

Différents aspects du fer dans l'organisme

II. Différentes formes de l'hémosidérine*

Par MARCEL BESSIS, M.D., et JANINE BRETON-GORIUS

(Centre National de Transfusion Sanguine et Ecole Pratique des Hautes Etudes, Paris, France)

PLANCHES 129 A 133

(Reçu le 2 janvier 1959)

RÉSUMÉ

On voit des molécules de ferritine apparaître dans le cytoplasme des cellules réticulaires au cours de la digestion des érythrocytes, autour des stromas phagocytés.

Cette ferritine s'accumule en amas dans lesquels entrent d'autres substances, en particulier des lipides, provenant aussi des stromas globulaires et qui apparaissent sous forme myélinique.

Souvent la ferritine se dispose d'une manière cristalline. Parfois la ferritine et l'apoferritine alternent dans ces cristaux. Parfois l'hémosidérine contient des cristaux qui semblent bien être de l'apoferritine pure.

L'injection de sels de fer donne lieu à l'apparition de ferritine dans les cellules réticulaires. Dans les conditions de nos expériences, la plus grande partie du fer injecté était sous forme de ferritine dans un délai de 3 jours. Un aspect intermédiaire entre celui du fer injecté et celui de la ferritine a été trouvé. Dans le cas des injections de saccharate de fer ce sont de fines aiguilles; dans le cas des injections de lactate de fer, il s'agit de masses fibreuses.

Dans un article antérieur (1), nous avons examiné l'aspect du fer sous forme de ferritine et de micelles ferrugineuses. Ces deux aspects rentrent dans la composition de ce que l'on appelle l'hémosidérine. Toutefois, elle présente suivant les cas, des aspects très différents, que nous nous efforçons d'analyser.

Matériel et techniques

Il sont identiques à ceux qui ont été indiqués dans notre article antérieur (1).

OBSERVATIONS

I. Digestion des érythrocytes. Apparition de ferritine et d'hémosidérine:

Dans la moelle osseuse, la rate et le foie de l'homme et des mammifères, on peut voir des cellules réticulaires digérant des globules rouges vieillissants. La digestion dure de 5 à 15 minutes environ, comme l'ont montré les études cinématographiques où l'on voit le globule rouge, juste après son ingestion, être digéré dans le cytoplasme en deux ou plusieurs parties (Policard et Bessis (11)).

Au microscope électronique les étapes de la digestion sont aisément suivies. En général, il apparaît dans les globules phagocytés des vacuoles de plus en plus grandes; parfois, l'hémolyse a lieu dans le cytoplasme de la cellule et l'on voit bien, alors, le stroma restant. Dans les deux cas, on voit, au microscope électronique autour du fragment du globule rouge, une quantité considérable de petites granulations très denses (5).

Ces granulations, à un fort grossissement du microscope électronique, montrent l'aspect caractéristique des molécules de ferritine.

Le plus souvent, ces molécules de ferritine, se groupent en amas visibles au microscope optique, et sont alors colorables au bleu de Perls: c'est ce que les biologistes connaissent sous le nom d'hémosidérine. Dans ces amas, on voit un mélange de molécules de ferritine et de substances encore indéterminées. Parmi ces masses plus ou moins denses, existent parfois des figures myéliniques. On sait que l'hémosidérine donne parfois des réactions positives au P.A.S.¹ et au Noir Soudan (8).

¹ Periodic acid-Schiff reaction.

Il y a tout lieu de penser que les formes myéliniques représentent la substance Noir Soudan positive. On peut voir ces figures myéliniques (Fig. 1) dans des stromas phagocytés en voie de digestion (12, 14). Il n'est pas étonnant de les retrouver dans l'hémossidérite. Les masses denses arrondies correspondent, probablement, à la substance P.A.S. positive. En ce qui concerne ce dernier point, la même remarque peut être faite dans les érythroblastes de la maladie de Cooley qui contiennent à la fois de la ferritine et une substance P.A.S. positive (2, 3).

Toute la ferritine et l'hémossidérite que l'on voit dans les cellules réticulaires, ne proviennent pas directement de la phagocytose des globules rouges. Le fer provenant d'autres sources (fer stocké dans la rate ou le foie par exemple) peut également se déposer dans les cellules réticulaires de la moelle sous forme de ferritine.

II. Hémossidérite provenant de la surcharge ferrugineuse:

Chez les animaux que nous avons soumis à des injections péritonéales de sels de fer, nous avons observé les phénomènes suivants:

1. *Saccharate de fer* (Fig. 4). Au premier jour, on rencontre surtout des polynucléaires et quelques macrophages ayant phagocytés des masses plus ou moins importantes de saccharate de fer et se présentant sous forme d'amas denses aux contours irréguliers. Ces masses sont tout à fait opaques aux électrons, même sur coupes très fines examinées à 100 KV. On ne peut y discerner aucune structure.

Vus le 2ème jour, les polynucléaires sont phagocytés à leur tour par les macrophages et, le 3ème jour, on ne rencontre plus que des macrophages. Leur cytoplasme renferme des amas de fer sous trois formes: (a) *du saccharate de fer* tel que nous venons de le décrire; (b) *de fines aiguilles* opaques aux électrons, représentant une transformation du fer injecté; (c) *de la ferritine*, soit dispersée autour de ces aiguilles, soit en amas, parfois limitée par une membrane simple.

2. *Lactate de fer* (Fig. 4). Le premier jour, on rencontre des masses opaques sans structure visible au microscope électronique. Par la suite dans la séreuse péritonéale on ne rencontre que très rarement ces masses opaques. On trouve, au contraire, fréquemment, des masses irrégulières constituées d'un feutrage de très fins filaments

alignés (Fig. 4). A côté de cet aspect fibrillaire qu'a pris la préparation contenant du fer, on voit des molécules de ferritine dispersées ou réunies en masses plus ou moins cristallisées et limitées parfois par une simple membrane. Fréquemment, dans les amas de ferritine, on trouve des zones grises ou le nombre de molécules de ferritine est beaucoup plus faible, il pourrait s'agir dans ces cas d'apoferritine non complètement saturée en fer (voir plus loin). Les masses de ferritine sont souvent entourées d'une membrane en général unique, parfois double. Toutefois, rien n'indique qu'il s'agisse de mitochondries. Nous n'avons jamais vu jusqu'à présent de mitochondries remplies de ferritine ailleurs que dans les érythroblastes. En particulier, il n'y en a pas dans le foie des hémochromatoses, bien qu'occasionnellement on puisse voir des molécules de ferritine dans de rares mitochondries.²

III. Cristaux de ferritine:

Dans les cas de surcharge ferrugineuse, d'hémochromatose chez l'homme, on peut voir des cristaux de ferritine pure, parfois de dimensions considérables, dépassant 1 à 2 microns (*cf.* Bessis et Breton-Gorius (4), Richter (13)). Ces aspects sont identiques à ceux des cristaux de ferritine obtenus par voie chimique (Farrant (7), Bessis et coll. (6)). Parfois les molécules de ferritine sont alignées suivant de grandes figures circulaires ou ovoïdes dont nous ne connaissons pas encore la signification.

IV. Cristaux de ferritine et d'apoferritine (Figs. 2, 3, et 5):

Dans les cellules réticulaires de malades atteints d'hémochromatose, on remarque parfois une disposition curieuse qui a fait l'objet d'une note antérieure (6); parmi les longues files de molécules de ferritine certaines places sont vides. On peut soulever l'hypothèse qu'il s'agit de molécules d'apoferritine mêlées aux molécules de ferritine.

Pour tenter de vérifier cette hypothèse, avec C. Dreyfus et G. Schapira (6), nous avons préparé, selon la technique de Granick (9, 10) de l'apoferritine cristallisée à partir de rate de cheval.

² Durant la rédaction de cet article, nous avons eu connaissance d'un travail de Richter sur la transformation en ferritine de sels de fer injectés. (Richter, G. W., The cellular transformation of injected colloidal iron complexes into ferritin and hemosiderin in

Observés en coupe, au microscope électronique, nous avons constaté que ces cristaux possédaient une structure périodique identique à celle de la ferritine.

D'un autre côté, il arrive que dans des amas d'hémosidérine, l'on trouve des plages polygonales à angles vifs qui peuvent correspondre à de la ferritine cristallisée. Le fer étant absent, la protéine est peu contrastée, mais l'alignement est incontestable sur les micrographies agrandies.

Pour obtenir de la ferritine partiellement chargée en fer, nous avons eu recours à l'ultra-centrifugation; l'examen au microscope électronique de ces différentes fractions après cristallisation a révélé un aspect qui n'est pas très différent de celui trouvé dans les cellules réticulaires et hépatiques. Dans les cristaux on voit des molécules de haute densité (ferritine) séparées les unes des autres dans leur alignement, par des espaces plus clairs correspondant probablement à l'apoferritine. (Comparer les Figs. 2 B et 3.)

Il semble donc qu'on puisse trouver et caractériser avec un assez bon degré de probabilité l'apoferritine dans certaines cellules de l'organisme.

experimental animals. A study with the aid of electron microscope, *J. Exp. Med.*, 1959, **109**, 197.)

REFERENCES

1. Bessis, M., et Breton-Gorius, J., *J. Biophysic. and Biochem. Cytol.*, 1959, **6**, 231.
2. Astaldi, G., Rondanelli, E. G., Bernardelli, E., et Stroselli, E., *Acta Haemat.*, 1954, **12**, 145.
3. Bessis, M., Alagille, D., et Breton-Gorius, J., *Rev. hémat.*, 1958, **13**, 538.
4. Bessis, M., et Breton-Gorius, J., *Compt. rend. Acad. sc.*, 1957, **245**, 1271.
5. Bessis, M., et Breton-Gorius, J., *Sem. Hôp. Paris, Path. et Biol.*, 1957, **33**, 1273.
6. Bessis, M., Breton-Gorius, J., Dreyfus, J. C., et Schapira, G., *Rev. franç. Étud. biol. et clin.*, 1958, **3**, 981.
7. Farrant, J. L., et Hodge, A. J., in *Proceedings International Conference of Electron Microscopy*, London, 1954, Edited by Royal Microscopical Society, London, 7956, 118.
8. Goessner, W., *Virchows Arch.*, 1946, **323**, 685.
9. Granick, S., *Chem. rev.*, 1946, **38**, 379.
10. Granick, S., et Michaelis, L., *J. Biol. Chem.*, 1943, **147**, 91.
11. Policard, A., et Bessis, M., *Compt. rend. Soc. biol.*, 1953, **147**, 982.
12. Policard, A., Bessis, M., et Breton-Gorius, J., *Exp. Cell Research*, 1957, **13**, 184.
13. Richter, G. W., *J. Biophysic. and Biochem. Cytol.*, 1958, **4**, 55.
14. Stoeckenius, W., *Klin. Woch.*, 1957, **35**, 760.

EXPLICATION DES PLANCHES

PLANCHE 129

FIG. 1. *Digestion d'un stroma érythrocytaire dans le cytoplasme d'un macrophage.* On reconnaît les limites du stroma. *A gauche:* des lamelles régulièrement disposées qui rappellent une figure myélinique. *A droite:* les molécules de ferritine (présentes dans tout le cytoplasme) sont concentrées sur les bords du stroma. (Grossissement: (X 86.000.)

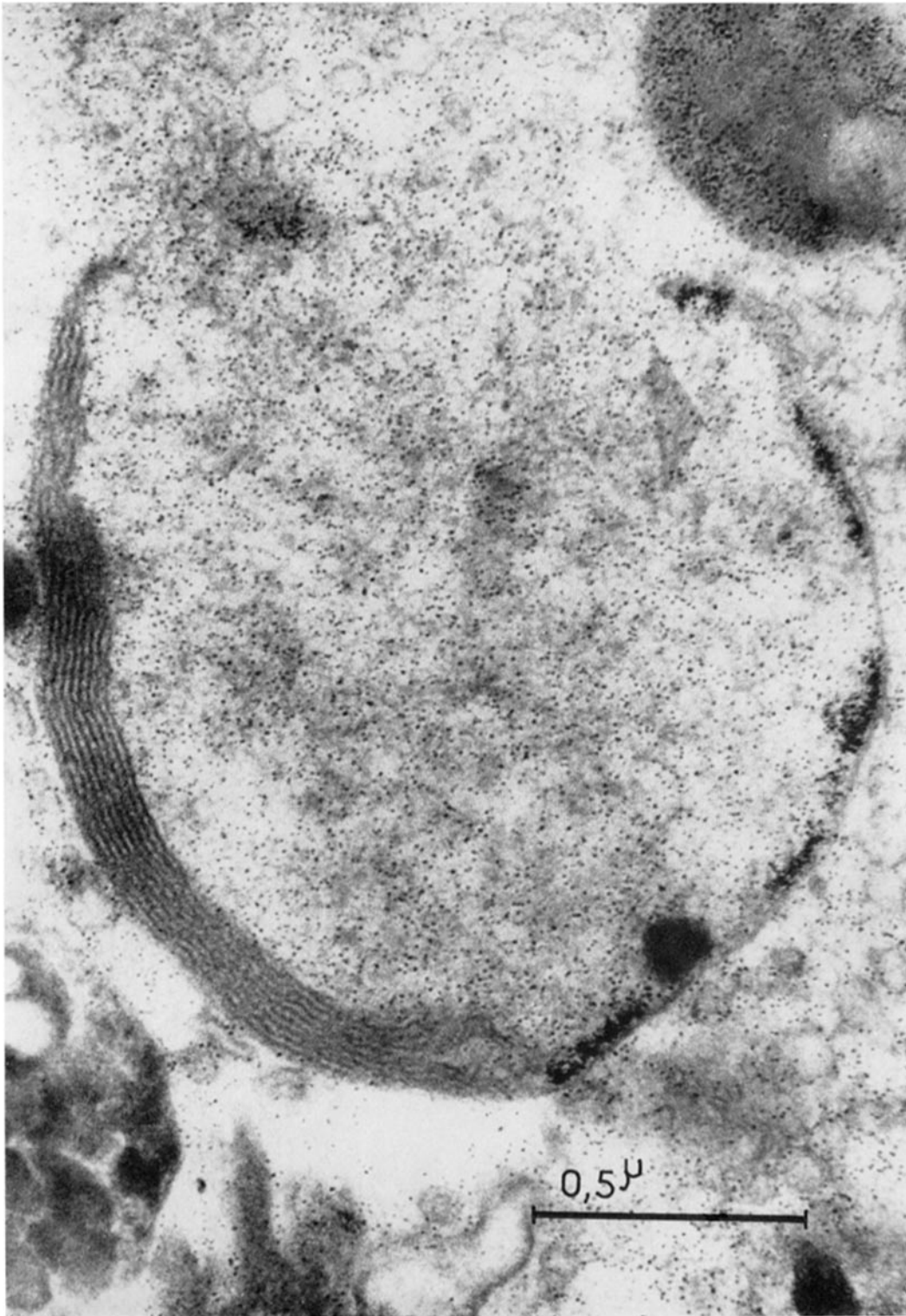


FIG. 1
(Bessis and Breton-Gorius: Fer dans l'organisme. II)

PLANCHE 130

FIG. 2. *Coupes de cristaux de ferritine et d'apoferritine* préparés par voie chimique. *A. En haut*: Apoferritine. On distingue nettement sur le cliché original les orientations moléculaires. (Grossissement: $\times 260.000$.) *B. Au centre*: apoferritine contenant environ 50 pour cent de sa saturation en fer (comparer avec la Fig. 3). (Grossissement: $\times 144.000$.) *C. En bas*: Ferritine saturée en fer. (Grossissement: $\times 130.000$.)

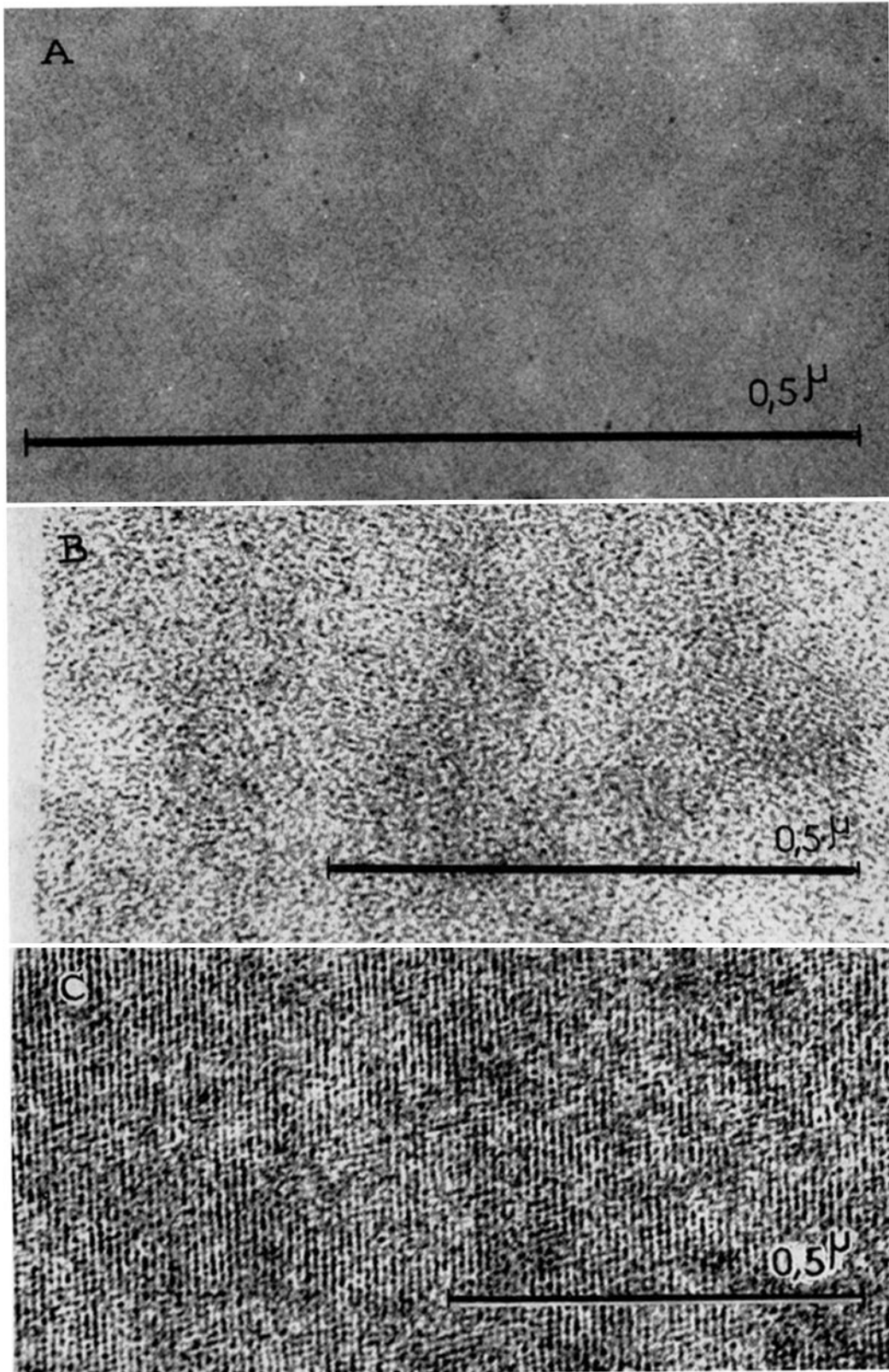


FIG. 2
(Bessis and Breton-Gorius: Fer dans l'organisme. II)

PLANCHE 131

FIG. 3. *En haut: Amas cristalloïde formé probablement de ferritine et d'apoferritine* (cellule réticulaire, moelle osseuse, hémochromatose posttransfusionnelle). Comparer cet aspect à celui de la Fig. 2 B. (Grossissement: $\times 80.000$.) *En bas: Cristal de ferritine mêlé à de l'apoferritine* (Cellule réticulaire, moelle osseuse, maladie de Blackfan-Diamond, ayant reçu de multiples transfusions). On voit des séries de files alignées parallèlement, formées d'un mélange de ferritine (grains noirs) et d'apoferritine (espaces gris). La coupe intéresse plusieurs plans du cristal, ce qui donne des orientations dans divers sens. (Grossissement: $\times 110.000$.)

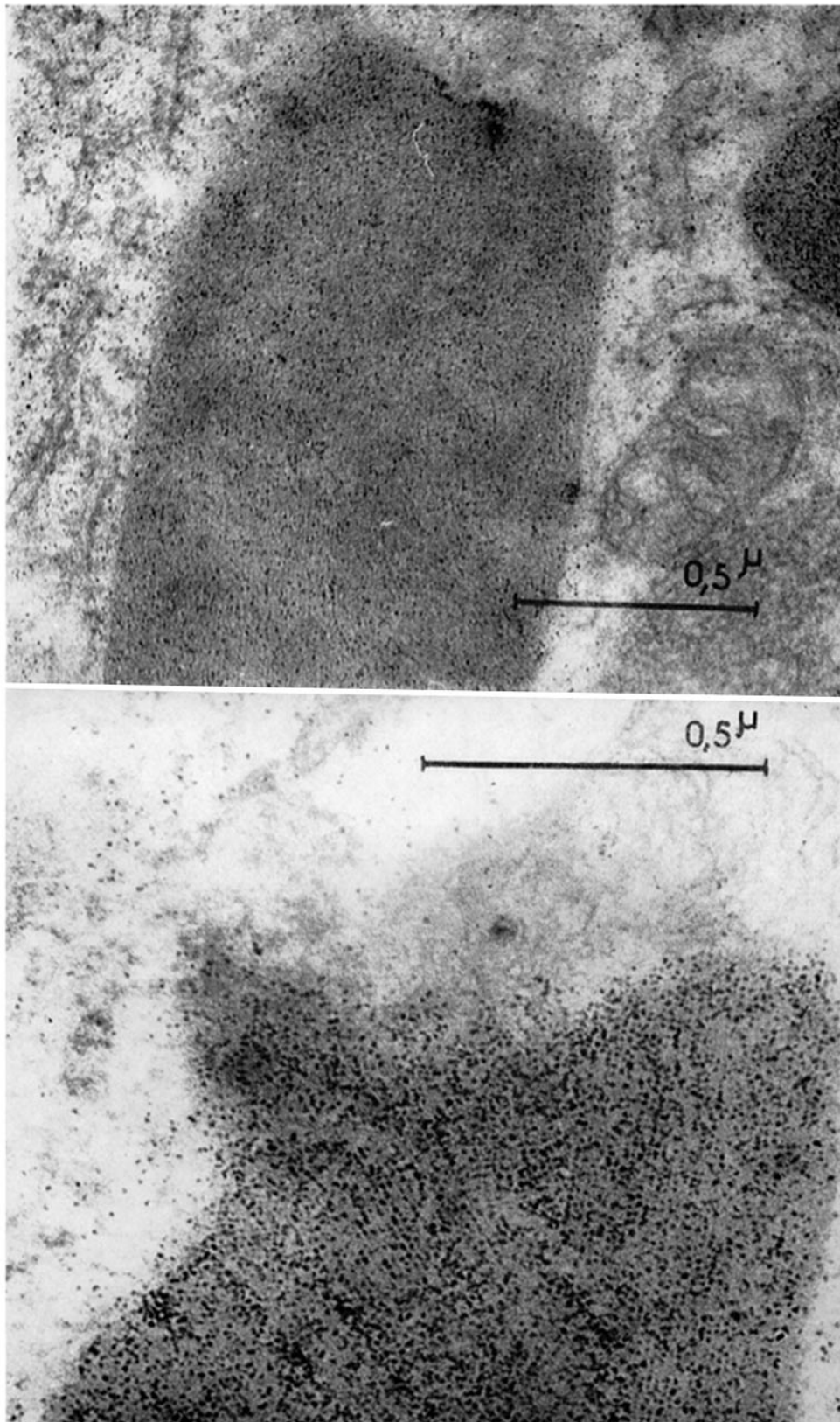


FIG. 3
(Bessis and Breton-Gorius: Fer dans l'organisme. II)

PLANCHE 132

FIG. 4. *En haut: Coupe d'un macrophage de séreuse péritonéale de rat, après injection de lactate de fer (3 ème jour)* La masse de ferritine contenue dans le cytoplasme est limitée par une membrane. *A gauche: toute une région n'est pas transformée en ferritine et présente un aspect fibrillaire. Remarquer certaines zones grises dans la masse de ferritine sans aucun granule de ferritine; peut-être de l'apoferritine?* (Grossissement: $\times 105.000$.)

En bas: Coupe d'un ganglion de rat après injection de saccharate de fer (3 ème jour). Masses constituées par des aiguilles parfois fusiformes très contrastées, qui représentent un stade intermédiaire dans la transformation du saccharate en ferritine. (Grossissement: $\times 105.000$.)

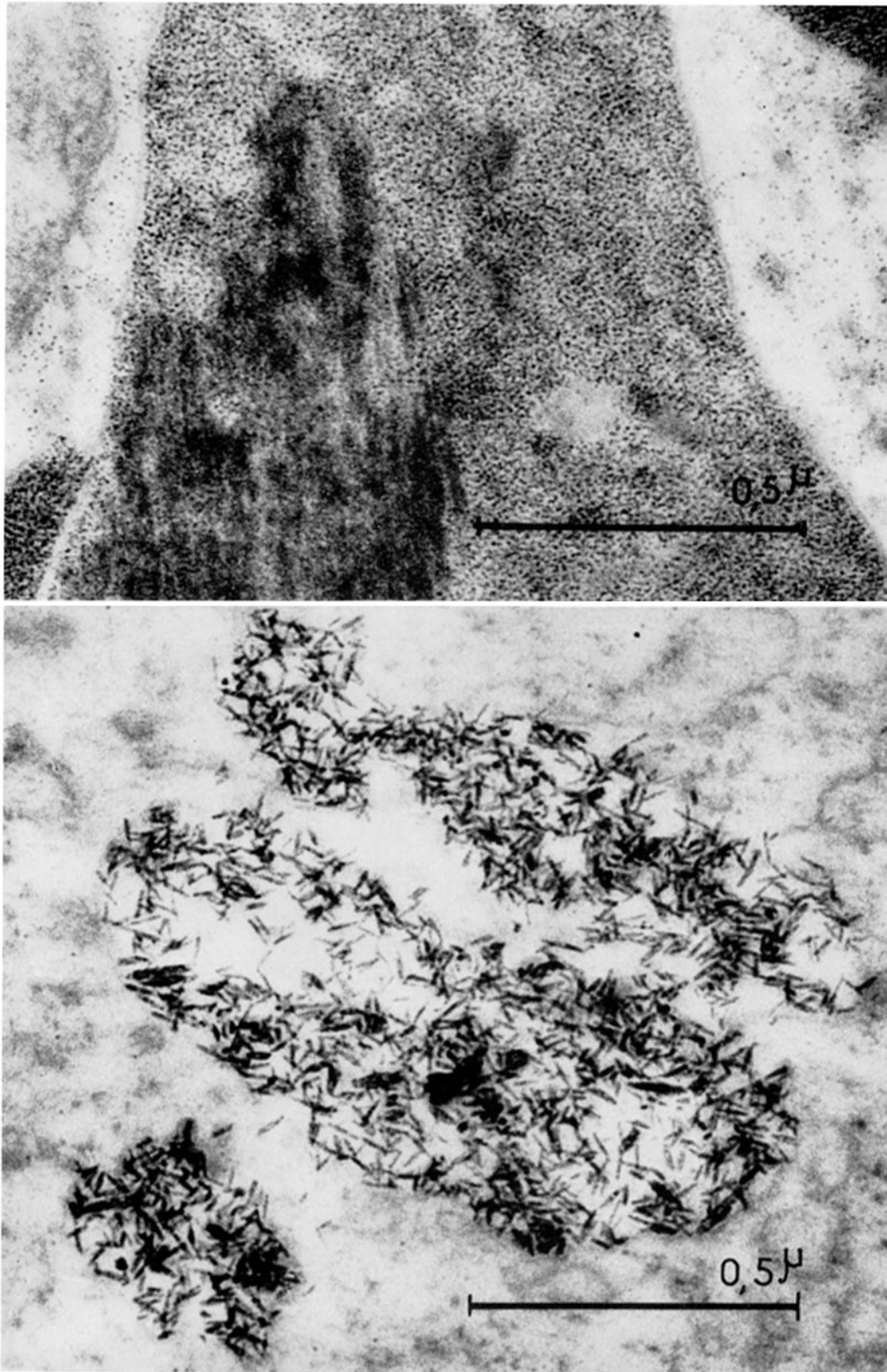


FIG. 4
(Bessis and Breton-Gorius: Fer dans l'organisme. II)

PLANCHE 133

FIG. 5. *Macrophage de rat intoxiqué par le tétrachlorure de carbone (rate)*. De nombreux amas de ferritine sont visibles. Ils sont, en général, limités par une membrane, mais il ne s'agit pas de mitochondries. Dans deux d'entre eux, on peut voir une grande zone grise exempte de grains. (Apoferritine ?) (Grossissement: $\times 140.000$.)

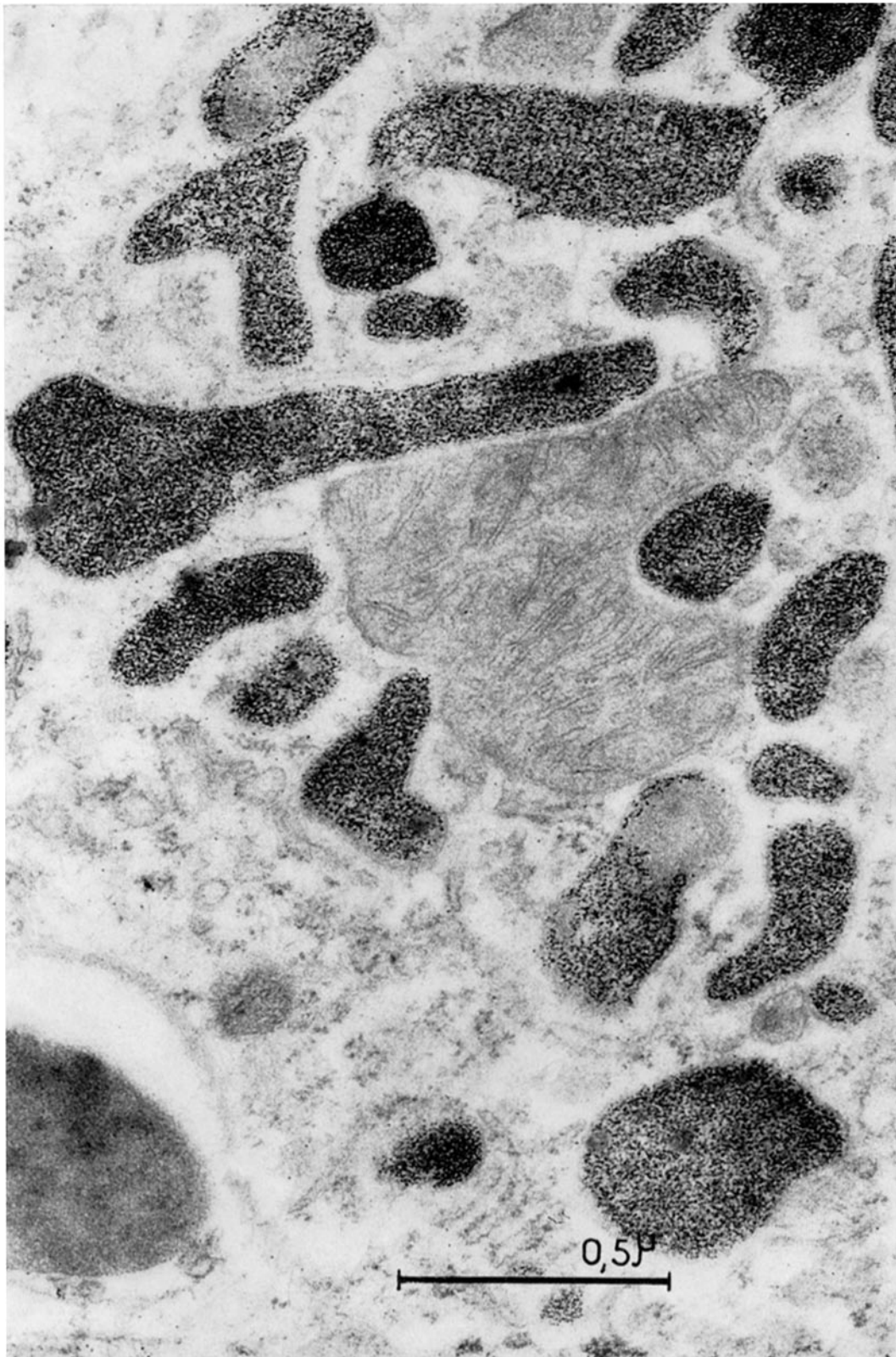


FIG. 5
(Bessis and Breton-Gorius: Fer dans l'organisme. II)