

ETUDE AU MOYEN DES SPECTRES CELLULAIRES DE REPARATION  
ERYTHROCYTAIRE ET DU REMODELAGE DES RETICULOCYTES  
APRES IRRADIATION TOTALE.

A. Le Gô, R. Le Gô, J.L. Malarbet, J. Prudhomme, L. Genest.

Département de Protection  
Section de Radiopathologie  
Centre d'Etudes Nucléaires  
92260 Fontenay-aux-Roses.

La réponse érythrocytaire à toute stimulation est faite de cellules de taille très supérieure à la normale. La maturation et la destinée de ces macrocytes ont fait l'objet de nombreux travaux centrés sur deux problèmes : leur durée de vie et leur remodelage en présence ou en l'absence de rate. A la suite des travaux de NEUBERGER et NIVEN en 1951, et sur la base de données isotopiques, la durée de vie des macrocytes est apparue le plus souvent raccourcie, mais de façon variable selon les auteurs. Cependant, plus récemment, les travaux de GANZONI, confirmés par ceux de COME, accordent au remodelage des macrocytes une place plus importante qu'à l'hémolyse totale précoce et soulignent le rôle de la rate dans ce phénomène.

Nous avons, dans un travail antérieur, abordé le problème de la macrocytose radio-induite par l'analyse mathématique des courbes de distribution de volume érythrocytaire (ou spectres érythrocytaires). Nous avons appliqué la même méthodologie à l'étude du remodelage des macroréticulocytes, avec une modification technique, destinée à minimiser l'effet Coulter : la pré-fixation des érythrocytes par le formol.

## 1. MATERIEL ET METHODE.

### 1.1 Spectres érythrocytaires.

La chaîne d'enregistrement comprend un Coulter-Counter couplé à un sélecteur-analyseur d'amplitude (SA 40 d'Intertechnique). Les données numériques, en mémoire dans le sélecteur, sont sorties sur ruban de papier par l'intermédiaire d'une télétype et sont ainsi directement accessibles au traitement sur ordinateur. Le spectre érythrocytaire normal du rat a un aspect bimodal qui disparaît ou s'atténue fortement après fixation des cellules par le formol neutre à 10% dans du PBS (Figure 1)

### 1.2 Schéma expérimental.

6 rats Sprague Dawley âgés de 2 mois ont été mis en expérience. Une injection de Fe-59 (3 micro Ci de citrate de fer en solution aqueuse par animal) a été faite pour marquer les normoréticulocytes avant irradiation. Quatre jours plus tard, les animaux ont été irradiés aux gamma du Co 60, à la dose sublétales de 725 rads. Le même jour, l'activité sanguine du Fe-59 a été mesurée pour servir de point de référence dans la suite de l'étude.

A partir de la 3ème semaine après l'irradiation, et jusqu'à la 11-12ème semaine, un contrôle hématologique hebdomadaire a été fait sur le sang recueilli par ponction d'une veine caudale.

### 1.3 Estimation de la production érythrocytaire.

La production "théorique" est basée sur le taux de réticulocytes au jour J, en tenant compte du temps de maturation estimé au préalable "in vitro" sur un échantillon sanguin maintenu à 37°C. Par extrapolation, en supposant une évolution exponentielle de la production, on a calculé la production entre deux jours de prélèvement : production théorique différentielle et par sommation la production théorique cumulée depuis le début de la réparation sanguine.

La production "observée" est basée sur les données du spectre érythrocytaire. En tenant compte de la disparition physiologique basée sur une durée de vie moyenne de 65 jours (expériences préliminaires) et de la disparition par hémorragie, mesurée par l'activité du Fe-59, l'effectif des normocytes restant de J-0 a été estimé et le spectre érythrocytaire correspondant a été construit. En soustrayant ce spectre J-0 pondéré du spectre du jour, est obtenu le spectre de production entre J-0 et J, dont on déduit la production cumulée depuis J-0. La soustraction de deux spectres consécutifs a fourni de même l'estimation de la production différentielle sur une semaine (Figure 2).

## 2. RESULTATS.

### 2.1 Evolution hématologique après irradiation.

L'anémie est maximum entre J-21 et J-28. Après une phase de réparation rapide, jusqu'au 42ème jour, suit une phase de réparation plus lente.

La réticulocythémie. On observe 2 vagues de réticulocytose :

- la première, entre J-21 et J-42, correspond à la phase de réparation rapide avec production de macroréticulocytes.

- la deuxième, au-delà de J-42, correspond à la production de normoréticulocytes.

Le volume globulaire moyen subit un accroissement important entre J-21 et J-35, suivi d'une réduction de  $12.2 \pm 4.8$  microns entre J-35 et J-56.

### 2.2 Evolution des spectres de production différentielle.

(c'est à dire de la production hebdomadaire entre deux prélèvements successifs).

La Figure 3 montre que la macrocytose est maximale dans les premiers jours de la réparation sanguine, avec un VGM double de la normale. Puis intervient une réduction de taille qui progresse régulièrement vers la normalisation obtenue vers J-70. Tous les spectres, à partir de J-42, ont un aspect biphasique avec : une onde positive qui correspond à l'apparition de nouvelles cellules et une onde négative qui correspond à une disparition cellulaire. Cette onde négative se situe toujours dans la zone des plus grands volumes et indique que les cellules de plus grande taille disparaissent et ne sont pas remplacées par des cellules de taille équivalente. Il faut remarquer à ce propos, que la disparition de macrocytes peut relever de 2 mécanismes : soit la destruction totale, soit le remodelage qui les fait passer dans une classe de volumes inférieurs. Dans ce cas, les macrocytes remodelés viennent se classer dans l'onde positive, qui fournira alors une surestimation de la production réelle dans la période considérée.

Ceci est très important dans l'interprétation des résultats ultérieurs.

2.3 Comparaison entre "production théorique" et "production observée". Elle est illustrée par la Figure 4. Production cumulée (courbes supérieures): en dépit de l'approximation des calculs, les deux estimations concordent bien jusqu'à J-56. Puis la production observée est inférieure à la production théorique; il faut souligner que cette dernière ne tient pas compte de la mortalité cellulaire, alors que le spectre normalisé sur la numération du jour, est affecté par celle-ci. Il est donc très vraisemblable que la divergence entre les deux estimations à partir de J-56 est due à la mort prématurée des macrocytes aux environs du 42ème jour, soit les 2/3 de la normale (MILETTE ou CARD). Production différentielle: il existe à J-42 et à J-56, une différence importante entre les deux types d'estimation au profit de l'estimation sur spectre. Le remodelage des macrocytes aboutissant à une surestimation de la production sur spectre, il semble que ce soit là l'explication de cette divergence, puisque dans le même temps les productions cumulées théorique et observée concordent assez étroitement. Cette explication est d'autant plus tentante que le VGM subit parallèlement une décroissance assez brusque.

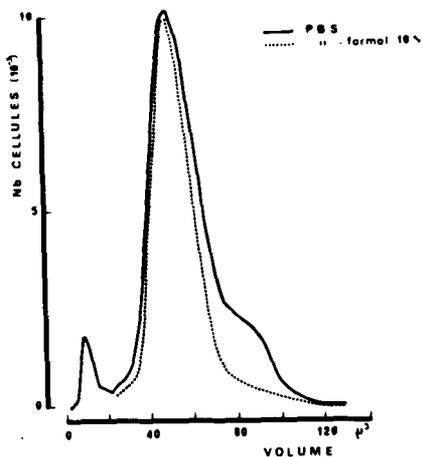
#### CONCLUSION.

Les spectres érythrocytaires permettent de suivre l'évolution spontanée de la réparation post-anémique, en évitant les inconvénients inhérents aux manipulations et aux transfusions de cellules marquées.

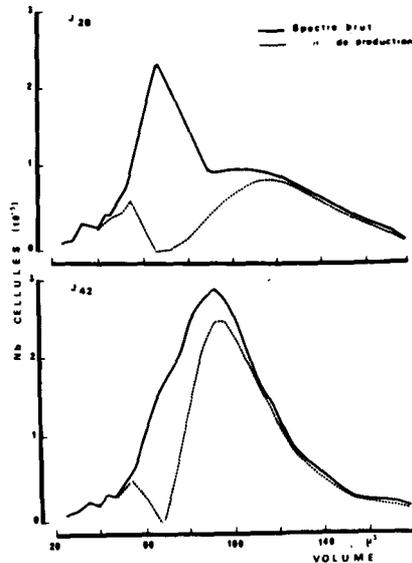
Les résultats obtenus semblent indiquer que les macrocytes de réparation subissent des phénomènes de remodelage, mais quelle que soit l'importance de ce remodelage, la durée de vie de ces macrocytes paraît raccourcie. Ces résultats concilient donc les différentes hypothèses avancées sur la maturation et la cinétique des macrocytes de réparation.

#### REFERENCES.

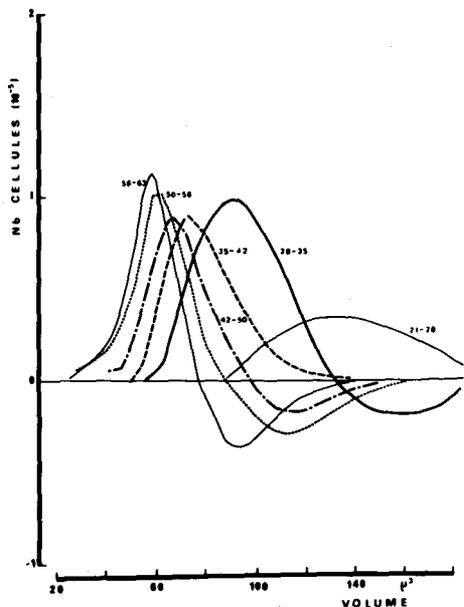
- NEUBERGER A., NIVEN J.S.F - Haemoglobin formation in rabbits (J. Physical - London 1951, 112 : 292 - 310).
- GANZONI A., HILLMAN R.S, FINCH C.A.- Maturation of the macroreticulocyte (Brit. J. Haematol. 1969, 16 : 119).
- CARD R.T, VALBERG L.J., - Characteristics of shortened survival of stress reticulocytes. (Am. J.Physial 1967, 213 : 560).
- MILLETTE R.L., GLOWACKI - In vivo maturation of reticulocytes transfused into a normal rabbit (Nature - 1964, 204 : 1207 - 1209).
- LE GO A., LE GO R., MALARBET J.L., PRUDHOMME J.- Intérêt pratique des spectres érythrocytaires au cours des états de réparation post-anémique. (Nouv. Rev. Fr. Hématol. 1972, 12 139 - 158).



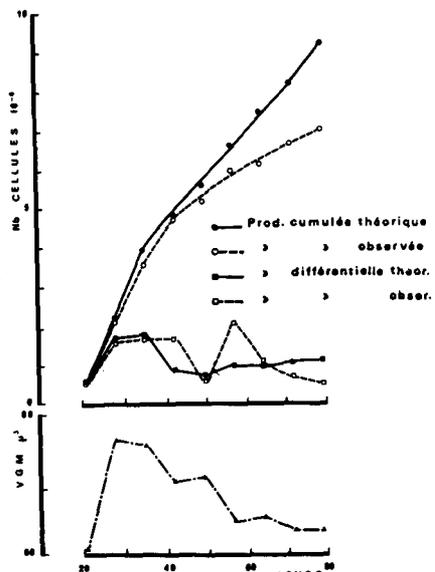
**Fig. 1** Atténuation de l'effet Coulter par préfixation des érythrocytes en PBS-Formol 10%



**Fig. 2** Spectres de "production" entre J0 et J1 (-spectre brut défalqué des normocytes présents avant irradiation).



**Fig. 3** Spectres de la production entre 2 jours de prélèvement (notés en regard des courbes) traduisant l'apparition (ou de positive) et la disparition (ou de négative) de cellules d'un volume donné.



**Fig. 4** Comparaison entre "production théorique" (estimé par réticulocytémie) et production observée (estimée sur spectres) rapportées à l'évolution du VGM.