

A L'HISTOLOGIE NORMALE DES MASTOCYTES

László Horváth
(Reçu : 12. Sep. 1951.)

Mes expériences avaient but de démontrer la présence de l'héparine dans les mastocytes mêmes, à la différence des expériences rapportées jusqu'ici par la littérature et qui étaient pour la plupart des expériences *in vitro*.

Holmgren, Wilander (4, 5, 6, 7), puis Jorpes (8) s'occupaient à fond de la production d'héparine des mastocytes. Ils partent de la réflexion que, d'une part, les granules des mastocytes se colorent métachromatiquement par la toluidine, ce qui prouve — si on tient compte des expériences de Lison (9) — que les mastocytes contiennent un polysaccharide ayant des liaisons du type ester sulfurique ; d'autre part, qu'on a réussi à produire de l'héparine des tissus riches en mastocytes (p. ex. de l'aorte de la vache).

Ces données n'expliquent toutefois pas complètement le fait que les granules des mastocytes contiennent de l'héparine.

Hirt (3) a constaté que les granules colorés par la tryptaflavine et examinés sous le microscope luminescent deviennent luminescents sous l'action d'une lumière UV de la même longueur d'ondes que le complexe cristallin héparine-tryptaflavine *in vitro*.

J'ai fondé mes investigations sur trois données biochimiques :

1° Jorpes mentionne que le complexe héparine-toluidine est un précipitat métachromatique, insoluble dans l'eau.

2° Selon Abderhalden, Oppenheimer et Burdon (10), l'héparine est l'inhibitrice spécifique de la tryptase de sérum sanguin (séro-trypsine). Par conséquent, en réduisant la tryptase à un état d'inaction, l'héparine joue dans le sang le rôle d'une antitryptase entravant la catalyse de la transformation du complexe tryptase — Ca⁺⁺-phospholipoïde, c'est-à-dire de la protrombine en trombine.

3° Gerendás (1, 2) a examiné le fait que le précipitat métachromatique de la liaison héparine-toluidine cesse sous l'action de l'histamine lorsque l'histamine libère la toluidine qui recouvre alors sa couleur bleue originale.

Méthodique

Nous avons fait une mince préparation membraneuse du tissu conjonctif de la peau dorsale d'un rat ; et, après fixation au-dessus de la flamme, nous l'avons colorée en partie par la solution aqueuse 0,5 p. c. de toluidine, en partie par la solution d'hématoxyline d'après Barta.

1° A l'état natif, et colorées par l'hématoxyline selon *Barta* (sans diff.), les mastocytes ne montrent pas de granulations semblables à celles qu'on observe en cas de coloration par la toluidine. J'appuie cette assertion sur des observations à l'éclairage à fond noir. En examinant sous l'éclairage à fond noir une préparation native ou colorée selon le procédé de *Barta*, on ne peut constater dans les mastocytes aucune structure granulée. On n'y voit que la limite cellulaire et le noyau. Cela signifie que la cellule ne contient pas de corpuscule (*organellum*) susceptible de provoquer dans l'espace un phénomène de Tyndall. Sur une préparation colorée par de la toluidine, les granules apparaissent dans les mastocytes comme autant de corpuscules lumineux, ce qui signifie que les granules ont

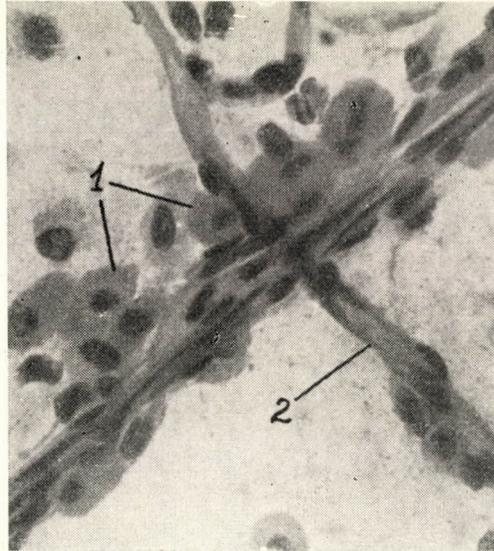


Fig. 1.

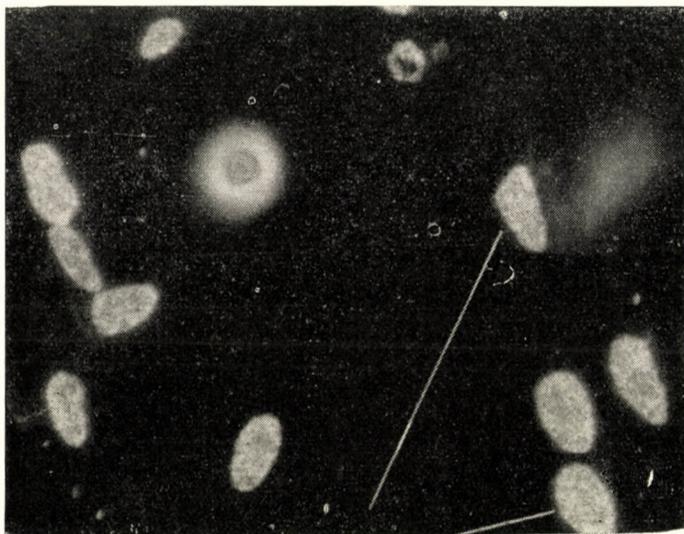
Préparation membraneuse conjonctivale de rat. 1 mastocytes, 2 capillaire. On ne voit pas de granules dans les mastocytes. Hématoxyline selon *Barta*. Grossie 350 fois.

une surface indépendante, respectivement que le pouvoir de réfraction de la substance des granules diffère de la capacité de réfraction de la substance environnante. Par conséquent les granules des mastocytes sont des artefacts dus à l'action de la toluidine. Cette formation de précipitat métachromatique intracellulaire est l'équivalente de celle du précipitat du complexe héparine-toluidine, produit *in vitro*. (Fig. 1 et 2.)

2° J'ai choisi pour point de départ cette hypothèse de travail que, si les mastocytes contiennent de l'héparine, elles ne sauraient être digérées dans une solution de trypsine d'une concentration donnée, qui digère avec facilité la préparation membraneuse conjonctivale; car l'héparine qu'elles contiennent est une antitrypsine entravant l'action de la trypsine. A cet effet, j'ai placé

les préparations membraneuses dans une solution de concentration minima et d'une *pH* optima, qui se met à digérer la conjonctive au bout de 20 minutes. La digestion avait lieu à 37 degrés centigrades, dans un thermostat.

Le contrôle de la digestion accomplie par la solution de trypsine était fait à l'aide d'étroites bandes de film développées et desséchées à l'avance, et dont l'émulsion de gélatine est digérée sans peine par la trypsine. Le ton de



Mastocytes

Fig. 2.

Préparation membraneuse de rat. Toluidine. Éclairage à fond noir. Grossissement : 350 fois. Les mastocytes sont saturés de granules lumineux.

la couche gélatineuse restée sur le film après la digestion est illustrée par la fig. 3. La digestion de la première bande de film de la fig. 3 durait en réalité dix minutes. Sur la figure, elle n'est pas encore commencée. L'émulsion est intacte, aucune différence de tons ne peut être constatée. La deuxième bande de la même figure était exposée pendant 20 minutes à la digestion. La digestion est commencée, on peut évaluer la différence des tons. La troisième bande de film était digérée pendant 30 minutes. La couche d'émulsion manque tout à fait, la digestion est complètement terminée.

Sur une préparation placée dans une solution de trypsine ainsi concentrée on peut observer ce qui suit :

Sur les parties de la préparation membraneuse qui sont exemptes de mastocytes, on ne voyait plus, après 30 minutes de digestion, aucune coloration par toluidine ; par contre, dans le secteur riche en mastocytes, ce ne sont pas

seulement les labrocytes qui se colorent bien : la substance des tissus environnants montre le même phénomène. On peut expliquer celui-ci par la circonstance que dans les secteurs exempts de mastocytes, les structures tissulaires superficielles se sont changées sous l'action de la trypsine. La surface structurale

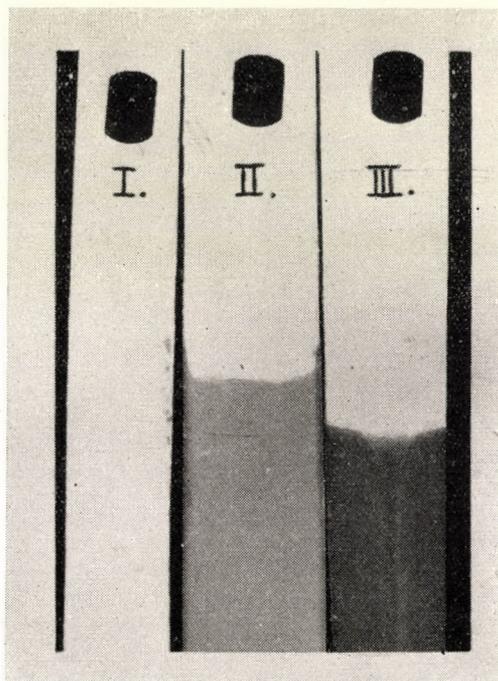


Fig. 3.

Bandes de film dont l'émulsion est digérée par de la trypsine 0,03 p. c. I-pendant 10 minutes ; II-pendant 20 minutes ; III-pendant 30 minutes.

ainsi changée n'est plus capable de lier de la toluidine. Dans les régions riches en mastocytes, l'action antitryptique s'est fait valoir ; la conséquence en est que la trypsine n'a pu exercer son action de décomposition sur la surface structurale ; ainsi, la coloration de toluidine s'est bien maintenue dans ce secteur. (Fig. 4 et 5.)

Cela prouve que les mastocytes contiennent un inhibiteur de trypsine. Il est à remarquer que c'est surtout la paroi des capillaires et des petits vaisseaux qui conserve son pouvoir de lier de la toluidine après la digestion accomplie par la trypsine, c'est à dire que les parois des petits vaisseaux et des capillaires sont imbibées d'un mucopolysaccharide sulfoné ayant un effet antitryptique.

3° J'ai placé une goutte d'eau sur une préparation membraneuse colorée par de la toluidine, et, sous contrôle microscopique, j'y ai dissous quelques gouttes d'histamine cristalline dans le voisinage d'un groupe de mastocytes.

En quelques secondes, les mastocytes se décolorent. La décoloration consiste donc essentiellement en ce que la substance granuleuse perd, sous l'action de l'histamine, sa capacité de lier de la toluidine. C'est en conséquence de ce fait que les mastocytes se décolorent.

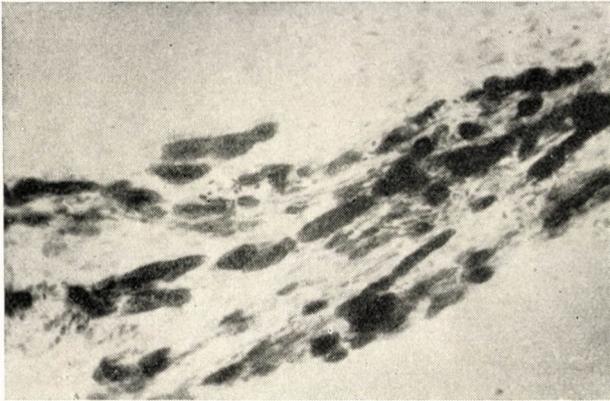


Fig. 4.

Préparation membraneuse conjonctivale digérée 20 minutes durant. Toluidine. Grossie 150 fois
Les mastocytes se colorent bien. Le tissu environnant ne se colore pas.

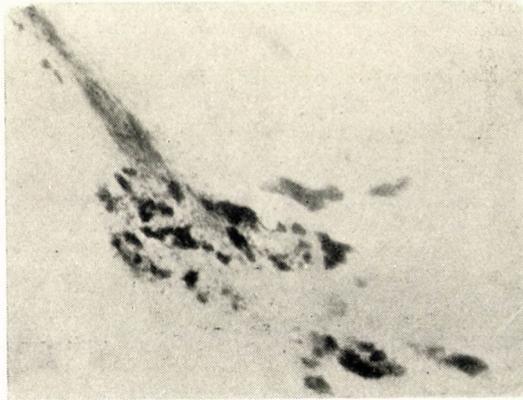


Fig. 5.

Préparation membraneuse conjonctivale digérée par de la trypsine pendant 30 minutes. Grossie 100 fois. Les mastocytes se colorent moins intensément, la paroi du capillaire est colorée, le tissu conjonctival environnant est resté sans coloration.

Conclusion

Les faits que (1°) sous l'influence de la toluidine, un précipitat métachromatique intracellulaire se produit dans les mastocytes ; (2°) que la substance protoplasmique de celles-ci résiste à la digestion par la trypsine ; (3°) que les granules des mastocytes originaires colorés de toluidine se décolorent sous

l'action de l'histamine — sont autant de preuves propres à expliquer complètement la présence du contenu d'héparine des mastocytes.

Résumé

Nous avons utilisé les données trouvées dans la littérature biochimique de l'héparine comme des réactions histochimiques afin d'identifier l'héparine dans le protoplasma des mastocytes. En voici les résultats :

- 1° Les granules des mastocytes sont des artefacts produits sous l'influence de la toluidine.
- 2° La substance protoplasmique des mastocytes résiste à la digestion par la trypsine.
- 3° Les granules d'une mastocyte colorés par la toluidine se décolorent sous l'action de l'histamine.

BIBLIOGRAPHIE

1. Csefkó—Gerendás—Udvardy : (1948.) Role de l'inactivation de la trombine dans la coagulation de sang. Hebdomadaire Médicale. 16.
2. Csefkó—Gerendás—Udvardy : (1949.) Explication des phénomènes de choc sur la base de l'inactivation de la trombine. Hebdomadaire Médicale. 4.
3. Hirt, A. : (1939.) Luminiscens-mikroskopische Untersuchungen an den Mastzellen der lebenden Maus. Anat. Anzeiger. 87. 97.
4. Holmgren : (1938.) Eine neue Methode zur Fixierung der Ehrlich'schen Mastzellen. Z. f. Wiss. mikroskopische Technik. Bd. 55. 419.
5. Holmgren—Wilander : (1937.) Beitrag zur Kenntnis der Chemie und Function der Ehrlich'schen Mastzellen. Z. f. mikr. anat. Forschung. Bd. 42. 242.
6. Holmgren : Function und Chemie der Ehrlich'schen Mastzellen. Anat. Anzeiger Bd. 85. 31. (1938.)
7. Holmgren : (1940.) Studien über Verbreitung und Bedeutung der Chromotropen Substanz. Z. f. mikr. ant. Forschung. Bd. 47. 489.
8. Jorpes—Holmgren—Wilander : (1937.) Ein Beitrag zur Physiologie der Ehrlich'schen Mastzellen. Z. f. mikr. anat. Forschung. Bd. 42. 279.
9. Lison : (1938.) Sur la détermination du pH intracellulaire par les colorants vitaux indicateurs. L'erreur métachromatique. Protoplasma. Bd. 24. 453.
10. Szák—Könyves—Kolonics—Huszák : (1950.) A la pathologie de la selérose polysulaire. Hebdomadaire Médicale 12. 353.

О НОРМАЛЬНОЙ ГИСТОЛОГИИ ТУЧНЫХ КЛЕТОК

Л. Хорват

Резюме

Целью опытов автора было доказать непосредственное присутствие гепарина в тучных клетках. Опыты были проведены на основании трех биохимических данных :

1. Йорпес (Jorpes) сообщает, что комплекс гепарин-толуидин является метаксроматическим осадком, который не растворяется в воде.
2. Согласно Абдергальдену, Оппенгеймеру и Бурдону, гепарин является специфическим ингибитором трипсазы сыворотки крови (serum trypsin).
3. Герендаш занимался вопросом о прекращении метаксроматического осадка гепарин-толуидин соединения под влиянием гистамина.

Автор использовал вышеупомянутые три биологические данные в качестве гистохимической реакции при тканевых препаратах.

Методика : Автор приготовил из клетчатки спинной кожи крысы тонкий пленочный препарат и после фиксации над пламенем окрасил его, отчасти 0,5% водным раствором толуидина, а отчасти раствором гематоксилина по Барту.

Результаты :

1. Зернышки тучных клеток представляют собой артефакты, возникшие под влиянием толуидина.
2. Протоплазматическое вещество тучных клеток не поддается пищеварению трипсином.
3. Зернышки окрашенных толуидиной тучных клеток обесцвечиваются под влиянием гистамина.

Эти явления служат такими доказательствами, которые полностью подтверждают содержание гепарина в тучных клетках.