

## 6. Schweizerische elektronenmikroskopische Tagung

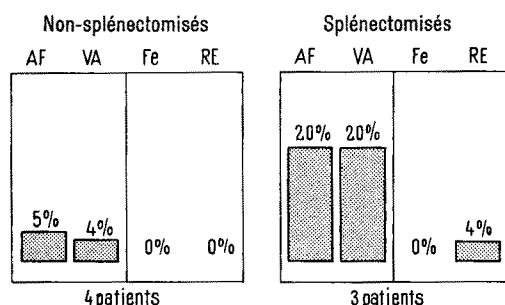
Anorganisch-chemisches Institut der Universität Bern,  
15. Mai 1961

Originalmitteilungen

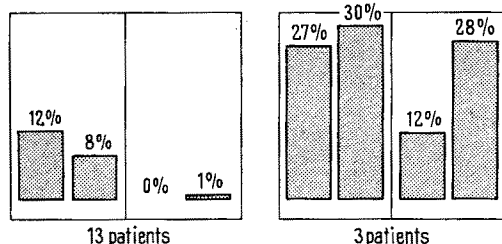
### Étude systématique des altérations cellulaires au microscope électronique: application aux érythropathies

L'importance des altérations submorphologiques des érythrocytes du sang circulant de patients atteints de thalassémie n'est pas directement superposable à l'atteinte génétique: nous l'avons signalé avec MARINONE dès 1958<sup>1-3</sup>. L'étude de ce phénomène a nécessité la mise au point d'une technique de routine permettant une analyse *quantitative*; dans ce but, les altérations observées ont été

Patients atteints de Thalassémie (minime, mineure ou majeure).



Sujets normaux et patients atteints d'affections diverses (mais pas de Thalassémie).



(Statistique portant sur 4754 érythrocytes)

Fréquence des altérations constatée dans les érythrocytes de 23 patients.

### Thrombocytes et thrombopathies

L'étude submicroscopique systématique de thrombocytes provenant d'une quinzaine de patients atteints de diathèses hémorragiques nous a permis de faire certaines observations préliminaires.

Nous avons pu mettre en évidence une chute de nombre de *granulations denses* dans trois cas de déficience de la thromboplastine hématique, liée à l'activité anormalement faible du facteur 3 plaquettaire (une thrombopathie familiale<sup>1</sup>, une thrombocytose hémorragique, un syndrome de Willebrand-Jürgens). Le nombre de ces granulations n'atteint plus que le tiers du nombre normal. Ces observations peuvent être considérées comme une confirmation des travaux de SCHULZ<sup>2</sup> et de FEISSLY et al.<sup>3</sup> sur la localisation du facteur 3 plaquettaire dans ces organites.

Nous avons retrouvé les «granulations denses en baguettes de tambour» signalées par SCHULZ<sup>4</sup> dans les

classées en 4 groupes principaux: *anomalies de forme* (AF), *vacuolisation* (VA), *amas de ferritine/hémossidérine* (Fe) et présence d'*organites d'origine érythroblastique* (RE). La fréquence de l'apparition de ces 4 groupes est notée sur des micrographies électroniques de coupes fines d'érythrocytes, puis exprimée en pour cent des éléments observés. Ainsi pouvons-nous établir une «formule» pour chaque patient.

Exemple: patient: G. d'I. 53 a.; Thalassémie mineure, splénectomisé depuis 19 a.; G.R.:  $4,8 \cdot 10^6$ ; HbF: 8,3%.

«Formule»: AF = 36; VA = 32; Fe = 17; RE = 29.

Une publication ultérieure précisera cette technique, indiquera ses limites et discutera les résultats qu'elle permet d'obtenir. Son application à l'étude du sang de 23 sujets a donné les valeurs représentées schématiquement dans la Figure. Cette méthode bien qu'employée dans un faible nombre de cas s'est montrée utile et fournit des résultats reproductibles. Les valeurs portées sur la Figure confirment l'influence de la splénectomie sur la fréquence des altérations érythrocytaires déjà constatée par l'examen qualitatif de ces préparations. Elles livrent aussi d'intéressants renseignements sur les fonctions de normalisation de la rate et confirment ainsi les indications de CROSBY<sup>4</sup>. De plus, dans deux cas d'anémie hémolytique familiale non sphérocytaire<sup>5</sup>, l'utilisation de cette méthode a donné des informations concordant avec les données cliniques et les résultats des examens de laboratoire.

**Summary.** In order to attain a quantitative appraisal of cellular alterations, a statistical method has been developed. Preliminary results of its application to the study of pathological human erythrocytes are reported. They allow a correlation to the function of the spleen.

A. GAUTIER  
avec la collaboration technique de  
C. VERDAN

Centre de Microscopie Électronique de l'Université de Lausanne.

<sup>1</sup> G. MARINONE et al., *Haematologica* 43, 1123 (1958).

<sup>2</sup> G. MARINONE, *Bull. Soc. vaud. Sci. nat.* 67, 109 (1959).

<sup>3</sup> G. MARINONE et A. GAUTIER, in P. INTROZZI, *Trattato italiano di medicina interna* (Abruzzini Ed. Rome 1960).

<sup>4</sup> W. H. CROSBY, *Blood* 14, 399 (1959).

<sup>5</sup> O. TÖNZ et al., *Helv. paed. Acta*, 16, 111 (1961).

thrombocytes du patient atteint d'un syndrome de Willebrand-Jürgens ainsi que chez 4 patients atteints de thromboasthénie et dans un cas de réticulo-endothéliose avec anomalies plaquettaires. Nous ne pouvons donc considérer ces organites comme pathognomoniques d'une affection donnée.

Par l'analyse statistique des thrombocytes de 4 membres d'une même famille atteints de la thromboasthénie de Glanzmann-Naegeli<sup>6</sup> nous avons pu mettre en évidence

<sup>1</sup> G. HEMMELER, *J. Suisse méd.* 41, 1018 (1958).

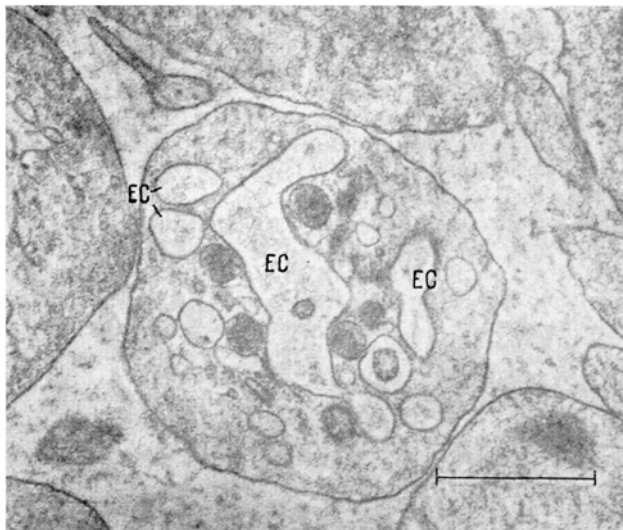
<sup>2</sup> H. SCHULZ et E. HIEPLER, *Klin. Wschr.* 37, 273 (1959).

<sup>3</sup> R. FEISSLY et al., *Proc. 7th Congr. intern. Soc. Blood Transf.*, Rome 1958, 931 (1959).

<sup>4</sup> H. SCHULZ et al., *Klin. Wschr.* 2, 300 (1958).

<sup>5</sup> R. MARX et G. KÖPPEL, *Sangre* 2, 142 (1957).

<sup>6</sup> Nous remercions le Professeur Dr. R. MARX de la 1<sup>re</sup> Clinique médicale de l'Université de Munich qui a mis ce matériel à notre disposition.



Thromboasthénie: l'aspect vacuolisé de ces thrombocytes est dû au développement anormal du complexe des éléments clairs (EC) du granulomère. Gross.  $\times 20000$ .

4 types d'altération plaquettaire: une anisocytose notable, une vacuolisation importante due au développement anormal des *éléments clairs* (Figure), une réduction du nombre des *mitochondries*, parfois gonflées, et la présence de *stéatose*. Ces observations indiquent une altération profonde du métabolisme plaquettaire; on peut les mettre en rapport avec les analyses biochimiques de Gross et al.<sup>7</sup>. Elles peuvent expliquer le défaut de rétractibilité du caillot qui caractérise la thromboasthénie<sup>8</sup>.

**Summary.** Preliminary results of a statistical survey of electron micrographs of thrombocytes from 15 patients with haemorrhagic diathesis are reported. The possible significance of ultrastructural changes in relation to factor 3 activity and metabolism deficiency are discussed.

G. JEAN

*Centre de Microscopie Électronique de l'Université de Lausanne.*

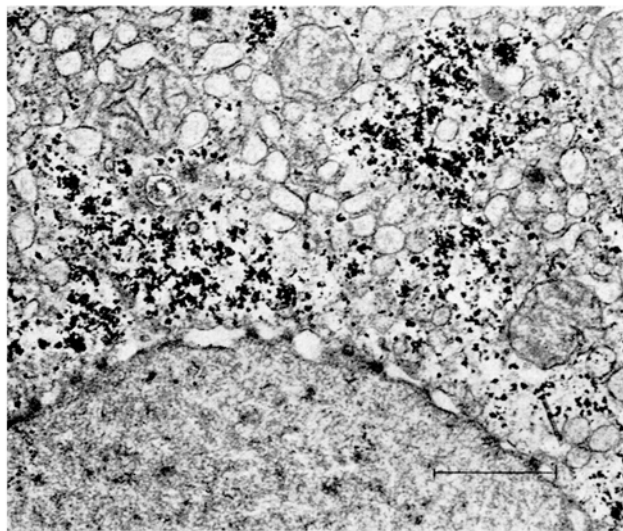
<sup>7</sup> R. GROSS et al., *Klin. Wschr.* 38, 198 (1960).

<sup>8</sup> Travail effectué avec l'appui du Fonds National Suisse de la Recherche Scientifique.

### Cytochimie ultrastructurale. Fixations et colorations

Afin de préciser la base histochimique de certaines colorations utilisées actuellement en cytologie électronique, nous avons cherché à établir les effets d'éventuelles interactions entre colorants et agents fixateurs. Nous avons donc effectué différentes colorations sur des coupes ultrafines de tissus animaux fixés à l'acide osmique, au permanganate de potassium ou au formol, inclus dans divers polymères, après avoir soumis ou non ces coupes à une *oxydation* préalable par l'eau oxygénée ou par l'acide periodique.

Nos premiers résultats nous permettent de retenir les indications suivantes:



Mise en évidence du glycogène dans le cytoplasme d'une cellule hépatique. Fixation à l' $\text{OsO}_4$  tamponné selon Palade; inclusion au Vestopal W; oxydation de la coupe par  $\text{H}_2\text{O}_2$  à 2% pendant 35 min; coloration pendant 35 min à 60°C par une solution d' $\text{AgNO}_3$  à 0,1%, alcalinisée à pH 8 par du borax à 5%. Gross.  $\times 15000$ .

La présence d'*osmium réduit* influence d'une manière déterminante les résultats de la plupart des surcolorations et particulièrement celles faites au permanganate de potassium, à l'acétate de plomb et au nitrate d'argent.

L'*élimination* par l'eau oxygénée de l'osmium réduit inverse les contrastes de certains constituants cytoplasmiques (mais pas des ribosomes) dans le cas de tissus fixés à l'osmium et inclus au Vestopal W. Elle souligne l'affinité de l'*acétate de plomb* alcalinisé à la soude pour les nucléoprotéines en diminuant la colorabilité des autres constituants cellulaires; les résultats sont alors très semblables à ceux obtenus par le même colorant sur des tissus fixés au formol. La colorabilité par l'*acétate d'uranyle*, par contre, n'est pas modifiée par une oxydation préalable.

La coloration par le *nitrate d'argent alcalinisé au borax* après fixation osmique produit une coloration intense du *glycogène* (Figure) qui est indépendante d'une oxydation préalable à l'acide periodique. L'argentaffinité du glycogène résulte vraisemblablement de l'action réductrice des groupes aldéhydiques libérés par l'acide osmique<sup>1,2</sup>; elle est inhibée par un traitement prolongé à l'eau oxygénée. La coloration des autres constituants cellulaires, par cette même solution de nitrate d'argent/borax, après élimination de l'osmium réduit ou après fixation au formol, est probablement due à la présence d'un composé d'argent soluble dans l'hyposulfite de soude.

**Summary.** First results of a systematic study of electron stainings are reported. These have been performed on osmium, permanganate or formol-fixed tissues, mainly embedded in polyester, with or without preliminary oxidization of the sections. An evaluation of the influence on the stainings of the tissue-bound osmium has been attempted. A new staining technique for glycogen is also described.

V. MARINOZZI

*Centre de Microscopie Électronique de l'Université de Lausanne.*

<sup>1</sup> V. MARINOZZI, *J. biophys. biochem. Cytol.* 9, 121 (1961).

<sup>2</sup> M. WOLMAN, *Exp. Cell Res.* 12, 231 (1957).