

RÉSULTATS HÉMATOLOGIQUES DANS LA TRANSFUSION AVEC DU SANG HÉTÉROGÈNE FIXÉ (*).

A. CARDIN et G. TORRESINI

(Institut de Physiologie de la R. Université de Padova
dirigé par le prof. V. DUCCESCHI)

Dans des recherches précédentes (CARDIN, 1934; CARDIN et RIGONI, 1934) on a observé qu'une transfusion de sang (veau) hétérogène gluco-formolisé, faite à des animaux soumis à des saignées répétées, reporte ces sujets au taux hématique pré-expérimental en une période de temps remarquablement inférieure à celle qui est nécessaire aux animaux de contrôle anémiés, mais non perfusés.

Ayant exclu, en voie expérimentale, l'hypothèse que les variations hémocrasiques, dues à l'apport de sang fixé, dépendent d'une action exercée sur le système érythropoïétique par la formaline ou par les composants liquides ou corpusculés du menstrue hématique, nous nous sommes demandé si les valeurs hématiques, relevées dans les animaux perfusés, représentaient une augmentation réelle des corpuscules, ou si elles étaient l'expression d'un phénomène de concentration qui se produisait à la charge de la masse totale du sang. Ayant résolu ce problème dans les termes que nous exposerons ensuite, nous avons étudié, dans les diverses phases des expériences et dans les divers groupes d'animaux, les modifications volumétriques, cytologiques et colorimétriques du sang, de même que les conditions que présentaient les organes et les tissus hématopoïétiques après la mort de l'animal.

Comme sujets pour nos recherches, nous avons choisi quelques nichées de jeunes chiens, composées, au moins, de trois unités, destinées à former trois groupes différents. Le sang de ces animaux était préalablement soumis à un examen diligent ayant pour but d'établir: a) le rapport volumétrique plasma-globules (hématocrite); b) la quantité d'érythrocytes présents dans l'unité de volume (chambre de THOMAZEISS); c) les formules hématologiques soit de la série blanche, soit de la série rouge (coloration sur frottis de MAY-GRÜNWARD et GIEMSA

(*) *Atti Soc. Med. Chir. e Bollett. Fac. Med. e Chir. R. Univ. Padova*, Seduta 13, VII, 1934, (XII). - Pour la bibliographie voir la note complète.

dans la nouvelle combinaison de PAPPENHEIM); *d*) le taux hémoglobinique (SAHLI et BÜRKER); *e*) la quantité des érythrocytes à réaction granulo-filamenteuse (méthode PAOLAZZI).

Après avoir fait cet examen préliminaire qu'on répétait avant et après chaque saignée, on soumettait les animaux, appartenant aux deux premiers groupes, à des soustractions fractionnées de sang, jusqu'à ce que le taux globulaire pré-expérimental n'était réduit à moitié. On perfusait les sujets du 1^{er} groupe dans la proportion de 4 cc de sang de veau pro Kg de poids de l'animal. On procédait à la détermination de la masse totale du sang des animaux du 2^d groupe, et on prélevait quelques fragments d'organes et de tissus pour la préparation histologique.

La signification que, dans des conditions pathologiques, peut avoir la détermination de la masse sanguine de l'homme, a suggéré à la pratique clinique une série de méthodes fondées sur le micro-dosage de substances chimiques et colorantes préventivement inhalées, ou injectées dans l'organisme (GRÉHANT et QUINQUAUD, 1882; KOTTMANN, 1906), sur l'identification des hématies introduites dans la circulation sanguine (MALASSEZ, 1875; ASHBY, 1925); sur des réactions sérologiques (BEHRING, 1911; SCHÜRER, 1911). Nous avons préféré la méthode comparative directe.

Attendu que la saignée, répétée plusieurs fois sur nos petits chiens, avait causé l'obstruction des vaisseaux artériels du cou et des membres antérieurs et postérieurs, nous ôtions le sang à nos sujets par l'aorte — en introduisant une canule dans le tronc vasal, un peu au-dessus de la bifurcation iliaque. On recomposait les viscères de l'animal dans la cavité abdominale, on les maintenait "*in situ*," moyennant une bande en gaze fixée directement à la peau; on lubrifiait et on réchauffait moyennant une couche de coton imbu de sol. physiologique. Le liquide de lavage, constitué de parties égales de liquide Ringer et de citrate de Na (à 2,70%) était maintenu à la t° du corps et introduit en circulation, à l'aide d'un raccord qui faisait communiquer une burette jaugée de 500 cc avec la v. jugulaire de l'animal.

La ventilation pulmonaire était assurée moyennant une pompe automatique réglée d'avance sur le rythme respiratoire de l'animal et le liquide physiologique d'afflux se trouvait en rapport quantitatif direct avec le menstue qui défluait de l'ouverture de l'aorte.

Après un premier jet on recueillait quelques cc de sang pour les examens relatifs, et on laquait rapidement le menstue hématique mo-

yennant une sol. à 1% de Na_2CO_3 et, à expérience finie, on portait à volume le liquide extrait avec H_2O , on le filtrait sur papier et on le soumettait à l'examen colorimétrique selon la méthode de BÜRKER. Des données numériques des corpuscules et de celles de la quantité de l'Hb, obtenues dans le sang normal, comparativement avec le volume et les valeurs de l'Hb qu'on trouve dans le sang laqué, il était donc facile de remonter à la masse totale du sang extrait de l'animal.

Lorsque les conditions hématiques, minorées par les saignées précédentes, avaient disparu, la série des sujets transfusés subissait, elle aussi, le même traitement qu'on a indiqué pour les animaux du 2^d groupe. Les chiens de contrôle (3^{ième} groupe) n'étaient ni saignés ni perfusés, mais, comme aux autres animaux, on procédait à la ligature des vaisseaux dans les mêmes conditions de temps et de lieu; on faisait les mêmes examens et les mêmes déterminations hématologiques et on procédait à la détermination de la masse totale du sang et à la préparation histologique de fragments d'organes et de tissus.

* * *

Quoique nos recherches sur la masse sanguine aient été faites avec scrupule et avec uniformité de méthode, et que nos sujets eussent de 60 à 80 jours, nous devons remarquer que, tandis que les résultats obtenus peuvent être considérés probatifs pour les valeurs d'ensemble, les quantités de chaque sujet s'encadrent dans une comparaison inter-familiale plutôt que dans un rapport de poids. Les sujets du 1^{ier} et ceux du 3^{ième} groupe nous offrent, p. ex., les données suivantes.

1^{ier} groupe (animaux anémiés et perfusés):

Sujet	Z	poids Kg	4,6	masse extraite cc	270 = 1/17	du poids du corps
"	K	"	4,5	"	330 = 1/13	" " " "
"	P	"	5,6	"	300 = 1/19	" " " "
"	T	"	3,7	"	185 = 1/20	" " " "
"	L	"	4,7	"	280 = 1/17	" " " "

3^{ième} groupe (animaux non anémiés ni transfusés) (1):

Sujet	Z ₂	poids Kg	5,2	masse extraite cc	310 = 1/16	du poids du corps
"	K ₂	"	3,9	"	300 = 1/13	" " " "
"	P ₂	"	7,1	"	330 = 1/21	" " " "
"	T ₂	"	3,5	"	180 = 1/2	" " " "
"	L ₂	"	6,6	"	250 = 1/26	" " " " (2)

(1) Les animaux de la même portée sont marqués avec une seule lettre initiale.

(2) L'animal est mort avant la fin de l'expérience.

En déduisant les moyennes des valeurs particulières nous avons:

Pour le 1^{er} groupe, Kg 4,6 et cc 271 = 1/17 du poids du corps

Pour le 3^{ème} groupe, Kg 1,3 et cc 274 = 1/19 du poids du corps

Les animaux appartenant au 2^{ème} groupe (seulement anémiés) n'offrent pas des valeurs bien diverses de celles du 1^{er} groupe: en déduisant les moyennes nous avons

2^d groupe (sujets Z₁, K₁, P₁, T₁):

poids Kg 4-5, masse extraite cc 270 = 1/17 du poids du corps.

Si de cette série d'expér. nous voulons remonter à des considérations d'ordre général, sans tenir compte du cas L₂, dans lequel la détermination de la masse sanguine a été préjudiciée par la mort prématurée de l'animal, nous devons admettre que, dans la saignée autant que dans la transfusion directe du liquide hématique, l'animal rétablit rapidement et complètement son équilibre de masse, sans qu'il y ait de différences entre les deux groupes.

* * *

Si nous passons à considérer les données, obtenues dans les animaux du 1^{er} groupe avec les épreuves colorimétriques, avec la détermination du rapport plasma-globules, avec les examens quantitatifs et qualitatifs des corpuscules sanguins, nous observons que les valeurs relevées à l'hématocrite se trouvent en un rapport approximatif avec les quantités de Hb plutôt qu'avec le nombre des hématies (Fig. I). Ce rapport concerne la période post-transfusion, car, pendant l'anémisation et particulièrement après les premières saignées, nous pouvons trouver, à l'examen des globules, des valeurs plus élevées que ne le comportent les déterminations hémovolumétriques.

Le comportement des hématies granulo-filamenteuses, relevé dans les animaux anémiés et transfusés, a une importance singulière en ce qu'il documente, mieux que les hématies et que l'Hb, les phases de l'activité érythro-poïétique de l'organisme.

Si nous examinons le graphique de la Fig. 2, nous relevons clairement que, dans la série des saignées, c'est toujours la 1^{ère} qui répond avec un jet de réticulocytes plus intense et de plus longue durée. La 2^{de}

saignée est caractérisée par une réaction faible, mais encore soutenue dans le temps, tandis que dans les soustractions successives, les incursions du taux réticulocytaire augmentent en hauteur, aux dépens des valeurs minimales. Une transfusion de quelques cc de sang hétérogène gluco-formolisé, faite à quelques animaux apparemment minorés dans leur activité hématopoïétique, est encore à même d'élever le taux des réticulocytes au-dessus des valeurs atteintes par les sujets après la première saignée.

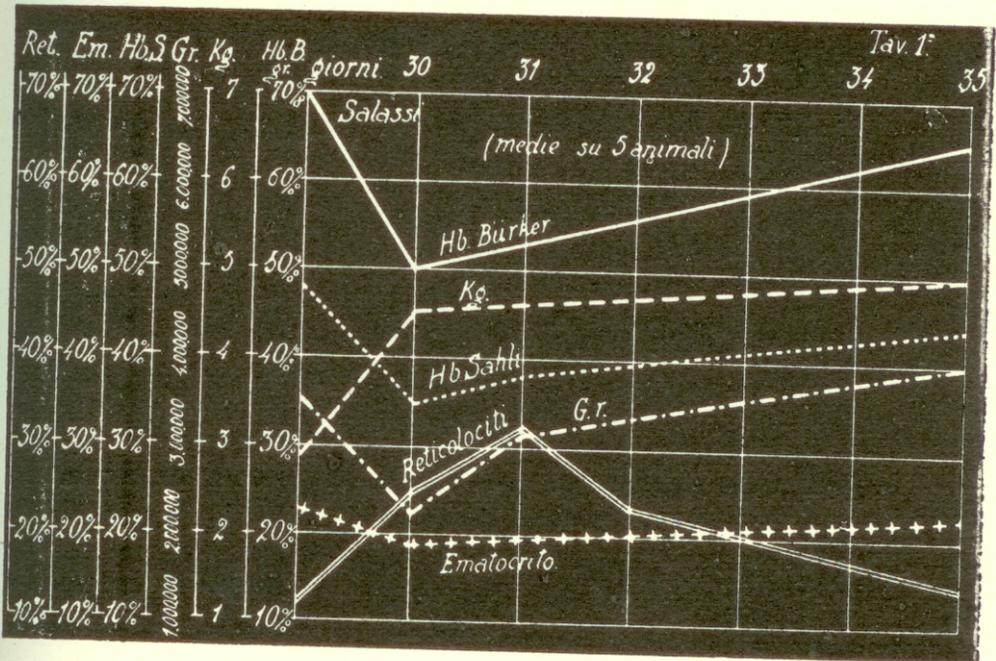


Fig. 1 - Animaux anémiés et transfusés avec sang hétérogène fixé.

La série leucocytaire étudiée dans le sang de ces animaux, avant les saignées et aussi après la transfusion, résulte tout à fait la même, tandis que la présence de cellules nucléolées, appartenant à la série hémoglobinique, résulte très limitée et liée particulièrement à l'individualité du sujet. Ces cellules peuvent aussi augmenter dans les stades intermédiaires et dans les stades finals des saignées, mais elles dimi-

nuent et disparaissent complètement dans les jours qui suivent la transfusion.

Le cadre hématologique, présenté par les animaux de contrôle, ne nous a pas offert, comme il était à prévoir, des détails dignes d'être relevés. Nous rapportons les valeurs obtenues (Fig. 3) dans le but de faire une comparaison et nous remarquons seulement que les éléments à réaction granulo-filamenteuse ont subi, en 30 jours, une réduction remarquable.

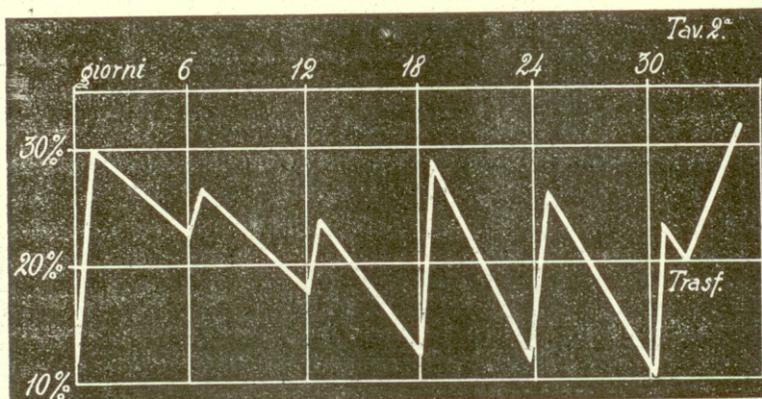


Fig. 2 - Comportement des réticulocytes dans les animaux anémiés et transfusés.

*
* * *

A un premier examen des préparations histologiques on voit bien nettement la différence que présente la moelle des os, prélevée de la diaphyse fémorale des chiens saignés et transfusés, comparée avec la moelle des animaux seulement anémiés, ou bien ni anémiés ni transfusés. La moelle des os de ces derniers (Fig. 4) résulte, comme normalement, constituée en grande partie par la graisse, parmi les mailles de laquelle se trouvent les corpuscules granulo-et érythro-cytiques, les éléments lympho-et mono-cytiques, quelques plasmacellules et les mégacaryocytes.

Dans les animaux, anémiés sans transfusion successive, le tissu hémopoïétique prend le dessus sur le tissu adipeux (Fig. 5), tandis que, dans les préparations des animaux saignés et transfusés, la moelle des

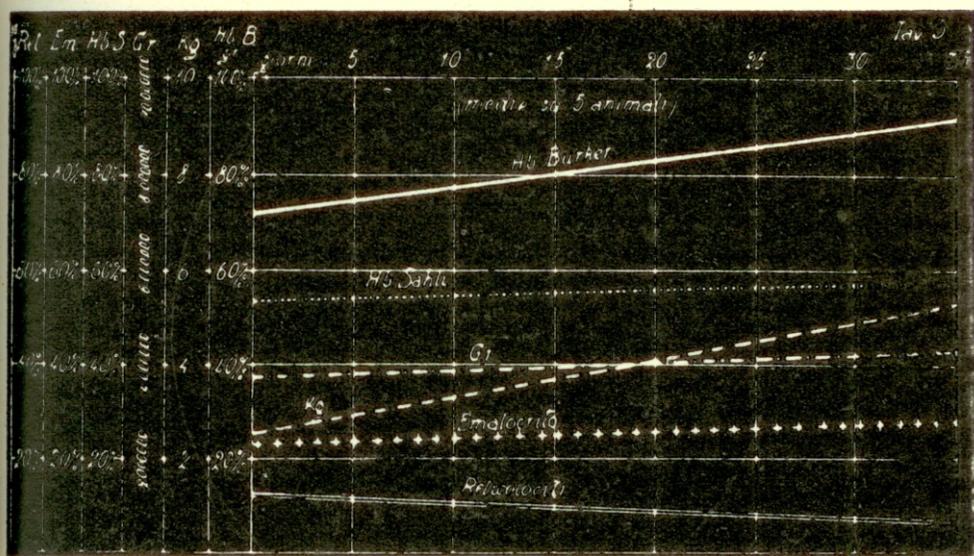


Fig. 3. - Animaux de contrôle.

os, dont on commence à pouvoir apprécier, macroscopiquement, l'augmentation de consistance et l'aspect plus rosé, résulte formée presque exclusivement par le tissu hémopoïétique, les éléments duquel se présentent tassés et contenus dans une trame légère de tissu connectif (fig. 6).

Particulièrement augmentés se présentent les érythrocytes et, parmi ceux-ci, les érythroblastes de la plus jeune série. Leurs dimensions sont à peu près celles d'un granulocyte, avec protoplasme à réaction nettement basophile et noyau presque rond, à chromatine irrégulièrement disposée en filaments grossiers, selon le type décrit par FERRATA. Les érythroblastes orthochromatiques et les normoblastes se trouvent dans les mêmes proportions numériques, le nombre des mégacaryocytes semble aussi augmenté.

Pendant que dans le foie des animaux, appartenant aux trois groupes divers, aucun caractère différentiel ne se manifeste, la rate des

sujets anémiés et transfusés présente une augmentation de la pulpe splénique, comparativement aux follicules de MALPIGHI. Le nombre des cellules à type endothélial résulte aussi augmenté et, dans leur cy-

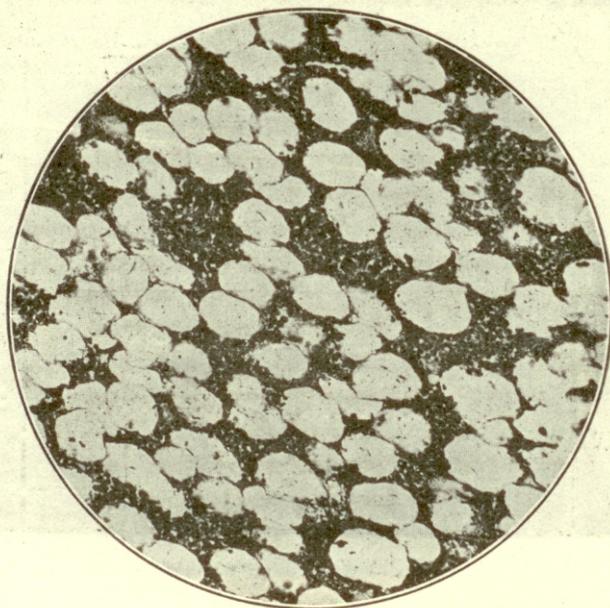


Fig. 4. — Moelle des os de chiens de contrôle

toplasme, se rendent perceptibles quelques fragments de substance fagocytée. Les corpuscules de MALPIGHI paraissent tout à fait normaux, tandis qu'autour des veines on observe souvent des infiltrations parvi-cellulaires déjà décrites par OELLER (1925). La pulpe splénique des animaux seulement saignés maintient normaux les rapports volumétriques avec les follicules qui semblent, en quelque point, légèrement hyperplasiques.

Quoiqu'on connût (BOTTAZZI, 1895; BARCROFT 1906; HALPERN, 1908; VEIL 1917 et 1925; BOCK, 1921; BINET, 1927) que, dans les réductions globulaires à la suite d'hémorragies et de saignées, se détermine dans l'organisme une hyperplasie réactive, capable de compenser en peu de temps le volume du sang perdu, nous avons cru utile,

aux buts de nos recherches, d'associer la recherche hémovolumétrique à l'ensemble des autres examens hématologiques. Si les déterminations faites en ce sens n'ont pas fourni des données diverses pour le volume,

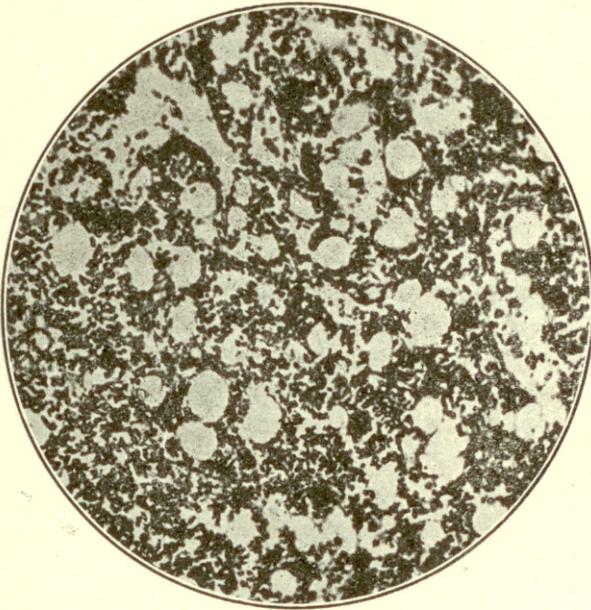


Fig. 5. - Moelle des os de chiens anémiés et non transfusés

dans les 3 groupes d'animaux sur lesquels on expérimentait, elles nous ont permis, toutefois, d'observer un comportement «inter-familial» qui mérite d'être signalé.

La pratique médicale a accueilli aujourd'hui, avec une grande faveur, le secours diagnostique qui, dans la différenciation des diverses formes d'anémie, peut dériver de la détermination indirecte de la masse totale du sang. Ce critérium doit être, selon nous, plus profondément étudié, puisque, s'il est possible que les conditions actives de l'équilibre hydrique puissent s'altérer sous l'influence d'une cause morbide particulière, la constatation que la valeur brute de la masse sanguine peut varier d'un sujet à l'autre, et dans des limites que souvent il est impossible de prévoir, n'est pas moins fondée.

Les examens hématologiques faits sur nos animaux ne se prêtent pas à des analyses partielles, parce qu'ils concourent harmoniquement à exprimer l'état hématique des sujets dans la double phase de ca-

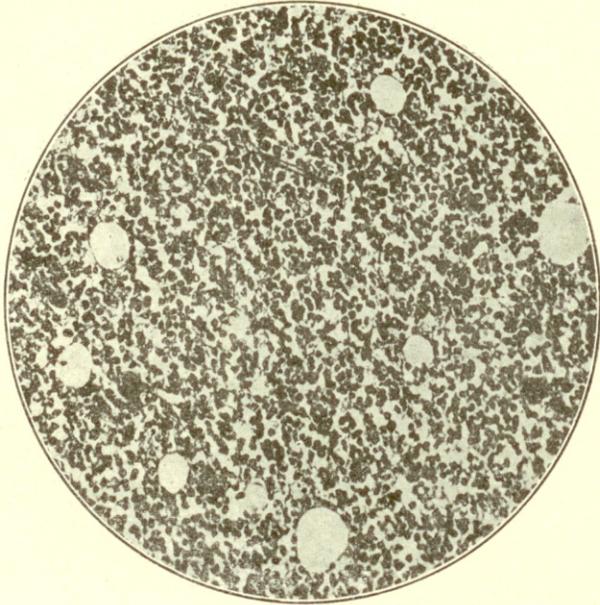


Fig. 6 - Moelle de os des chiens anémiés et transfusés

rence et de régénération. Le caractère de détermination des processus biologiques se révèle distinctement dans les deux périodes de nos expériences: à une diminution absolue des érythrocytes correspond, pendant les saignées, une augmentation relative du taux hémoglobinique et de la fraction corpusculée du menstre hémastique, tandis qu'après la transfusion, diminuent, encore en mesure relative, les valeurs hémoglobaniques et volumétriques des corpuscules et augmente la quantité numérique des hématies. Nous devons rechercher les éléments qui conditionnent ces singulières possibilités de rétablissement organique dans le volume divers et dans la diversité d'âge et de concentration de la cellule hématique.

Le taux des réticulocytes, illustré dans un tableau à part (Fig. 2),

en considération de l'importance que nous avons voulu attribuer à cet examen, montre la rapidité avec laquelle se produisent, dans l'organisme, les processus de restauration hématique et le caractère décroissant de leur intensité. Tandis que les hématologues admettent que ces cellules, dérivées du protoplasma moyennant des modifications morphologiques d'une substance basique (FERRATA), doivent être considérées de nature régénérative, la question qui concerne l'action exercée par la transfusion sur la substance granulo-filamenteuse (ISTOMANOWA, 1926, KRUMBAAR, 1930) n'est pas encore résolue.

De ce que nous pouvons déduire de nos expériences, il nous semble qu'il n'y a aucun doute que le taux réticulocytaire augmente immédiatement après la transfusion et diminue parallèlement au complexe de restauration hématique.

L'ensemble des résultats obtenus des examens hématologiques trouve, enfin, sa sanction dans l'examen histologique de la moelle des os où, dans les animaux anémiés et transfusés, ce tissu présente son activité fonctionnelle exaltée au plus haut degré.

Si les travaux précédents sur cet argument (DUCCESCHI et CARDIN, 1932; CARDIN, 1934; CARDIN et RIGONI, 1934) n'offrent pas des notions suffisantes pour nous orienter sur la signification des phénomènes consécutifs à la transfusion de sang hétérogène fixé, nous sommes portés à admettre, après nos recherches actuelles, que, en ligne générale, les modifications hémocrasiques et histologiques, relevées dans les animaux transfusés, doivent être considérées comme l'expression d'un stimulus exercé, par le menstrue introduit, sur le système hémato-poïétique de l'organisme.

Soit que la nature de ce stimulus résulte liée aux produits de destruction des globules ou bien aux substances lipoïdes et protéiniques du sang, soit qu'elle rentre dans ce qu'on appelle "Wunderhormones", de HABERLANDT, elle nous est inconnue, du moins pour le moment.

Loin de représenter une solution, même partielle, de ce problème, ces recherches visent à en constituer les présuppositions expérimentales.

La transfusion homogène intense, comme substitution de masse, ne répond pas aux prémisses qu'on lui a attribuées, même si, en un premier moment, le sang introduit peut influencer favorablement la crase

de l'organisme récepteur. Elle devra rester circonscrite dans le champ de la thérapie d'urgence, parce que la cellule hématique, considérée comme tissu fonctionnant, et, par conséquent, comme élément mûr, est liée à une spécificité biologique qui surpasse les communes classifications d'espèce et de groupe. Si la transfusion de sang, soit homogène qu'hétérogène, peut être utilisée d'une manière quelconque par l'organisme, cela est dû exclusivement à l'action spécifique ou générale des substances contenues dans le menstree injecté.

Conclusions. - 1 - Les animaux (chiens), anémiés moyennant des soustractions fractionnées de sang, de même que ceux qui ont été anémiés et transfusés avec du sang hétérogène (veau) fixé, rétablissent complètement et rapidement leur équilibre de masse.

2 - Les examens volumétriques, cytologiques et colorimétriques du sang, pratiqués sur les animaux (chiens), soit pendant les saignées, soit après la transfusion, ont fourni des données hématologiques favorables à l'apport direct de sang hétérogène (veau) fixé.

3 - Les préparations histologiques de fragments d'organes et de tissus prélevés des animaux appartenant aux trois groupes divers d'expériences (contrôles, seulement anémiés, anémiés et transfusés) ont confirmé les résultats obtenus des recherches hématologiques.

Le sang hétérogène (veau) fixé et introduit dans les animaux (chiens), préalablement anémiés, exerce une action stimulante sur l'appareil hématopoïétique de l'organisme qui le reçoit.
