

RECHERCHES SUR LE CONTENU EN RÉTICULOCYTES DES DIVERS ORGANES D'ANIMAUX ANÉMIÉS EXPÉRIMENTALEMENT (*).

G. CERULLI et V. CHIODI

(*Institut d'Anatomie Pathologique de la R. Université de Firenze,*
dirigé par le Prof. BINDO DE VECCHI).

Presque tous les AA., désormais, considèrent les réticulocytes, ou hématies à substance granulo-filamenteuse, comme des éléments jeunes de la série rouge.

Ces cellules hématiques, qui, soumises à des colorations vitales, montrent, dans leur cytoplasme, un réticule délicat contenant de petites masses granulaires d'une substance basophile, seraient des érythrocytes jeunes, capables de fournir un index de factivité régénérative des organes hématopoïétiques. Nous dirons tout de suite que, d'après la théorie de EHRLICH, quelques AA. considèrent aussi les réticulocytes comme des éléments dégénératifs.

Les rapports entre la substance granulo-filamenteuse avec les granulations basophiles, avec la substance métachromatique et avec le phénomène de la polychromasie sont tout à fait incertains.

Les recherches faites jusqu'ici par les plus illustres hématologistes ont seulement établi que toutes ces variétés structurales et histologiques des hématies sont l'expression d'un stade différent de maturation, c'est-à-dire que la substance granulo-filamenteuse, comme la polychromatophilie, constituerait, peut-être, l'étape structurale la plus proche de la maturité des hématies.

La signification fonctionnelle des réticulocytes est douteuse. La connaissance de l'origine et de la constitution de la substance granulo-filamenteuse aurait une grande importance, car elle permettrait de connaître plus intimement le mécanisme histo-chimique des processus régénératifs du sang et la préparation aux échanges gazeux de la respiration. Mais aussi dans ce champ les opinions sont disparates et les conclusions sont obscures et presque nulles.

(*) *Lo Sperimentale. Archivio di Biologia normale e patologica*, LXXXIX, 35 42. - Pour la bibliographie voir la note complète.

GRAWITZ, p. ex., soutient qu'il s'agit d'un artifice de la technique qu'on emploie pour la coloration. D'autres AA. (ENGEL, etc.) soutiennent, au contraire, qu'il s'agit de résidus nucléaires, comme les « anneaux de CABOT » et les « corps de JOLLY ». Cette hypothèse est nettement refusée par d'autres AA. (PAPPENHEIM, DAVIDSON, etc.) qui font remarquer que, même dans des animaux à hématies nucléées, on peut trouver les réticulocytes, et que les substances colorantes électives pour les noyaux ne réussissent pas à mettre en évidence la substance granulo-filamenteuse.

PAPPENHEIM même pense à une fixation de la substance colorante basique sur des dérivés de la dissociation de substances lipoides des hématies, mais FIESSINGER et LAUR objectent que les substances colorantes électives des graisses ne colorent pas du tout la substance granulo-filamenteuse. ASKANAZY et COHN parlent, au contraire, d'influences particulières du plasma altéré sur les globules rouges.

Il y a des AA. qui retiennent qu'il s'agit de mitochondres, tandis que KEY le nie, se basant sur des faits physico-chimiques. COOKE et d'autres AA. pensent qu'il s'agit d'hémoglobine; la matière colorante réussirait à la mettre mieux en évidence dans les réticulocytes que dans les globules rouges normaux, parce que dans ceux-ci une membrane lipoiide servirait d'enveloppe protectrice. DAVIDSON n'accepte pas cette hypothèse.

Cette incertitude, relativement à l'origine, à la composition chimique et à la valeur fonctionnelle des réticulocytes, nous a décidés à faire une recherche basée sur des éléments essentiellement fonctionnels, dans l'espoir d'apporter quelque contribution à l'interprétation de la substance granulo-filamenteuse et de la valeur que celle-ci peut avoir par rapport aux constituants des globules rouges mûrs et à leur fonction fondamentale: l'échange respiratoire.

Dans ce but nous avons dirigé nos recherches vers la détermination du contenu, en réticulocytes, du sang de divers organes et précisément du poumon qui, de même que les globules rouges, est si étroitement lié, du côté fonctionnel, aux phénomènes respiratoires, et d'organes parenchymateux, à échange particulièrement actif et d'une importance fondamentale dans les fonctions érythropoïétiques: le foie et la rate.

*
* * *

Avec des méthodes différentes nous avons provoqué, dans un

groupe de 10 lapins, une forte anémie secondaire, dans le but d'obtenir un sang particulièrement riche en réticulocytes. A 5 animaux on pratiqua, à plusieurs reprises, une saignée, moyennant piqûre du cœur, avec soustraction de 20 cc de sang la première fois, et de 10 cc en deux soustractions consécutives, faites à jours alternés. A 5 autres animaux on fit des injections endoveineuses de 5 cc d'une solution de phénylhydrazine (1%), répétées deux fois, à jours alternés. Deux jours après la dernière intervention anémiant, on sacrifiait les animaux et on les soumettait aux opérations suivantes.

Après les avoir isolés, avec pincement de leur pédoncule, on procédait à l'ablation d'un poumon, du foie et de la rate de chaque animal et on passait rapidement ces viscères dans une solution physiologique tiède; on les essuyait sans les presser et, après avoir introduit la lame d'un mince bistouri perpendiculairement à leur surface, bien à l'intérieur du parenchyme, avec la pipette compte-globules de trois divers appareils de BUERGER on aspirait le sang à la surface de l'incision, jusqu'à la marque 0,5. On aspirait, ensuite, jusqu'à remplir l'ampoule, un liquide colorant, constitué par une solution physiologique de *Thyode* (1), qui, comme on le sait, a la propriété de ne pas altérer la structure des hématies. A ce liquide on avait ajouté gr 0,10% de Brillant-Kresyl-Blau.

Après moins de 10 minutes, on examinait le contenu des pipettes. En voici les résultats:

Iier GROUPE (anémie post-hémorragique)

	Total	Globules rouges	Réticulocytes
Lapin N. 1	poumon 2.100.000	1.400.000 (66,66 %)	700.000 (33,33 %)
	foie 2.050.000	1.650.000 (80,48 %)	400.000 (19,51 %)
	rate 2.425.000	2.075.000 (85,56 %)	350.500 (14,43 %)
" N. 2	poumon 2.450.000	1.725.000 (70,40 %)	725.000 (29,50 %)
	foie 2.500.000	2.175.000 (87 %)	325.000 (13 %)
	rate 2.675.000	2.400.000 (89,71 %)	275.000 (10,28 %)

(1) La sol. physiologique *Thyode* est composée ainsi: Chlorure de sodium gr. 8,2 - Chlorure de potassium gr. 0,20 - Chlorure de magnésium gr. 0,20 - Chlorure de calcium g. 0,20 - Phosphate acide de sodium gr. 0,10 - Carbonate acide de sodium gr. 0,05 - Eau distillée 1 litre.

	Tota	Globules rouges	Réticulocytes	
Lapin N. 3	poumon . . .	1.950.000	1.100.000 (56,41 %)	850.000 (43,58 %)
	foie	1.900.000	1.225.000 (64,47 %)	675.000 (35,52 %)
	rate	2.100.000	1.625.000 (77,38 %)	475.000 (22,61 %)
" N. 4	poumon . . .	2.300.000	1.775.000 (77,17 %)	525.000 (22,82 %)
	foie	2.375.000	2.025.000 (85,26 %)	350.000 (14,73 %)
	rate	2.725.000	2.475.000 (90,82 %)	250.000 (9,17 %)
" N. 5	poumon . . .	2.800.000	2.525.000 (90,17 %)	275.000 (9,82 %)
	foie	2.775.000	2.575.000 (92,79 %)	200.000 (7,20 %)
	rate	3.025.040	2.900.000 (95,86 %)	125.000 (4,13 %)

TABLEAU I.

Moyenne des pourcentages dans les 5 animaux:

Poumon: globules rouges 72,16 %; Réticulocytes 25,83 %.

Foie: " " 82,00 %; " 18,00 %.

Rate: " " 87,87 %; " 12,12 %.

II^{ème} GROUPE (Anémie toxique)

	Total	Globules rouges	Réticulocytes	
Lapin N. 1	poumon . . .	1.210.000	730.000 (60,33 %)	480.000 (39,66 %)
	foie	1.025.000	800.000 (78,04 %)	225.000 (21,95 %)
	rate	1.750.000	1.300.000 (74,28 %)	450.000 (25,71 %)
" N. 2	poumon . . .	1.300.000	433.000 (33,30 %)	867.000 (66,69 %)
	foie	1.300.000	850.000 (65,38 %)	450.000 (34,61 %)
	rate	1.838.000	1.182.400 (64,36 %)	26.000 (1,41 %)
" N. 3	poumon . . .	1.350.000	950.000 (69,63 %)	450.000 (33,33 %)
	foie	1.400.000	1.150.000 (82,14 %)	250.000 (17,85 %)
	rate	1.850.000	1.700.000 (91,89 %)	150.000 (8,10 %)
" N. 4	poumon . . .	2.225.000	1.700.000 (76,40 %)	525.000 (23,59 %)
	foie	2.175.000	1.925.000 (88,50 %)	250.000 (11,49 %)
	rate	2.600.000	2.200.000 (84,61 %)	400.000 (15,38 %)
" N. 5	poumon . . .	1.250.000	735.000 (58,80 %)	515.000 (41,19 %)
	foie	1.025.000	800.000 (78,04 %)	225.000 (21,95 %)
	rate	1.800.000	1.325.000 (73,61 %)	475.000 (26,38 %)

TABLEAU II.

Moyenne des pourcentages dans ces 5 animaux:

Poumon: globules rouges 59,10 %; réticulocytes 40,89 %.

Foie: " " 78,43 %; " 21,57 %.

Rate: " " 84,60 %; " 15,39 %.

Comme on peut le voir de ces tableaux, les résultats obtenus dans les deux groupes d'animaux sont à peu près tous bien proches, avec un état d'anémie plus grave dans les animaux traités avec phénylhydrazine.

La variété des valeurs obtenues, dans le calcul des globules rouges, trouve son explication dans le différent degré d'anémie dans lequel se trouvaient les animaux. Il s'agissait, toutefois, dans tous les cas, d'anémies très graves, tellement que le nombre normal des globules rouges qui, pour le lapin adulte est d'environ 4.500.000 par mmc, est descendu jusqu'à peu plus de 1.000.000 dans les lapins que nous avons examinés.

Une donnée, qui résulte de l'examen de ces tableaux, relative au rapport entre le contenu en réticulocytes du sang du poumon et de celui des autres deux organes, est particulièrement intéressante. Comme on l'a vu, on a eu constamment des valeurs plus élevées pour le poumon que pour les autres organes et, particulièrement, presque deux fois la valeur obtenue pour le foie. Quant à la rate, à cause de la plus grande richesse en cellules du sang provenant de cet organe, le rapport n'est pas exact; toutefois les pourcentages des réticulocytes ont toujours été inférieurs à ceux du sang pulmonaire.

Ce rapport s'étant vérifié dans tous les animaux, comme nous l'avons vu, ne peut pas être casuel, mais il doit être l'expression d'un phénomène biologique constant, probablement lié aux échanges gazeux auxquels les poumons et les globules rouges sont destinés.

Nous avons cru qu'il était intéressant de mettre en évidence ce résultat qui nous a décidés à entreprendre une autre série de recherches, capables de confirmer, ou non, ce que nous avons constaté, surtout dans le but d'obtenir, de leurs résultats, quelque indice qui pût nous guider dans l'interprétation de ce phénomène même. Pour cela, nous avons pensé d'examiner le sang qui afflue au poumon par l'artère pulmonaire et celui qui en déflue par les veines pulmonaires, dans le but de découvrir des divergences éventuelles dans leur contenu en réticulocytes. Ce fait aurait pu nous aider à expliquer le phénomène que nous avons observé. Dans cette seconde série aussi, nous avons provoqué l'anémie en 6 lapins avec la même méthode, décrite plus haut, de la phénylhydrazine. Lorsqu'on eut atteint un degré élevé d'anémie, on fit les épreuves suivantes.

Après anesthésie générale, on pratiqua la thoracotomie gauche antérieure et lorsqu'on eut mis à découvert l'artère et les veines pulmonaires gauches, on préleva rapidement le sang contenu dans ces vaisseaux, en introduisant directement l'extrémité de deux diverses pipettes d'appareils compte-globules respectivement dans la lumière de l'ar-

tère et dans celle d'une des veines. Les lapins restèrent en vie pendant toute la durée de l'opération.

Après avoir répété les numérations pour chaque animal, on trouva les résultats moyens que nous allons indiquer (3^{ième} groupe).

3^{ième} GROUPE

	Total	Globules rouges	Réticulocytes
Lapin N. 1	artère pulm. 1.730.000	1.010.000 (58,38 %)	720.000 (41,16 %)
	veine pulm. 1.710.000	1.210.000 (70,76 %)	500.000 (29,23 %)
" N. 2	artère 2.350.000	1.425.000 (60,63 %)	925.000 (39,36 %)
	veine 1.410.000	1.750.000 (72,61 %)	660.000 (27,38 %)
" N. 3	artère 1.950.000	1.150.000 (58,97 %)	800.000 (41,02 %)
	veine 1.910.000	1.330.000 (69,63 %)	580.000 (30,36 %)
" N. 4	artère 2.150.000	1.300.000 (60,46 %)	850.000 (39,53 %)
	veine 2.275.000	1.675.000 (73,62 %)	600.000 (26,37 %)
" N. 5	artère 1.480.000	870.000 (58,78 %)	610.000 (41,21 %)
	veine 1.475.000	1.085.000 (73,55 %)	390.000 (26,44 %)
" N. 6	artère 1.850.000	1.125.000 (60,81 %)	725.000 (39,18 %)
	veine 1.830.000	1.310.000 (71,58 %)	520.000 (28,41 %)

TABLEAU III.

Moyenne des pourcentages des six animaux:

Artère pulmonaire: Globules rouges 59,68 %; Réticulocytes 40,31 %.

Veine " " " 71,95 ; " 28,03 %.

Comme on voit de ce tableau, les résultats de cette 2^{de} série d'expériences ont confirmé, très clairement, ce qu'on avait supposé d'après les résultats de la première série. Le fait que le sang prélevé des veines pulmonaires contient un pourcentage de réticulocytes inférieur à celui qui est contenu dans le sang provenant de l'artère pulmonaire, démontre qu'il y a, de la part du poumon, une activité qui retient les réticulocytes, ou bien que ceux-ci s'attardent dans le poumon plus que les autres éléments de la série rouge.

*
*
*

Par ce que nous avons exposé, il reste donc sûrement prouvé que dans les anémies expérimentales – tant post-hémorragiques que toxiques – on a une accumulation de réticulocytes plus considérable dans le sang du poumon que dans le sang des autres viscères.

Pour expliquer les phénomènes que nous avons décrits, nous pen-

sons que le nombre si élevé de réticulocytes contenus dans le poumon peut dépendre de deux causes. 1) De la nécessité d'une plus longue permanence des réticulocytes mêmes dans l'organe destiné aux échanges respiratoires, à cause de la plus grande quantité d'oxygène nécessaire à leur vitalité (MOROWIK, ITAMI, HARROP, DENECHÉ, COHN), relativement aux autres globules rouges. 2) De la plus grande lenteur des échanges gazeux effectués par les réticulocytes, à cause de leur état de maturité incomplète et, surtout, de leur contenu en hémoglobine qui est moins élevé.

Le mécanisme de ce phénomène biologique n'est pas facilement explicable; peut-être à sa production concourt aussi la plus grande adhésivité des réticulocytes comparativement à celle des autres globules rouges, ce que DAVIDSON avait déjà prospecté, à propos de la plus longue permanence des réticulocytes dans la moelle des os, jusqu'à leur maturation.

Si l'absence d'éléments embryonnaires de la série rouge, dans le sang pulmonaire, ne nous avait pas éloignés de cette hypothèse, les résultats résumés dans les deux premiers tableaux auraient pu faire penser que dans le poumon, dans le cas de graves anémies expérimentales, pouvaient se développer des phénomènes de régénération sanguine.

Mais les données du 3^{ième} tableau excluent, d'une manière absolue, une telle supposition.

Nous pensons plutôt que les réticulocytes subissent, pendant leur permanence dans le poumon, un processus de maturation, car on ne pourrait guère expliquer autrement pourquoi le sang des veines pulmonaires contient, comparativement au sang de l'artère, un pourcentage de globules rouges normaux d'autant plus grand que le pourcentage des réticulocytes est inférieur, relativement au premier, et pourquoi les valeurs globales, résultant des numérations sur le sang des veines et sur celui de l'artère, sont à-peu-près égales. Il se produit, à ce qu'il paraît, une disparition de réticulocytes et une augmentation de globules rouges, et ces modifications ne peuvent évidemment avoir lieu que dans le poumon.

Nous croyons donc que dans cet organe se développe un véritable processus de maturation, capable de transformer les réticulocytes en globules rouges adultes.
