

PROCEEDINGS

COMMUNICATIONS

GESELLSCHAFTSVERHANDLUNGEN

DUTCH SOCIETY OF ALLERGOLOGY

Meeting on November 30, 1963

CONCEPTIONS ACTUELLES SUR LE RÔLE PHYSIOPATHOLOGIQUE
DES GRANULOCYTES BASOPHILES *par* J. LECOMTE & E. BAECKELAND

(Institut Léon Fredericq, Physiologie, et Institut d'Histologie et d'Embryologie,
Prof. M. Chèvremont) Université de Liège - Belgique.

Le rôle physiologique et physio-pathologique des granulocytes basophiles fait actuellement l'objet de nombreuses recherches. En effet, non seulement les propriétés de ces leucocytes restent à préciser, mais en outre les analogies qui apparaissent aux yeux de certains auteurs entre mastocytes tissulaires et basophiles circulants suscitent de multiples contrôles expérimentaux. Il importe d'en dresser le bilan.

Au cours de ce travail de synthèse, c'est en premier lieu les essais poursuivis chez l'homme qui retiendront notre attention.

1. *Définition et morphologie.*

a) *Caractères généraux.* - Selon Chèvremont (1960), le granulocyte ou polynucléaire basophile se présente, chez l'homme, comme une cellule de volume comparable à celui du neutrophile. Le diamètre atteint de 7 à 9 μ , lorsqu'il flotte en milieu liquide. Son noyau est relativement gros, ovalaire, incisé ou en fer à cheval. Les granulations y sont moins nombreuses qu'au sein des autres leucocytes. Elles sont plus volumineuses et de taille inégale. Peu visibles sur le vivant, elles se colorent par les colorants basiques. Elles sont métachromatiques. Elles donnent la réaction à l'acide périodique - Schiff. Ces granulations ainsi colorées sont spécifiques. Leur mise en évidence constitue l'élément distinctif essentiel qui permet l'identification des basophiles et, par conséquent, leur numération, parmi les autres cellules sanguines.

Voici, à titre d'exemple, la technique de coloration mise au point par Boseila (1959), qui se range parmi les meilleures.

Le liquide de dilution renferme: 1) 40 ml d'une solution de bleu de

toluidine, à 0,05 pour cent dans un tampon phosphate à pH 7,7 (selon Sørensen), 2) 5,5 ml d'éthanol à 96 vol. pour cent et, comme anticoagulant, 0,5 ml d'un mélange d'oxalate d'ammonium et de sodium. Après avoir mélangé le tout, la solution est filtrée et on y ajoute 0,5 ml d'une solution saturée de saponine dans l'éthanol à 50 vol. pour cent (soit 280 mg de saponine pour 10 ml d'alcool).

Le liquide de dilution est filtré avant l'emploi.

b) *Structure fine des granulocytes basophiles.* — L'analyse au microscope électronique des granulocytes basophiles (Braunsteiner & Pakesch, 1957; Low & Freeman, 1958; Winquist, 1963) montre que le noyau est identique à celui des autres granulocytes. Il présente des nucléoles importants ainsi que des condensations de chromatine le long de la membrane nucléaire.

La substance fondamentale de leur cytoplasme ne les distingue guère des autres leucocytes granulocytaires. Les chondriosomes sont longs (0,3 à 1,5 μ) avec de nombreuses crêtes transverses.

L'appareil de Golgi est dense; il renferme des vacuoles et des vésicules nombreuses (de 30 à 50 m μ). Elles pourront s'entourer d'une structure réticulaire. Un réticulum-endoplasmique est régulièrement présent.

Les *granulations basophiles* sont fort volumineuses (1 à 2 μ). Elles sont denses. Elles montrent, pour la plupart, une structure lamellaire. Les lamelles sont tantôt irrégulièrement espacées, tantôt parallèles, tantôt totalement divergentes. Aucune membrane périgranulaire n'est mise en évidence par Winqvist (1963). Par contre, un halo peu dense les entoure. Ces granules prennent généralement naissance dans la zone occupée par l'appareil de Golgi.

Les processus de dégranulation semblent se marquer d'abord par un élargissement du halo qui entoure les granules.

2. Constitution cytochimique et biochimique.

a) *Richesse en mucopolysaccharides.* — La coloration métachromatique des granulations basophiles, qui sert à les identifier, est obtenue à l'aide de certains colorants basiques. Parmi les substances les plus employées, citons le bleu de toluidine, la thionine et le bleu de crésyl brillant. La métachromasie est associée à la présence de mucopolysaccharides, en l'occurrence vraisemblablement l'héparine. Le test à l'hyaluronidase est négatif. L'application des techniques d'analyse histochimique et biochimique, complétée par l'utilisation de radio-éléments, montre que la composition des granules comporte en outre :

- α) des acides aminés, partie intégrante de certaines protéines: arginine, histidine, tyrosine, cystéine, tryptophane et autres dérivés indoliques;
- β) de l'histamine et de la 5-hydroxytryptamine;
- γ) des complexes glucidiques: glucoprotéines et mucopolysaccharides, plus rarement du glycogène;
- δ) de l'acide ribonucléique, vraisemblablement;
- ε) phospholipides.

Leur équipement enzymatique comprend des ferments oxydatifs nécessaires à la respiration cellulaire. Ces leucocytes n'ont toutefois ni phosphatase alcaline cytoplasmique, ni chloro-acétatestérase, ni aminopeptidase, ni sulfatase, ni phosphorylase, pas plus d'ailleurs que d'activités peroxydasiques (*Ackerman*, 1963). Par contre, ils renferment de la 5-hydroxytryptophane décarboxylase, de l'histidine décarboxylase et un enzyme analogue à la chymotrypsine (*Hartman et al.*, 1961; *Aures et al.*, 1963).

Les basophiles se présentent comme des éléments capables de synthétiser et de stocker certaines substances dont le rôle physiologique et physiopathologique s'avère primordial.

b) *Présence d'histamine et d'héparine.* — Deux de ces dernières substances possèdent une signification particulière: la première, c'est l'héparine, susceptible de modifier la formation du caillot de fibrine; la seconde, c'est l'histamine, principe vasomoteur dont la libération intéresse au premier chef l'allergologue.

La relation entre la teneur du sang en histamine liée et le taux des basophiles a été étudié par Valentine et ses collaborateurs (1955). Ils ont utilisé à cette fin l'examen du sang de patients atteints de leucémie myéloïde. Cette relation a été vérifiée par la suite, notamment par *Ross & Cass* (1959), chez les enfants normaux. En sorte qu'on peut considérer que les granulocytes basophiles représentent, chez l'Homme, un des systèmes leucocytaires responsables du stockage et du transport de l'histamine qui, par ailleurs, est susceptible d'être formée directement au sein même de ces cellules. Selon *Graham et al.* (1952, 1955), la charge en histamine serait de 1030 µg par 10⁹ basophiles.

La relation entre teneur en histamine et taux des basophiles a été retrouvée par *Winqvist*, chez le Cobaye (1963) (*Aures et al.* 1963). L'administration du sérum de cheval détermine une hausse considérable des basophiles au sein des moelles hématopoïétiques (*Chan & Yoffrey*, 1960), qui va de pair avec une hausse de la concentration en histamine.

Toutefois, chez d'autres espèces animales, en particulier le lapin, ce sont les plaquettes qui renferment également, et en ordre principal, l'histamine sanguine.

L'héparine pourrait représenter la substance matricielle sur laquelle viendrait se fixer l'histamine. Les histamino-libérateurs prendraient la place de cette dernière au niveau de liaisons spécifiques au sein du basophile.

Selon *Asboe-Hansen* (1958), mastocytes et basophiles, riches les uns et les autres en mucopolysaccharides, feraient partie d'un vaste système dispersé identifié par ses caractères biochimiques: le système muqueux.

3. *Origine et répartition des granulocytes basophiles.*

a) *Genèse.* — Il est actuellement bien établi que les granulocytes basophiles représentent une lignée autonome dont les cellules-souches se trouvent au sein de la moelle hématopoïétique. Ainsi se voient justifiées les conceptions d'Ehrlich (1891). En effet, on peut facilement mettre en évidence dans les organes sangui-formateurs, les précurseurs des basophiles circulants. On distingue les promyélocytes, où les granulations spécifiques sont rares, les myélocytes, où leur nombre va croissant, et enfin les métamyélocytes, où la quantité de granulations a atteint sa valeur maximum (Chèvremont). On identifie ces cellules par la coloration métachromatique élective de leurs granules.

Les facteurs responsables du passage des cellules mûres dans le sang sont inconnus.

b) *Comportement dans le sang circulant.* — Comment évoluent les granulocytes basophiles, une fois mis en circulation ? Une revue générale de ces problèmes a été effectuée par *Michels*, en 1938.

Boseila (1959) a entrepris la vérification systématique des recherches quantitatives antérieurement entreprises chez l'homme au sujet des basophiles. Il a vérifié que, chez l'adulte normal, le nombre de basophiles s'élève à $38,3 \pm 2,4$ par mm^3 de sang. Il n'existe aucune variation en fonction de l'âge ou du sexe.

Sur le nycthémère, une discrète élévation se situe aux environs de 16 heures. De même, la période prémenstruelle s'accompagne d'une hausse légère, dont la signification statistique doit être vérifiée.

On constate de la sorte que les basophiles représentent une fraction peu importante des granulocytes circulants, soit 0,2 à 0,5 pour cent. Leur durée de vie atteindrait 12 à 15 jours, comme celle des autres leucocytes.

Il n'existe chez l'homme aucune corrélation, dans les conditions nor-

males, entre le nombre des éosinophiles et celui des basophiles (*Boseila & Uhrbrand*, 1958). Cependant, l'une et l'autre catégories de cellules sont affectées de la même manière par les traitements à l'ACTH. Cette hormone provoque une diminution des basophiles qui, toutefois, est moins importante que celle qui affecte les éosinophiles. Cette action basopéniant de la corticotrophine hypophysaire indique que les granulocytes basophiles se trouvent normalement sous le contrôle de l'axe hypophyso-surrénalien (bibliographie in *Boseila*, 1963).

De même que la corticotrophine, l'hydrocortisone et la cortisone entraînent une basopénie, sauf au cours de la leucémie myéloïde. La désoxycorticostérone ne possède pas ce pouvoir.

Les mêmes propriétés basopéniantes des corticoïdes se retrouvent chez d'autres espèces animales, en particulier chez le lapin et le cobaye.

Le mécanisme de l'action basopéniant des hormones cortico-surréaliennes n'est pas établi avec certitude. On peut leur attribuer une action lytique, admettre qu'elles entraînent une migration massive des cellules du sang vers les tissus, ou qu'elles réduisent la granulopoïèse intra-médullaire. De toute manière, leur pouvoir basopéniant serait transitoire. C'est lui qui expliquerait la chute de l'histaminémie lors des traitements par cortisone.

L'influence d'autres hormones sur les propriétés des basophiles a été également étudiée. L'adrénaline n'exerce aucune action sur le nombre des granulocytes. La l-thyroxine provoque une chute des basophiles la d-thyroxine au contraire une augmentation. Ces observations doivent être rapprochées des constatations cliniques effectuées chez les dysthyroïdiens: chez les hypothyroïdiens, le taux des basophiles est particulièrement élevé. Il est par ailleurs anormalement bas chez les hyperthyroïdiens.

Nous avons déjà signalé les variations des basophiles au cours du cycle menstruel: leur nombre est plus élevé au début des règles pour diminuer régulièrement par après.

Des différences considérables dans le nombre de basophiles se rencontrent au sein des diverses espèces animales. Des numérations ont été effectuées chez le singe (0,3 pour cent), chez le lapin (4 à 11 pour cent), chez la grenouille 5 à 23 pour cent), chez le lézard (40 pour cent) etc. On peut déduire de ces études comparatives que chez les vertébrés inférieurs, le pourcentage de basophiles circulants est particulièrement élevé. Leur fonction y est inconnue (*Michels*, 1938).

Ainsi, la teneur du sang en cellules basophiles dépend de plusieurs facteurs: d'abord de la néoformation de ces leucocytes au sein des or-

ganes hématopoïétiques et de leur destruction périphérique ensuite. Ces phénomènes sont sous l'influence à la fois des hormones cortico-surrénaliennes (glucocorticoïdes) et du fonctionnement normal de la thyroïde.

4. *Variation du nombre des basophiles en fonction de certains états morbides chez l'homme.*

a) *Basophilie sanguine*. — Les basophiles subissent une augmentation considérable au cours de *processus leucémiques myéloïdes*. Tantôt la hausse des basophiles accompagne l'augmentation générale des lignées granulocytaires; tantôt ils sont à ce point nombreux qu'il s'agit alors de véritables leucémies à basophiles. Les cellules-souches basophiles seraient particulièrement résistantes aux R.X., en sorte que leur nombre élevé persisterait après traitement par irradiation.

On peut également observer une élévation du taux des basophiles au cours de la *polycythémie*, de l'*ictère hémolytique*, de la *chlorose* et des *anémies secondaires*. La *cirrhose du foie* se caractériserait également par pareille augmentation (Michels, 1938).

Aucune relation nécessaire n'apparaît entre éosinophilie parasitaire et basophilie. Selon certains, la vaccination anti-rabique déclencherait une augmentation transitoire des granulocytes basophiles.

On peut observer une hausse des basophiles circulants au cours de l'urticaire pigmentaire. Les lésions cutanées de cette dernière sont caractérisées par une richesse exceptionnelle en mastocytes tissulaires.

Selon Asboe-Hansen (1960), la basophilie sanguine accrue serait l'équivalent de l'hypermastocytose. Rappelons que, dans ces cas, la richesse en histamine des mastocytes cutanés se traduit par l'apparition d'éruptions urticariennes volumineuses lors de stimulations tégumentaires, même légères.

On peut également observer des leucémies à mastocytes où le nombre des granulocytes vrais n'est pas nécessairement augmenté (Efrati et al., 1957).

b) *Basopénie*. — Les basophiles disparaissent du sang circulant au cours des maladies infectieuses aiguës, quelle que soit leur origine. Il en est de même au cours de certaines réactions allergiques générales, de type immédiat, les urticaires notamment (Rorsman et al., 1962).

Mais il faut rappeler ici que tout processus accidentel ou toute réaction morbide qui entraînera une stimulation de l'axe hypophyso-surrénalien, déclenchera *ipso facto* une diminution du nombre des ba-

sophiles circulants. Cette dernière n'a donc aucune allure pathognomonique.

Ainsi, au cours de toutes les manifestations anaphylactiques générales qui s'accompagnent d'une libération de l'histamine endogène, le taux des corticostéroïdes plasmatiques est accru (*Lecomte et al.*, 1960). En conséquence, aussi bien les éosinophiles que les basophiles disparaîtront du sang, qu'on puisse affirmer qu'il s'agit là d'un chaînon indispensable à l'extériorisation de la symptomatologie alors observée.

5. Réactions locales à basophiles.

a) *Réactions non inflammatoires.* — Les cellules basophiles peuvent parfois régulièrement migrer au sein de certains tissus. On les retrouve chez le lapin, le voisinage des vaisseaux de l'ovaire et des trompes, ainsi qu'autour des follicules récemment rompus (*in Boseila*, 1963).

b) *Réactions inflammatoires provoquées.* — Chez l'homme, au cours de certains processus inflammatoires expérimentaux provoqués délibérément au niveau de la peau de l'avant-bras, l'exsudat leucocytaire est normalement pauvre en cellules basophiles. Celles-ci ne semblent pas jouer de rôle essentiel (*Rebuck*, 1963).

Au cours de la leucémie myéloïde à basophiles, les foyers inflammatoires ne présentent aucune infiltration basophile. Ces éléments ne participent pas davantage à la constitution des exsudats au sein des processus réactionnels locaux.

Chez les malades atteints de *colite ulcérate*, par contre, la basophilie de l'exsudat provoqué est évidente. Ces derniers apparaissent 3 heures après l'installation de la lésion cutanée. Ils proviennent manifestement du sang circulant et subissent, à des degrés variables, des atteintes dégranulisantes.

Au cours des cystites interstitielles, dites ulcère de Hunner, l'infiltration basophile est fortement marquée au niveau des lésions cutanées provoquées. Elle est identique à celle qui caractérise les atteintes inflammatoires viscérales originelles (*Rebuck*, 1963).

L'application d'une technique analogue à l'étude des réactions anaphylactiques locales déclenchées *in situ* par l'apport de l'antigène spécifique ne révèle aucune pénétration basophile lors de la constitution des infiltrats leucocytaires péri-vasculaires. Par contre, les cellules éosinophiles sont alors parfaitement reconnaissables. Les réactions de type tuberculinique ne s'accompagnent pas non plus d'une infiltration basophile (*Eidinger et al.*, 1962; *Werner*, 1952). Ces deux types d'inflammation

allergique se déroulent donc indépendamment d'une participation de ces granulocytes.

c) *Réactions inflammatoires spontanées.* — Si l'on considère la nature des infiltrations leucocytaires au niveau des lésions même de la colite ulcéreuse, ainsi qu'au niveau de la cystite interstitielle, on constate une richesse en granulocytes basophiles analogue à celle qui caractérise les lésions cutanées provoquées chez ces mêmes patients. Cette infiltration d'un type original permet à *Rebuck* (1963) d'isoler un nouveau mode de réaction tissulaire: l'inflammation à basophiles. Celle-ci se marquerait en outre par une tendance particulière aux hémorragies, consécutive à l'accumulation locale en héparine ainsi que par une transformation précoce des tissus cicatriciels en travées fibreuses.

6. *Variations expérimentales de la basophilie.*

a) *Basophilie.* — On peut expérimentalement déclencher, chez l'animal, une hausse de la teneur du sang en basophiles circulants, reflet d'une stimulation médullaire d'importance variable. Nous avons déjà signalé l'élévation de la basophilie chez le cobaye lors d'un traitement par sérum hétérologue (*Chan & Yoffey*, 1960). Le même phénomène s'observe après administration de blanc d'œuf de poule. Le rat présente la même susceptibilité, ainsi que le lapin. L'exposition du rat aux vapeurs de goudron, aux effets de l'arsenic ou aux rayons X entraîne de la basophilie.

c) *Basopénie.* — Une chute de la teneur du sang en basophiles est déclenchée par l'infection syphilitique du lapin ainsi que par le choc induit par l'injection intraveineuse de substances colloïdales. La même disparition s'observe après administration de substances histamino-libératrices (*Boseila*, 1958) ou lors du déclenchement du choc anaphylactique (*Shelley et Caro*, 1962).

Chez le lapin sensibilisé, l'administration intraveineuse de l'antigène s'accompagne de la disparition complète, déjà dans les 5 premières minutes, des basophiles circulants. Pareille réduction n'est décelée ni chez les témoins non préparés, ni chez les animaux normaux traités par fortes doses d'histamine (*Shelley et Caro*, 1962). Celle-ci au contraire entraîne une hausse peu importante des basophiles (*Boseila*, 1959) comme la 5-hydroxytryptamine.

La même disparition élective des basophiles sanguins s'observe régulièrement chez le cobaye en état de choc anaphylactique. Elle est proportionnelle à l'intensité des symptômes et évolue indépendamment du comportement des cellules éosinophiles (*Rorsman*, 1962).

7. Réactions « *in vitro* ».

Différentes modifications morphologiques des basophiles ont été décrites au cours de certaines circonstances expérimentales « *in vitro* ». Ces cellules s'avèrent sensibles à différents agents, en particulier le 48/80, substance histamino-libératrice. Celle-ci supprime la coloration mé-tachromatique de ces cellules et même la fait disparaître des éléments déjà colorés. Il en va de même de la protamine (Boseila & Asboe-Hansen, 1959).

En présence d'un mélange de sérum porteur d'anticorps anti-pénicilline et de pénicilline comme antigène, les granulocytes basophiles subissent, selon Shelley (1961), une « dégranulation ».

Si l'on n'a pas encore pu suivre, sur le vivant, l'évolution complète de cette « dégranulation », Shelley (1961) a montré une série d'images suggérant fortement un tel « processus ». Sur ces microphotographies, on peut voir une certaine augmentation de la taille des cellules; les granules, qui persistent dans le cytoplasme et permettent l'identification de la cellule, paraissent beaucoup moins nombreux et plus gros; vraisemblablement le plus grand nombre des granules ont-ils été expulsés dans le milieu de suspension. Selon Shelley, il s'agirait d'une « miniaturisation » de la réaction anaphylactique.

Semblable « dégranulation » peut également être mise en évidence lorsque les granulocytes basophiles prélevés chez des sujets hypersensibles au froid sont soumis au refroidissement. Il semble que dans ce cas, ces cellules sanguines constituent une des sources de l'histamine alors libérée (Lennart & Shelley, 1961).

La mise en œuvre de pareilles recherches implique en un premier stade la mise au point de techniques destinées à l'isolement de leucocytes et à l'identification dans leur masse des cellules basophiles. Shelley (1963) a récemment décrit un procédé qui satisfait aux exigences requises en la matière.

8. Basophiles et réactions allergiques.

Si l'on considère d'un point de vue plus limité le rôle physio-pathologique des granulocytes basophiles, on est amené à conclure qu'ils participent à la genèse de certaines manifestations allergiques.

En effet, nous avons vu que leur nombre s'accroît au cours d'états qui témoignent de la sensibilisation de l'organisme aux protéines étrangères. Les basophiles sont riches en histamine, qu'ils sont capables de libérer sous l'action des réactions antigène-anticorps ou sous l'influence des histamino-libérateurs. Ils sont donc, pour une part, responsables de

la hausse de l'histaminémie qui accompagne certains processus anaphylactiques de l'homme. Cette libération se traduit par une dégranulation. Celle-ci peut d'ailleurs être provoquée *in vitro* au sein des cellules maintenues provisoirement en survie. En sorte que la dégranulation représente une épreuve diagnostique.

Ces constatations nous amènent naturellement à nous interroger sur les rapports qui unissent les mastocytes tissulaires aux granulocytes basophiles. En effet, pour certains auteurs (*Mota*, 1963), les premiers sont également impliqués, de manière essentielle, dans le décours des réactions allergiques.

9. Relation entre basophiles et mastocytes.

Mastocytes et leucocytes basophiles possèdent une caractéristique morphologique commune : on observe dans leur cytoplasme des granules métachromatiques. Ces cellules se distinguent cependant aisément les unes des autres. En milieu liquide, le diamètre des mastocytes est de 12 à 15 μ chez le rat. Leur noyau, souvent unique, est normalement situé dans la région centrale de la cellule ; il est sphérique ou ovoïde, avec un ou plusieurs nucléoles. Le cytoplasme des mastocytes contient généralement un plus grand nombre de granules métachromatiques que celui des basophiles. D'un diamètre de 0,2 à 0,5 μ , selon l'espèce animale, ces granules sont sphériques et de même grandeur. Après observation au microscope électronique, la plupart des auteurs (*Stoeckenius*, 1956 ; *Policard et al.*, 1960 ; *Hagihara*, 1960 ; *Bloom*, 1960 ; *Gusek*, 1960 ; *Klug*, 1961) admettent que leur structure interne est généralement homogène. Quelquefois un système de lamelles concentriques serait pourtant visible à l'intérieur des granules. Entre ceux-ci, on peut distinguer des mitochondries sphériques ou en forme de courts bâtonnets ; un appareil de Golgi a également été mis en évidence.

Les mastocytes sont présents *partout* où il y a du tissu conjonctif et chez *tous* les vertébrés ; ils sont absents à l'intérieur du système circulatoire sanguin. Ils peuvent cependant vivre en milieu liquide dans la cavité péritonéale ou pleurale, où ils sont en bon état et peuvent être prélevés à des fins expérimentales. Basophiles et mastocytes coexistent normalement dans la moëlle hématopoïétique. Selon *Maximow* (1910), il existerait un certain balancement entre le nombre de cellules de ces deux types ; chez le lapin, par exemple, où les basophiles sont nombreux, les mastocytes seraient plutôt rares ; par contre, chez le rat ou la souris où il y a beaucoup de mastocytes tissulaires, on dénombrerait peu de leucocytes basophiles dans le sang.

Si l'origine ontogénique des mastocytes n'a pu encore être précisée, il semble acquis que ceux-ci puissent se diviser et se reproduire par mitose (Hunt & Hunt, 1957; Burton, 1960; Allen, 1962). Il ne s'agit donc pas de cellules vieilles ou à vie courte, comme dans le cas des leucocytes basophiles circulants. Il est d'ailleurs possible de les maintenir en vie *in vitro* pendant plus de 20 jours dans des explants de mésentère de rat (Baeckeland, 1962). Une évolution à partir de cellules-souches vers une forme « mûre » très différenciée, comme dans le cas des basophiles, n'a jamais été réellement démontrée en ce qui concerne les mastocytes.

Bien que leur morphologie, leur distribution, leur mode de reproduction soient nettement différents, mastocytes et basophiles sanguins présentent une certaine analogie de comportement dans plusieurs circonstances expérimentales ou pathologiques. Avant d'envisager celles-ci remarquons que la composition biochimique de ces deux types cellulaires est très proche. En effet, les mastocytes sont riches en mucopolysaccharides sulfatés du type de l'héparine (Jorpes, Holmgren & Wilander, 1937). Peut-être s'agirait-il d'un précurseur de l'acide hyaluronique (Asboe-Hansen, 1954). De grandes quantités d'histamine (Riley & West, 1953) et, dans le cas de certains rongeurs, de 5-hydroxytryptamine (Benditt *et al.*, 1955) sont présentes dans les tissus renfermant de nombreux mastocytes ainsi qu'un enzyme protéolytique du type de la chymotrypsine (Benditt & Arase, 1959). De l'histidine décarboxylase (Rothschild & Schayer, 1959) et de la 5-hydroxytryptophane décarboxylase (Lagunoff & Benditt, 1959) ont également été décelées.

De plus, Coupland & Heath (1961) ont mis en évidence histochimiquement de la dopamine, et Hagen *et al.* (1960) de la dihydroxyphényl-anine décarboxylase. Bref, on constaterait, comme pour les basophiles, la présence dans les mastocytes d'une part d'un mucopolysaccharide acide, d'autre part d'amines biologiques importantes et des enzymes décarboxylants correspondants.

La libération de ces amines se caractérise par des changements morphologiques notables des mastocytes. Il s'agit tout d'abord du gonflement de la cellule mastocytaire avec augmentation de sa réfringence, suivie d'un éclatement brusque de la cellule avec expulsion des granules cytoplasmiques dans le milieu intercellulaire. Ceux-ci y grossissent alors progressivement, tandis que le reste de la cellule, y compris le noyau, dégénère rapidement (Baeckeland, 1962).

Smith (1963) considère ces changements comme caractéristiques d'une sécrétion holocrine. D'après cet auteur, il existerait aussi une forme de sécrétion mérocrine, lorsque le stimulus est faible. Dans ce

cas, beaucoup d'histamine serait libérée sans « éclatement » des mastocytes (*Smith*, 1958). Du point de vue pharmacodynamique, libération d'histamine et « éclatement » mastocytaire seraient l'expression de l'activation d'un système enzymatique localisé dans la membrane cellulaire; celui-ci serait peut-être du type de la phosphatidase A (*Uvnäs*, 1961). Cette activation dépendrait de processus métaboliques complexes (influence du glucose, de l'oxygène, etc.).

Ces lésions mastocytaires, appelées parfois abusivement « dégranulation », sont déclenchées par de nombreux agents: les libérateurs d'histamine, tels le 48/80 (*Riley & West*, 1953) ou le dextran (*Rowley & Benditt*, 1956), l'eau distillée (*Fawcett*, 1954), les rayons X (*Smith & Lewis*, 1958), des substances libérées au cours des processus de la coagulation (*Baeckeland*, 1962) etc.

De même qu'on peut mettre en évidence une action basopénisante de la corticotrophine hypophysaire, de l'hydrocortisone et de la cortisone, la plupart des auteurs s'accordent à dire que l'administration de ces hormones provoque une chute du nombre des mastocytes tissulaires. Il semble même qu'ils y soient particulièrement sensibles, puisque *Bloom* (1952), *Brodey et al.* (1953) et *Bloom* (1958) sont parvenus à provoquer la régression de tumeurs à mastocytes par un traitement à la cortisone.

L'élévation du taux de l'hormone thyroïdienne dans le sang provoque également une diminution du nombre des mastocytes dans différents matériels (*Asboe-Hansen*, 1950; *Wegelius & Asboe-Hansen*, 1956; *Larsen*, 1959; *Dyrbye et al.*, 1959). Au contraire, un traitement par thio-urée (*Arvy & Gabe*, 1950; *Del Conte et al.*, 1954) permet d'en observer plus dans les tissus. L'influence d'autres hormones, notamment des œstrogènes, la testostérone et l'hormone de croissance ont été étudiées; les résultats inconstants et contradictoires de ces recherches ne permettent pas, à l'heure actuelle, de dégager une opinion valable à ce sujet.

L'exposition au froid d'animaux de laboratoire, tels que le rat, provoque la sécrétion des hormones cortico-surrénales (*Smith*, 1960). Dans ces cas, on observe soit une hausse, soit une baisse du nombre des mastocytes, selon que les tissus examinés ont situés plus ou moins profondément dans le corps.

Par ailleurs, l'apparente richesse des mastocytes en histamine a conduit certains auteurs à penser qu'ils joueraient un rôle primordial dans les processus anaphylactiques, tout au moins chez des espèces comme le cobaye dont la sensibilité à l'histamine est bien connue (*Mota*, 1963).

La réaction d'antigènes avec des anticorps fixés sur les mastocytes provoquerait l'« éclatement » de ces cellules. Au cours de nombreuses expériences, on a en effet provoqué des lésions des mastocytes à l'aide de différentes réactions anaphylactiques. Dans le cas particulier de l'anaphylaxie cutanée passive du rat, les mastocytes restent cependant intacts. Il semble que ce résultat doit être mis en relation avec le fait que les anticorps précipitants du rat et du lapin ne déterminent aucune lésion mastocytaire lorsqu'ils réagissent avec l'antigène (*Mota, 1962*). Certaines réactions antigène-anticorps ont lieu *in vitro*; c'est ainsi que l'action de la γ -globuline anti-rat sur les mastocytes fut vérifiée par *Keller (1962)*.

Expérimentalement, les processus d'inflammation aiguë locale, lorsque par exemple on injecte par voie sous-cutanée un extrait de *Rhizopus oryzae*, entraîne une destruction massive des mastocytes (*Sheldon & Bauer, 1960*). Dans cette circonstance, ces cellules agiraient par leur enzyme fibrinolytique, du type de la chymotrypsine (*Ende et Auditore, 1961*).

En clinique humaine, certains ont observé une augmentation du nombre des mastocytes: dans la muqueuse bronchique des bronchiteux, silicotiques ou tuberculeux (*Bassermann, 1957*), dans les amygdales au cours de différentes maladies (*Drabe, 1961*), etc, ou une diminution: dans la muqueuse nasale au cours de la rhinite aiguë (*Hussarek & Neuhold, 1960*), dans l'œil glaucomateux (*Vannas, 1959*). etc.

Généralement, le mastocyte réagit donc comme le leucocyte basophile. On doit cependant noter que, lors de phénomènes locaux, mastocytes et leucocytes basophiles ne cohabitent pas. On n'a jamais signalé d'infiltration à basophiles là où il y a une accumulation de mastocytes, par exemple dans les lésions d'urticaire pigmentaire, dans des implants sanguins et fibrineux (*Baeckeland, 1950*), aux environs des lésions précancéreuses (*Riley, 1959*). Inversement, les mastocytes ne sont pas particulièrement nombreux au niveau des infiltrations locales à basophiles signalées par *Rebuk*.

Il semble donc qu'on puisse conclure de ces dernières remarques que, si le mode de fonctionnement des mastocytes et des basophiles paraît analogue, leur rôle physiologique normal serait différent ou, tout au moins, que leur intervention, dans des phénomènes de même nature, par exemple allergiques, se ferait dans des conditions différentes.

Conclusions generales.

Nous avons vu que, chez l'homme, les basophiles sont capables de synthétiser et de transporter la quasi-totalité de l'histamine renfermée dans la masse sanguine. Ils seront impliqués dans la pathogénie des réactions et maladies allergiques, dans la mesure où l'histamine elle-même y jouera un rôle décisif. Il semble actuellement démontré que cette amine participe seulement à la genèse des accidents immédiats, dits anaphylactiques, où l'on retrouve les principales manifestations de l'intoxication histaminique endogène.

On constate qu'au cours des accidents anaphylactiques dont le décours est particulièrement aigu, la population leucocytaire basophile est mobilisée en masse et perd d'emblée sa charge en amine. En effet, la dégranulation est un processus explosif et irréversible. En outre, la participation basophile, limitée au plasma, se réduit aux phénomènes qui se déroulent dans le sang circulant. Si l'on admet les valeurs avancées par Graham, la quantité d'histamine portée par la totalité des basophiles du corps humain s'élèverait à 1 mg environ. Cette quantité, même libérée en une fois, est certes capable d'entraîner et une chute importante de la pression artérielle, par vasodilatation générale, et un bronchospasme, mais elle sera sûrement incapable de déterminer des troubles de la perméabilité vasculaire avec production d'œdème et d'urticaire. En termes de pathologie histaminique, les atteintes des basophiles correspondent à l'administration intraveineuse rapide d'histamine exogène, et non à une libération massive de l'histamine tissulaire endogène.

Nous avons établi que cette dernière commande les phénomènes essentiels des réactions anaphylactiques: aussi bien les atteintes locales: prurit, vasodilatation, œdème, que l'intoxication massive qui se traduit par le collapsus cardio-vasculaire. Or cette histamine endogène est portée par les mastocytes tissulaires. D'où l'importance que revêtent à nos yeux ces derniers, ubiquitaires, localisés autour des structures, vaisseaux et bronches, qui constituent chez l'homme les organes de choc.

D'où également le rôle secondaire qu'il faut attribuer aux granulocytes basophiles proprement dits.

Bibliographie.

I. Revue generale.

Le lecteur trouvera un exposé des données récentes sur les mastocytes et les basophiles dans un volume publié en 1963 par l'Académie des Sciences de New York. Il s'agit de *Mast Cells and Basophils*, Annals of the New York Academy of Sciences, volume 103, 492 pages.

II. Articles isolés.

- Ackerman, A.*: Ann. N.Y. Acad. Sciences, 103, 376, 1963.
Allen, A. M.: Anat. Record, 139, 13-21, 1961.
Arøy, Z. & Gabe, M.: Experientia, 6, 23-24, 1950.
Asboe-Hansen, G.: Scand. J. Clin. et Lab. Invest. 2, 271-275, 1950.
Asboe-Hansen, G.: Intern. Rev. Cytol. 3, 399-435, 1954.
Asboe-Hansen, G.: Arch. Dermatol. 81, 198, 1960.
Aures, D., Clark, W., Hansson, E. & Wingqvist, G.: Fed. Proc. 22, f. 2, 1963.
Baeckeland, E.: C.R. Soc. Biol., 144, 1005-1007, 1950.
Baeckeland, E.: C.R. Soc. Biol. 156, 525-528, 1962.
Baeckeland, E.: C.R. Soc. Biol. sous presse, 1963.
Bassermann, F. J.: Klin. Wochschr. 35, 634-635, 1957.
Benditt, E. P. & Arase, M.: J. Exp. Med. 110, 451-460, 1959.
Benditt, E. P., Wong, R. L., Arase, M. & Roeper, E.: Proc. Soc. exp. Biol. Med. 90, 303-304, 1955.
Bloom, F.: Proc. Soc. exp. Biol. Med. 79, 651-654, 1952.
Bloom, G.: Acta Morphol. Neerl. Scand. 1, 331-336, 1958.
Bloom, G.: Thèse, Karolinska Institutet, Stockholm, 1960.
Boseila, A.: Acta Endocrin. 29, 355, 1958.
Boseila, A.: Acta Med. Scand. 163, 525-529, 1959.
Boseila, A.: Experientia 15, 343, 1959.
Boseila, A.: Ann. N.Y. Acad. Sciences 103, 394, 1963.
Boseila, A. & Asboe-Hansen, G.: Proc. Soc. exp. Biol. Med. 101, 198, 1959.
Boseila, A. & Uhrbrand, H.: Acta Endocrin. 28, 49, 1958.
Braunsteiner, H. & Pakesch, F.: Acta Haemat. 17, 136, 1957.
Brodey, R. S., Mc Grath, J. T. & Martin, J. E.: J. Am. Med. Assoc. 123, 391-394, 1953.
Burton, A. L.: Anat. Record. 136, 407-412, 1960.
Chan, B. & Yoffey, J.: Immunology 3, 237, 1960.
Chevremont, M.: Cytologie et Histologie, Desoer éd. (Liège), 411, 1960.
Coupland, R. E. & Heath, I. D.: J. Endocrinol., 21, 71-76, 1961.
Del Conte, E., Della Sala, J. & Stux, M.: C.R. Soc. Biol., 148, 2127-2128, 1954.
Drabe, J.: Arch. Ohren Nas. u. Kehlkopfheilk. v. Z. Hals Nas. u. Ohrenheilk. 177, 174-186, 1961.
Dyrbye, M., Almqvist, J. & Wegelius, O.: Proc. Soc. exp. Biol. Med. 102, 417-419, 1959.
Efrati, P., Klajman, A. & Spitz, H.: Blood, 12, 869, 1957.
Ehrlich, P.: Farbenanalytische Untersuchungen zur Histologie und Klinik des Blutes, Hirschwald, éd. (Berlin), 1891.
Eidinger, D., Raff, M. & Rose, B.: Nature 196, 683, 1962.
Ende, N. & Auditore, J. V.: Nature 189, 593, 1961.
Fawcett, D. N.: J. Exp. Med. 100, 217-229, 1954.
Graham, H., Lowry, O., Wheelwright, F., Lenz, M. & Parish, H.: Blood 10, 467, 1955.

- Gusek, W.*: Proc. Europ. Regional Confer. on Electron. Microscopy (Delf - Pays-Bas) 2, 912-916, 1960.
- Hagen, O., Weiner, N., Ono, S. & Lee, F. L.*: J. Pharmacol. exp. Therap. 130, 9-12, 1960.
- Hagihara, M.*: Acta Haematol. (Japan) 23, 747-760, 1960.
- Hartman, W., Clark, W. & Cyr, S.*: Proc. Soc. exp. Biol. Med. 107, 123, 1961.
- Hunt, T. E. & Hunt, E. A.*: Proc. Soc. exp. Biol. Med., 94, 166-169, 1957.
- Hussarek, M. & Neuhold, R.*: Arch. Ohren Nasen u. Kehlkopfheilk. v. Z. Hals Nasen u. Ohrenheilk. 176, 433-435, 1960.
- Jorpes, J. E., Holmgren, H. & Wilander, O.*: Zeitsch. mikr.-anat. Forsch. 42, 279-300, 1937.
- Keller, K.*: Nature 193, 282, 1962.
- Klug, H.*: Acta Biol. Med. Ger., 6, 545-553, 1961.
- Lagunoff, D. & Benditt, E. P.*: Amer. J. Physiol. 196, 993-997, 1959.
- Larsen, G.*: Amer. J. Ophthalmol. 47, 59-519, 1959.
- Lecomte, J., van Cauwenberge, H. & Vliers, M.*: C.R. Soc. Biol. 152, 1041, 1958.
- Lennart, J. & Shelley, W.*: J.A.M.A. 177, 371, 1961.
- Low, F. & Freeman, J.*: Electron Microscope Atlas of normal and leukemic human blood. Mc Graw Hill, New-York, 1958.
- Maximow, A.*: Arch. mikr.-Anat. 76, 63-69, 1910.
- Michels, N. A.*: in M. Downey, Handbook of Haematology, vol. I. Hoeber (New-York) éd. et Hamilton (London) éd., 232-259, 1938.
- Mota, I.*: Immunology 5, 11, 1962.
- Mota, I.*: Intern. Rev. Cytol. 15, 363-397, 1963.
- Policard, A., Collet, A. & Pregermain, S.*: Rev. Hématol. 15, 345-367, 1960.
- Rebuck, J., Hodson, J., Priest, R. & Barth, C.*: Ann. N.Y. Acad. Sciences, 103, 409, 1963.
- Riley, J. F.*: The mast cells, E. & S. Livingston Ltd. (Edimburg and London) éd. 1959.
- Riley, J. F. & West, G. B.*: J. Path. Bact. 69, 269-282, 1953.
- Rorsman, H.*: Acta Allergol. 17, 36, 1962.
- Rorsman, H., Slatkin, M., Harber, L. & Baer, R.*: J. Inv. Dermat. 39, 493, 1962.
- Ross, M. & Cass, R.*: J. Clin. Invest. 38, 595, 1959.
- Rothschild, A. M. & Schayer, R. W.*: Biochim. Biophys. Acta 34, 392-398, 1959.
- Rowley, D. A. & Benditt, E. P.*: J. Exp. Med. 103, 399-412, 1952.
- Sheldon, W. H. & Bauer, H.*: J. Exp. Med. 112, 1069-1084, 1960.
- Shelley, W.*: Ann. N.Y. Acad. Sciences 103, 427, 1963 a.
- Shelley, W.*: J.A.M.A. 184, 171, 1963 b.
- Shelley, W. & Caro, W.*: J.A.M.A. 182, 172, 1962.
- Smith, D. E.*: Intern. Rev. Cytol. 14, 327-386, 1963.
- Smith, D. E.*: Amer. J. Physiol. 193, 573-575, 1958.
- Smith, D. E. & Lewis, Y.*: Experientia, 14, 335, 1958.
- Smith, R. E.*: Fed. Proc. 19, (suppl. 5), 1960.
- Üvnas, B.*: Chemotherapia 3, 137-149, 1961.

- Valentine, W., Lawrence, I., Pearce, M. & Beck, W.: Blood 10, 154, 1955.
 Vannas, S.: Acta Ophthalmol. 37, 330-339, 1959.
 Wegelius, O. & Asboe-Hansen, G.: Acta Endocrinol. 22, 157-165, 1956.
 Werner, M.: C.R. Ier Congrès international Allergie 1951, Karger éd., Bâle - New York.
 Winqvist, G.: Ann. N.Y. Acad. Sciences, 103, 352, 1963.

ROLE OF THE SMALL LYMPHOCYTES IN THE HISTOPHYSIOLOGY OF THE LYMPHOID SYSTEM by F. J. KEUNING, Groningen.

The small lymphocyte and the lymphoid tissue have been able to preserve the secret of their role in the organism for an unusually long period. It was not until recent years that a fundamental change took place in this regard so that it is only to-day that a fairly adequate understanding can be said to have been gained of the structure, dynamics and function of what may accordingly be referred to as "the lymphoid system". Naturally, there still are a large number of open questions but to-day many of these can at least be framed in a manner which makes sense so that they are amenable to purposeful experimental research.

The main object, and possibly even the only object, of the lymphoid system obviously is to afford *immunological protection* consisting in the production of antibodies on the one hand and cellular (lymphocytic) immunity on the other. In these two forms of immunological defense, the small lymphocyte is found to play the part of the *immunologically competent cell*, i.e. the cell that identifies substances foreign to the body (antigens) as such and which, on contact with an antigen, also becomes the stem cell of a cell population marked by a specific immunological activity consisting either in antibody production or in immunological aggressiveness of the cells (e.g., against a graft).

So far, small lymphocytes have been considered:

1. to be formed in the lymphatic organs (lymph nodes, spleen, etc.),
2. to be discharged from these organs (through the lymphatics, among other things) into the blood stream,
3. to remain in the blood for only a brief period (about one day), their subsequent fate being almost completely obscure,
4. to migrate into inflammatory lesions from the blood stream (lymphocytic infiltration, particularly in chronic inflammatory lesions), in which lesions they perform amoeboid movements, though they do not exert any phagocytic action.

Theories relating to the role of these cells were merely conjectural: they were believed to play a part in tissue reaction, a.o. by transforming into macrophages.

In *blood smears* and sections of lymphoid organs, the small lymphocytes appear as very insignificant cells: a small nucleus, dark-coloured by closely-packed chromatin fragments, and a narrow, slightly basophilic rim of cytoplasm. Nor does examination by the electron microscope reveal any particular structural features. The absence of such features might possibly be regarded as characteristic: the cytoplasm does not show any ergastoplasm, the cell structure responsible for the production of protein: it only contains some free ribonucleoprotein particles: The Golgi apparatus which is involved in processes of excretion, is poorly developed: the mitochondria (the "energy plant" of the cell) are unusually small and few in number. In fact morphologically there are hardly any indications as to the role of the lymphocyte.

The only thing that can be stated with a fair degree of certainty is that the lymphocyte positively is not a "hard-working" cell. The microscopical structure of *lymphoid organs* such as the spleen, lymph nodes, tonsils, appendix, etc., has long been known even though the structural dynamics, i.e., the constant variations in structure, have never been properly understood.

The lymphoid organs have always been assumed to play two main roles:

1. producing lymphocytes, particularly by the germinal centres of the splenic lymph nodes,
2. sieving the lymph flowing through the lymph nodes the blood flowing through the spleen etc., this however, desolves solely upon the phagocytizing reticular cells: the lymphoid organs therefore have always been considered to be a part of the reticulo-endothelial system.

Nothing whatever was known of a role, if any, of the lymphocytes in these organs.

Actually there was no reason for referring to this system as the lymphoid "system".

Investigations carried out along three lines have converged in our current conception of the histophysiology of the lymphoid system.

I. The first, if not the oldest, line consist in the, now classic, study by *Gowans* (1959) on the so-called *Recirculation of lymphocytes*. This investigator started from the long known fact that immense numbers

of lymphocytes (ninety-five per cent of which are small lymphocytes) are discharged daily into the blood through the thoracic duct; this proportion is as much as approximately from ten to twenty times the number present in the blood at any moment. The majority of investigators had so far regarded this fact as evidence of the constant production of immense numbers of lymphocytes in the lymphoid organs concerned. *Gowans* showed that on cannulation of the thoracic duct for six consecutive days:

1. the lymphocyte count (particularly that of the *small* lymphocytes) in the lymph collected from the thoracic duct gradually decreased,
2. a marked lymphocyte depletion of *all* lymphoid organs occurred,
3. but that this reduction in the number of thoracic-duct lymphocytes and this lymphocyte depletion of the lymphoid organs were *not* observed when the cells collected from the thoracic duct were returned to the animal by intravenous route.

It took *Gowans* years of work to satisfy the world of science of the fact that these findings were the result of recirculation of the small lymphocytes.

The observation by *Langevoort* (1961) and *van Buchem* (1962), in the laboratory of the present author, that there is no appreciable formation of new lymphocytes in the normal spleen and normal lymph nodes (it is essential that completely normal laboratory animals should be used in these studies), lends histological support to this view. In conclusion, there was the decisive study by *Schoolley* and his associates (1959), which showed that administration of tritium thymidine which ensures H^3 -labelling of the nuclei (desoxyribose nuclei acid) of all newly formed cells, will only result in the appearance of small proportions of labelled small lymphocytes in the thoracic duct.

In broad outline, the concept of recirculation implies:

1. that lymphoid organs such as the lymph nodes will continue to receive small lymphocytes from the blood stream (the cortical venules in the lymph nodes constitute the site of migration),
2. that these lymphocytes will remain in the lymphocyte fields of these lymphoid organs for a certain period,
3. that they will become detached again some time later and will then be carried along to the blood by the passing lymph, after which the cycle will recur.

Recirculation will therefore also result in constant *redistribution* of the small lymphocytes over the various lymphoid organs.

Van Buchem (1962) showed that the dissolution of tertiary nodules and subconsequent detachment of small lymphocytes in normal lymph nodes gives rise to constant profound changes in the anatomy of these glands. In specimens prepared for microscopical study, this is reflected in such features as the asymmetrical structure.

For the time being, *Miller's* well-known study of the thymus (1962) may be regarded as the latest word on this "concept of recirculation". When thymectomy is performed in a newborn experimental animal, the result will be that the other lymphatic organs fail to develop and that the total lymphocyte count remains at a very low level. At the same time, the ability to produce antibodies and reject homografts is absent; in fact the animals will die from a wasting syndrome within a few months. In adult laboratory animals thymectomy results in a reduction of the lymphocyte count by approximately sixty per cent. These experiments provide virtually positive evidence of the fact that the thymus, at any rate that of young animals, is the organ in which the lymphocytes are primarily formed. Hence they are distributed over the lymphoid organs by the process of circulation and recirculation.

It is obvious that, as a result of the recirculation of lymphocytes, the lymphoid tissue and all the circulating lymphocytes collectively constitute a true lymphoid "system".

II. The second line of investigation was initiated with the classic experiments by *McMaster & Hudack* (1935). These investigators showed that antibodies are mainly formed in the regional lymph nodes following subcutaneous administration of antigens. About the same time, the antibodies were identified as γ -globulins, i.e. proteins (*Tiselius & Kabat*). Shortly after, the cell pattern found to be characteristic of all protein-synthesizing cells was described by *Bracket & Cassperson*. This cleared the way for a study of those cells which give rise to the production of antibodies. It was *Fagreus* (1948) who showed that repeated intravenous administration of antigens into the spleen resulted in the appearance of plasma cells, the immature forms of which were particularly active in producing antibodies. This conclusion was subsequently verified by a wide variety of studies. As anticipated, antibodies were mainly found to be produced in the spleen following intravenous administration of antigens and in the lymph nodes following regional subcutaneous and intramuscular inoculation.

In the laboratory of the present author, the development of this

plasma-cell population, the so-called plasma-cell reaction, was accurately studied (following a single administration of antigens) by *Langevoort* in the spleen (1961, 1963) and by *van Buchem* (1962) in the popliteal lymph nodes. The earliest plasma cells, plasmablasts, were found to appear within twenty-four hours. These cells appeared solely in one component of the lymphoid tissue of the spleen (the white pulp), viz., in the so-called periarteriolar lymphocyte sheaths; the other component, the splenic lymph follicles, not being involved in this process. Large numbers of plasmablasts appear in these peri-arteriolar lymphocyte sheaths within three or four days; these cells differentiate into immature and mature plasma cells under active multiplication. During this process, these newly formed cells pass from the lymphocyte sheaths to the red pulp, the lymphocyte sheaths being restored to normal within five to six days.

The fact that large numbers of cells morphologically intermediate between small lymphocytes and plasmablasts, were observed during the development of plasma cells. Suggested their origin from small lymphocytes.

Another process starts in about five days: the splenic follicular centre reaction occurs in the follicular centres which have been indifferent (!) so far. These centres then take on the well-known appearance of "germinal centres". In another series of experiments (*Keuning et al.*, 1963), it was found possible to separate the plasma-cell reaction and the splenic follicular centre reaction by X-irradiation simultaneously with administration of antigen: sublethal irradiation almost selectively destroys the splenic follicles and thereby also suppresses the centre reactions, the plasma-cell reaction being normal and normal antibody titres being attained in the blood. The production of plasmablasts was apparently associated with a proportional reduction of sheath lymphocytes in these animals.

Van Buchem (1962), carrying out similar experiments, found the plasma-cell reaction in the lymph nodes to be localized in the lymphocytic fields. He so-called tertiary nodules, of the cortex. A large number of "transitional cells", morphologically intermediate between the small lymphocytes and the plasmablasts, were again observed.

Follicular centre reactions also appeared in about five days after administration of antigens in this case. Again the follicles could be eliminated by X-irradiation, the plasma-cell reactions and antibody formation taking a normal course.

In view of these findings it was concluded that the peri-arteriolar

lymphocyte sheaths in the spleen and the lymphatic fields in the lymph nodes constitute the immunologically responsive apparatus and that the small lymphocyte itself most probably is the responsive cell which develops into a plasmablast on contact with antigen. The splenic follicles apparently are not directly involved in this process so that the present author is inclined to continue regarding the follicular centre reaction (*Flemming*, 1885) as giving rise to the production of lymphocytes, although this lymphocytopoiesis would appear to be of the reactive type, the antigen being the causal stimulus.

III. The third line of investigation which, in a sense, provides the dénouement, is constituted by the recent work done—once again—by *Gowans* and his associates (1962). In this case, the functional significance of the small lymphocyte was studied in four series of experiments, the thoracic duct lymphocytes constituting the starting material.

The first series was concerned with antibody production (*Mc Gregor et al.*, 1963). In experimental animals in whom the thoracic duct is cannulated for six days, the lymphocyte depletion of the lymphatic organs is paralleled by a loss of the ability to respond to an antigen by antibody formation. The ability to produce antibodies could be restored by intravenous administration of small (!) lymphocytes from the thoracic duct lymph.

The second series was concerned with the homograft reaction. A homograft is rejected in the rat within about fourteen days. When H^3 -thymidine is continuously administered to the animal (every twelve hours) from the time of grafting, practically all newly formed cells including all newly formed lymphocytes will be labelled. By the seventh day, when the graft already shows marked lymphocytic infiltration, approximately *seven* per cent to the circulating lymphocytes of the blood were found to be labelled *Sixteen* per cent of the sinus lymphocytes in the regional lymph node of the graft were labelled, which suggests that new cells are produced in this particular lymph node.

And, in the graft, over ninety per cent of the infiltrating lymphocytes were labelled. The graft is accordingly "attacked" not just by at random lymphocytes of the blood but by lymphocytes which have been *newly* formed in the regional lymph nodes after the grafting and have entered the circulation from these lymph nodes.

The third series of experiments was complementary to the second series. A skin homograft will take permanently in a specifically tolerant animal; it will be rejected in the normal period, however, when (non-tolerant) thoracic-duct lymphocytes of the host are intravenously ad-

ministered to the host. When these inoculated lymphocytes were labelled, they themselves were *not* found to appear in the graft; in reaction to the skin graft antigens they must, therefore, have produced a new generation of lymphocytes (cf. previous experiment) exhibiting a specific immunological aggressiveness towards the graft.

The final series of experiments was concerned with a particular form of transplantation immunity, the so-called graft-versus-host reaction. When lymphoid tissue is used as a graft and the host is an experimental animal that fails to recognize this graft as being foreign to the body (for instance, A-lymphoid cells $(A \times B)F_1$ host or A-lymphoid cells (A-tolerant)B host), the graft will not be rejected by the host but the lymphoid graft will develop an immunological aggressiveness towards the host who is "foreign to the graft", by which the host is destroyed. The experiments carried out by *Gowans* showed that a suspension of thoracic-duct cells administered by intravenous route acted as an immunologically active graft of this type. A comparative study of the killing effect of suspensions of cells containing various proportions of small lymphocytes and large lymphoid cells showed that this immunological activity was associated with the *small* lymphocytes. When labelled small lymphocytes were injected, these cells were found to develop into large pyroninophilic (= basophilic) lymphoid cells bearing a marked resemblance morphologically to plasmablasts; this only occurred in a host "foreign to" these lymphocytes. As no labelled plasma cells but only labelled medium-sized and small lymphocytes were observed, *Gowans* concluded that the immunologically competent small lymphocytes injected are transformed into large basophilic lymphoid "stem cells" following contact with antigen of the host, which cells in turn give rise to immunologically active lymphocytes by one or more mitoses.

One more point may, lastly, be added to the picture presented above.

The thymus occupies a special place as the mother organ of lymphocyte formation at least in the newborn. It does so in another respect as well. Experiments carried out in the laboratory of the present author showed that suspensions of lymphocytes from the thymus are not by themselves immunologically active; they are unresponsive. Potentially, however, they are immunologically competent. Recent studies by *Mobray* (1963) appear to suggest that a substance is produced in the thymus, which renders lymphocytes immunologically unresponsive. This mechanism presumably provides the basis for the permanent unresponsiveness of the lymphocytes to the antigens of the

organism itself on the one hand and for the experimentally induced tolerance towards foreign antigens on the other. Lastly this mechanism appears to be impaired in so-called auto-immune diseases in which plasma cells are produced in the thymus itself.

Summary

Experimental evidence obtained along several lines appears to demonstrate that the small lymphocytes in the blood and lymphoid organs may be regarded as the "immunologically competent cells"; on contact with antigens in a lymphoid organ, these cells apparently develop either into large lymphoid stem cells producing a number of plasma cells by mitosis homograft reaction. The latter probably also is the mechanism by which sensitization of the delayed type is produced.

THE EOSINOPHILIC LEUCOCYT IN DIFFERENT ALLERGIC
MANIFESTATION *by* R. VOORHORST, Leyden.

SOME NEW OBSERVATIONS REGARDING INCREASED NUMBERS
OF BLOOD EOSINOPHILS IN HAY-FEVER PATIENTS *by* H. VAREKAMP,
Leyden.

This document is a scanned copy of a printed document. No warranty is given about the accuracy of the copy. Users should refer to the original published version of the material.