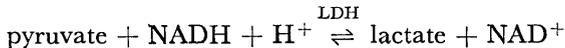
Hendrickx<sup>11</sup>, en 1957, fait des déterminations quantitatives d'acide lactique à la naissance dans 38 cas. Il établit que le taux de lactate dans les vaisseaux ombilicaux est toujours supérieur à celui trouvé dans la circulation veineuse maternelle. Chez l'enfant le taux dans le sang de la veine ombilicale est de 16,3 mg/100 ml dans les césariennes pratiquées avant le début du travail, et de 24,8 mg/100 ml après la naissance par les voies naturelles. Il y a donc augmentation du taux d'acide lactique au cours de l'accouchement.

Récemment Vedra<sup>12</sup> a étudié le taux de lactate dans la veine ombilicale en fonction de la durée du travail d'accouchement. Dans 52 cas normaux, la moyenne était de 38,4 mg/100 ml, moyenne qui s'élevait à 63,1 mg/100 ml après un travail prolongé. Dans les accouchements normaux, le même auteur a trouvé, toujours dans le sang de la veine ombilicale, une corrélation hautement significative entre le taux de lactate et la saturation en oxygène.

## MÉTHODES

Nous avons déterminé la concentration de l'ion lactate dans le sang de la veine ombilicale chez une série de 200 nouveau-nés.

Les dosages furent faits selon des méthodes enzymatiques, qui ont, sur les méthodes chimiques, l'avantage d'une plus grande spécificité. La déhydrogénase de l'acide lactique (LDH) catalyse, d'après une réaction réversible, l'équilibre†:



Au pH physiologique, l'hydrogénation du pyruvate est hautement favorisée; aussi l'équilibre est-il entièrement déplacé du côté du lactate. Cependant l'équilibre peut être déplacé du côté pyruvate:

(1) d'une part en augmentant le pH de la solution: l'ion  $\text{H}^+$  intervenant dans la réaction, un abaissement de sa concentration provoquera un déplacement de l'équilibre vers le pyruvate;

(2) d'autre part, si l'acide pyruvique est immédiatement éliminé au fur et à mesure de sa formation au moyen d'un réactif approprié, le lactate sera quantitativement transformé en pyruvate.

\* Moyennes calculées d'après les données de l'auteur.

† NADH = nicotinamide adénosine dinucléotide réduit, anciennement DPNH;  $\text{NAD}^+$  = nicotinamide adénosine dinucléotide, anciennement DPN<sup>+</sup>.

## DOSAGE DE L'ACIDE LACTIQUE DANS LE SANG OMBILICAL

Ces deux conditions sont réalisées dans la technique décrite par Horn et Bruns<sup>13</sup> en portant le pH à 10,5 au moyen d'un tampon au glyco-colle, et par l'adjonction d'une grande quantité de semicarbazide qui fonctionne comme capteur du pyruvate formé par déhydrogénation du lactate. C'est cette technique qu nous avons suivie.

La formation de NADH est stoechiométrique; on peut donc aisément calculer à partir du NADH formé, la quantité d'acide L-lactique présente dans le mélange réactionnel.

Nous avons procédé comme suit. Immédiatement après clampage du cordon ombilical, 10 ml de sang sont prélevés à la seringue dans la veine ombilicale et immédiatement mélangés à une quantité égale d'acide perchlorique réfrigérée à 6 pour cent. Le prélèvement et la détermination furent chaque fois faits en double, sauf dans les rares cas où la quantité de sang était insuffisante. Les échantillons furent gardés à la glacière et examinés endéans les 24 h après le prélèvement. Afin de contrôler la qualité des réactifs et le déroulement normal de la réaction enzymatique, chaque série de détermination fut accompagnée de celle d'un échantillon standard. Les concentrations d'acide lactique sont exprimées en mg de lactate par 100 ml de sang total.

Les réactifs spéciaux utilisés furent du NAD<sup>+</sup> et du LDH (Boehringer, Mannheim) et une solution 0,1 N de lactate racémique (British Drug House, Poole). Comme Horn et Bruns nous utilisons le photomètre Eppendorf à 366 m $\mu$  avec des cuvettes rectangulaires de 1 cm.

### RÉSULTATS

Notre étude porte sur 193 accouchements, parmi lesquels 7 naissances gémeillaires. Pour faciliter l'exposé des résultats, repris dans le *Tableau 1*,

*Tableau 1.* Taux de L-lactate dans le sang de la veine ombilicale

<i>Type d'accouchement (nombre d'observations indiqué entre parenthèses)</i>	<i>Taux de L-lactate* (mg/100ml)</i>	<i>Probabilité† calculée selon le test de Wilcoxon</i>
Accouchements normaux (123)	16,5 $\pm$ 0,7	} <u>p &lt; 0,0001</u>
—primipares (35)	20,5 $\pm$ 1,2	
—multipares (88)	14,8 $\pm$ 0,7	
Accouchements pathologiques		
—sièges (8)	16,6 $\pm$ 2,6	p = 0,97
—méconium (22)	20,4 $\pm$ 2,1	<u>p = 0,04</u>
—souffrance foetale (27)	33,1 $\pm$ 5,2	<u>p &lt; 0,0001</u>
—mort intra-partum par anoxie (2):		
cas n° 1	117,8	
cas n° 2	139,7	
Interventions obstétricales		
—césarienne (12)	20,9 $\pm$ 3,8	p = 0,96
—forceps moyen (5)	25,8 $\pm$ 5,1	<u>p = 0,02</u>
—forceps bas (10)	21,0 $\pm$ 4,0	p = 0,96
Jumeaux		
—1 <sup>e</sup> enfant (7)	16,4 $\pm$ 3,5	} <u>p = 0,04</u>
—2 <sup>e</sup> enfant (7)	29,4 $\pm$ 5,3	

\* Moyenne  $\pm$  erreur standard.

† Les p soulignés indiquent une différence significative par rapport à la valeur normale ou entre les deux séries indiquées.

nous avons divisé les cas en deux grands groupes: les accouchements normaux d'abord, la pathologie obstétricale ensuite.

### Accouchements normaux

Ce groupe comprend 123 observations. Il fut sélectionné sur la base des critères suivants:

- (1) Déroulement entièrement spontané de l'accouchement; durée normale de la période de dilatation et de la période d'expulsion; présentation céphalique.
- (2) Poids de naissance de 2,500 kg ou plus.
- (3) Pas de morbidité ni chez la mère, ni chez l'enfant.
- (4) Pas d'anesthésie, ni d'analgésie.
- (5) Pas d'interventions obstétricales, épisiotomie exceptée.

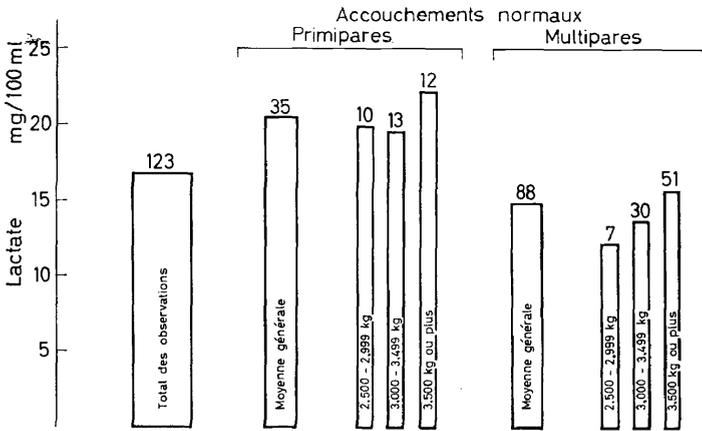


Figure 1. Influence de la parité et du poids de l'enfant sur le taux de lactate dans le sang de la veine ombilicale (accouchements normaux). Le chiffre au haut de chaque colonne indique le nombre d'observations

Le taux moyen d'acide lactique est de 16,5 mg/100 ml. Si l'on subdivise ce groupe d'après la parité et le poids de l'enfant on peut constater les différences suivantes:

(a) Chez les primipares la moyenne est de 20,5, chez les multipares elle est de 14,8 mg/100 ml. Cette différence est statistiquement très significative ( $p < 0,0001$ ).

(b) Si en plus de la parité, on tient compte du poids de l'enfant, on peut voir chez les multipares une augmentation graduelle en fonction du poids de naissance (Figure 1).

Chez les primipares on peut également noter une augmentation, mais qui ne se traduit que dans le groupe du poids le plus élevé. Cependant ces différences, tant chez les primipares que chez les multipares, ne sont pas significatives.

### Accouchements pathologiques

Si on classe dans une même catégorie tous les cas de souffrance foetale prononcée, ou de pathologie obstétricale grave, le taux d'acide lactique est en

## DOSAGE DE L'ACIDE LACTIQUE DANS LE SANG OMBILICAL

moyenne de 33,1 mg/100 ml avec des variations allant de 8,3 à 139,7 mg/100 ml, soit jusqu'à neuf fois le taux normal. Les taux les plus élevés, 117,8 et 139,7 mg/100 ml, ont été rencontrés dans 2 cas de décès intra-partum par anoxie intra-utérine. Si l'on classe les accouchements pathologiques, qui comprennent 70 observations, d'après la nature de la complication ou d'après l'intervention pratiquée, on obtient les résultats suivants (Figure 2) :

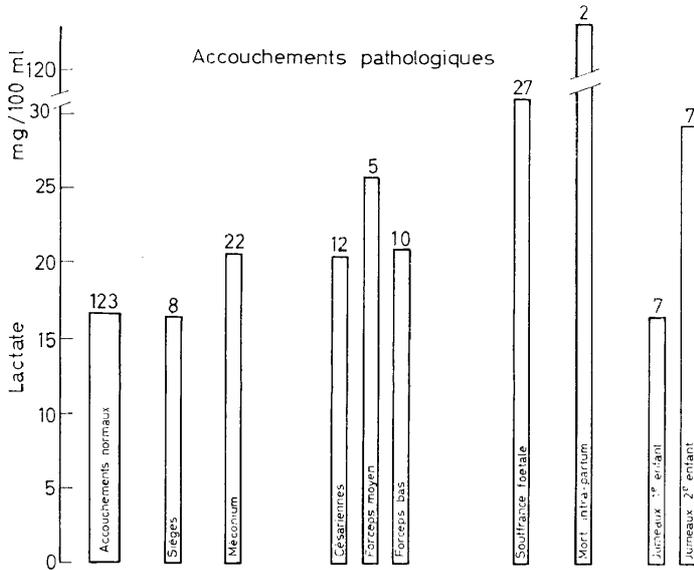


Figure 2. Influence de complications et d'interventions obstétricales sur le taux de lactate dans le sang de la veine ombilicale. Le chiffre au haut de chaque colonne indique le nombre d'observations

**Siège**—Pas de changement comparativement à la normale. Ce groupe ne compte pas de morbidité foetale ni néonatale.

**Méconium**—La teneur du sang en acide lactique est légèrement élevée. La différence est significative,  $p$  étant égal à 0,04. Ceci correspond bien à l'expérience clinique: la mortalité périnatale est légèrement supérieure à la normale quand le liquide amniotique est teinté de méconium. Un seul enfant dans cette série a présenté des signes graves de souffrance foetale, notamment un état convulsif qui persista pendant plusieurs semaines après la naissance: justement chez cet enfant le taux d'acide lactique était le plus élevé de toute la série (47,0 mg/100 ml).

**Interventions obstétricales**—Ni la césarienne, ni le forceps au détroit inférieur ne s'accompagne d'un taux d'acide lactique qui soit significativement supérieur aux chiffres normaux. Par contre le forceps au détroit moyen, intervention traumatisante, entraîne une élévation significative de l'acide lactique sanguin ( $p = 0,02$ ).

**Jumeaux**—Les résultats les plus intéressants ont été obtenu dans les grossesses gémellaires: le taux moyen d'acide L-lactique du premier enfant est normal; par contre l'élévation est significative chez le second ( $p = 0,04$ ).

Le *Tableau 2* donne les résultats détaillés chez sept paires de jumeaux. À noter que les chiffres chez le second enfant sont constamment élevés par rapport à ceux du premier. Une seule exception à cette règle: l'observation n° 2 où les proportions sont inverses. Il s'agissait de jumeaux univitellins biamniotiques avec anastomoses entre les deux circulations sanguines placentaires, hydramnios chez un enfant et liquide amniotique peu abondant chez

*Tableau 2.* Grossesse gémellaire: comparaison du taux de lactate chez le premier et le second enfant

<i>N° d'ordre</i>	<i>Taux de lactate du premier enfant (mg/100ml)</i>	<i>Intervalle entre les 2 naissances (minutes)</i>	<i>Taux de lactate du second enfant (mg/100ml)</i>
1	10,0	30	38,7
2	27,2	25	17,1
3	9,8	42	33,6
4	9,8	10	25,2
5	13,6	65	21,4
6	12,7	5	15,3
7	31,8	25	54,7
Moyenne:	16,4	29	29,4

l'autre. Dans cette complication relativement rare, connue sous le nom de jumeaux transfuseur-transfusé, il y aurait communication à sens unique entre les artéριοles placentaires des 2 enfants de telle façon que le sang peut passer de l'un enfant à l'autre mais pas inversement<sup>14,15</sup>. Après un certain temps, le jumeau transfuseur devient anémique et hypotrophique, le jumeau transfusé pléthorique et oedémateux. Ce dernier est le plus handicapé et finit souvent par mourir de décompensation cardiaque. Dans le cas qui nous intéresse le premier né était le jumeau transfusé; cette particularité peut très bien expliquer la proportion inverse du taux d'acide lactique constaté chez ces deux enfants.

### COMMENTAIRES

Si on compare nos résultats avec ceux acquis antérieurement, il apparaît que le taux sanguin d'acide lactique déterminé par cette méthode enzymatique est notablement inférieur à la concentration trouvée au moyen des méthodes conventionnelles de la chimie analytique. Rappelons les moyennes de Eastman (35 mg/100 ml), de Hendrickx (24,8 mg/100 ml) et de Vedra (38,4 mg/100 ml): alors que notre moyenne est de 16,5 mg/100 ml. Seuls les chiffres de Loeser correspondent bien avec les nôtres.

Par ailleurs il y a un parallélisme étroit entre les complications obstétricales susceptibles d'engendrer l'anoxie foetale et le taux d'acide lactique dans le sang de la veine ombilicale à la naissance.

Dans les cas normaux ce sont essentiellement la primiparité et le poids de l'enfant qui déterminent la quantité de travail que doit fournir l'utérus pour expulser son contenu. On a pu voir qu'un de ces paramètres influence

modérément mais nettement la quantité de lactate dans le sang de la veine ombilicale.

Dans la série pathologique ce sont les interventions et les complications qui entraînent une mortalité ou une morbidité périnatales accrues qui s'accompagnent d'une élévation parfois très importante du lactate sanguin foetal.

Le cas des grossesses gémellaires est particulièrement démonstratif. Il est établi que la mortalité est légèrement supérieure chez le second jumeau. Little et Friedman<sup>16</sup> ont fait une étude comparative de la mortalité périnatale dans les grossesses gémellaires: le pourcentage de décès est de 7,2 chez le premier enfant et de 11,5 chez le second enfant dans leur série personnelle de 417 cas, et respectivement de 10,9 et de 14,2 d'après les données collationnées dans la littérature et se rapportant à 2 352 paires de jumeaux. On sait par ailleurs qu'après la naissance du premier enfant la rétraction du muscle utérin entraîne une diminution considérable de l'aire placentaire<sup>17</sup> et donc une chute équivalente de la circulation placentaire, chute qui entraîne à son tour un apport diminué d'oxygène vers le second enfant. Rappelons que cette diminution de l'aire placentaire peut aller jusqu'à entraîner parfois un décollement partiel ou même total du placenta<sup>18</sup>.

Cette hypoxie intra-utérine du second jumeau est modérée et de courte durée; elle provoque cependant une augmentation du taux de lactate qui est d'environ 100 pour cent par rapport à celui du premier-né. Il s'agit d'une véritable expérience de la nature dans laquelle apparemment la seule variable importante à notre point de vue est l'hémodynamique placentaire qui ne peut influencer, pendant le court laps de temps qui sépare généralement la naissance des jumeaux, que l'oxygénation du second enfant par rapport au premier.

Il semble donc probable que le taux de lactate dans la veine ombilicale soit déterminé, du moins en partie, par le degré d'oxygénation foetale. Mais d'autres facteurs peuvent être également en cause. En effet Huckabee<sup>19-21</sup>, dans un travail fondamental sur les variations du taux sanguin de pyruvate et de lactate dans l'hypoxie, a démontré que la production de lactate n'est pas nécessairement en rapport avec un manque d'oxygène dans les tissus. Il existe un équilibre entre les concentrations de lactate et de pyruvate, comme l'indique la réaction signalée à la page 492. L'augmentation de lactate ne dénote une hypoxie que pour autant que la concentration en pyruvate reste constante. Formulée autrement, cette proposition signifie que le *rapport* des concentrations de lactate et de pyruvate varie d'une façon significative avec l'approvisionnement en oxygène. Seule une partie de l'augmentation de lactate—dénommée par Huckabee le lactate "en excès"—correspond réellement à la dette d'oxygène. L'étude du rapport lactate/pyruvate fera l'objet d'une publication ultérieure.

Dès à présent il apparaît que pour l'étude de l'incidence des facteurs obstétricaux sur le comportement ultérieur de l'enfant, il est indiqué de recourir au dosage dans le sang du cordon du lactate, et sans doute aussi du pyruvate.

## Sommaire

(1) La détermination de l'acide lactique dans le sang de la veine ombilicale par des méthodes enzymatiques donne des résultats faciles à reproduire; les

taux trouvés sont moins élevés que ceux obtenus par l'application de méthodes chimiques conventionnelles.

(2) Le taux d'acide L-lactique dans le sang de la veine ombilicale est élevé dans les complications obstétricales, qui entraînent un risque accru pour l'enfant.

(3) Les grossesses gémeillaires sont d'un intérêt particulier pour l'étude de l'anoxie intra-utérine.

*Ce travail était réalisé avec l'aide d'un subside du "Fonds de la Recherche Scientifique Médicale".*

*Je remercie le Professeur R. Ruysen et le Dr R. Wieme de leurs précieux conseils et Mademoiselle H. de Backer de l'aide technique qu'elle m'a apportée.*

## Références

- <sup>1</sup> I. Kaiser. "The measurement of fetal oxygen", *Am. J. Obstet. Gynecol.*, **77**, 1120 (1959)
- <sup>2</sup> M. Reiss. "Das Verhalten des Stoffwechsels bei der Erstickung neugeborener Ratten und Mäuse", *Z. ges. exper. Med.*, **79**, 345 (1931)
- <sup>3</sup> J. F. Fazekas, F. A. D. Alexander et H. E. Himwich. "Tolerance of the newborn to anoxia", *Am. J. Physiol.*, **134**, 281 (1941)
- <sup>4</sup> H. E. Himwich, A. O. Bernstein, H. Herrlich, A. Chesler et J. F. Fazekas. "Mechanism for the maintenance of life in the newborn during anoxia", *Am. J. Physiol.*, **135**, 387 (1942)
- <sup>5</sup> E. J. Van Liere. "Anoxia: Its Effect on the Body", University of Chicago Press, Chicago (1942)
- <sup>6</sup> K. W. Cross, E. M. Killick et A. Huggett. "Hypoxia in fetal and neonatal life", *Am. J. Obstet. Gynecol.*, **68**, 81 (1954)
- <sup>7</sup> C. A. Villee et R. Kimmenziel. "Effects of anoxia on intermediary metabolism in fetal tissues", *Études néo-natales*, **3**, 3 (1955)
- <sup>8</sup> W. Blair Bell, L. Cunningham, M. Jowett, H. Millet et J. Brooks. "Metabolism and acidity of the foetal tissue and fluids", *Brit. Med. J.*, **1**, 126 (1928)
- <sup>9</sup> N. J. Eastman et C. M. McLane. "The lactic acid content of umbilical cord blood under various conditions", *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, **48**, 261 (1931)
- <sup>10</sup> A. Loeser. "Atmung und Gärung der überlebenden Placenta des Menschen sowie deren Beeinflussung durch Hormone nebst dem Milchsäurestoffwechsel der lebenden Placenta im trächtigen Tiere", *Arch. Gynäkol.*, **148**, 118 (1932)
- <sup>11</sup> C. H. Hendrickx. "Studies on lactic acid metabolism in pregnancy and labor", *Am. J. Obstet. Gynecol.*, **73**, 492 (1957)
- <sup>12</sup> B. Vedra. "Contribution to the pathogenesis of intra-uterine asphyxia after protracted labor", *Biol. Neonatorum*, **2**, 121 (1960)
- <sup>13</sup> H. D. Horn et F. H. Bruns. "Quantitative Bestimmung von L(+)-Milchsäure mit Milchsäuredehydrogenase". *Biochim. et Biophys. Acta*, **21**, 378 (1956)
- <sup>14</sup> K. de Snoo. *Leerboek der Verloskunde*, pp. 510-511, Wolters, Groningen-Batavia (1946)
- <sup>15</sup> T. N. A. Jeffcoate et J. J. Scott. "Polyhydramnios and oligohydramnios", *Can. Med. Assoc. J.*, **80**, 77 (1959)
- <sup>16</sup> W. A. Little et E. A. Friedman. "The twin delivery: Factors influencing second twin mortality", *Obstet. Gynecol. Survey*, **13**, 611 (1958)
- <sup>17</sup> N. J. Eastman. Editorial note, *Obstet. Gynecol. Survey*, **13**, 799, 803 (1958)
- <sup>18</sup> K. Kotsalo. "Observations on the premature separation of the normally implanted placenta", *Acta Obstet. Gynecol. Scand.*, **37**, 155 (1958)
- <sup>19</sup> W. E. Huckabee. "Relationships of pyruvate and lactate during anaerobic metabolism: I. Effects of infusion of pyruvate or glucose and of hyperventilation", *J. Clin. Invest.*, **37**, 244 (1958)
- <sup>20</sup> W. E. Huckabee. "Relationships of pyruvate and lactate during anaerobic metabolism: II. Exercise and formation of O<sub>2</sub>-debt", *J. Clin. Invest.*, **37**, 255 (1958)
- <sup>21</sup> W. E. Huckabee. "Relationships of pyruvate and lactate during anaerobic metabolism: III. Effect of breathing low-oxygen gases", *J. Clin. Invest.*, **37**, 264 (1958)