

## Modèles expérimentaux pour l'étude des hépatopathies chroniques

Les modifications du S.R.E. hépatique et général au cours de l'évolution  
des hépatopathies cirrhogènes

D. LAKY, LUCIA GOLGOȚIU et M. QUINTESCO

Service d'anatomie pathologique de l'hôpital clinique Fundeni,  
Bucarest/Roumanie

Reçu le 28 Mai 1970

### Experimental Models for Studying Chronic Hepatopathies

Changes in the Hepatic Reticuloendothelial System during Evolution of Cirrhosis

*Summary.* The morphological results of the following different experimental groups of white rats are presented:

- 1) chronic intoxication with  $\text{CCl}_4$ .
- 2) incomplete ligation of the common bile duct.
- 3) incomplete ligation of the common bile duct with concomitant splenectomy.
- 4) incomplete ligation of the hepatic pedicle.
- 5) incomplete ligation of the portal vein, with variations.

The development of cirrhosis revealed morphological and chronological particularities in the different experimental groups. Cirrhosis appeared first in the animals of group 3 and group 5. All rats showed comparable changes in the reticuloendothelial system (RES), with differences only in the intensity and rapidity in which the changes developed. The experiments disclosed that the mesenchymal elements of the liver increased slowly. It was possible to demonstrate the role of the spleen in the development of cirrhosis, as well as how hepatosplenic changes evolved after experimental stenosis of the portal vein. Finally, the results of these experiments indicated how uniform the RES of the spleen, liver, and in general reacted. The morphological changes produced experimentally were comparable in many respects with chronic hepatopathies of man. As well, there were important analogies with experimental immune reactions.

*Résumé.* On expose les résultats morphologiques obtenus par plusieurs modèles expérimentaux effectués sur quelques lots de rats blancs: 1. Intoxication lente par  $\text{CCl}_4$ ; 2. Ligature incomplète du cholédoque; 3. Ligature incomplète du cholédoque et splénectomie concomitante; 4. Ligature incomplète du pédicule hépatique; 5. Ligature incomplète de la veine porte; il y a eu aussi quelques variantes de certains modèles. Le développement du processus cirrhogène présente des particularités morphologiques et chronologiques dans nos divers modèles expérimentaux; la cirrhose la plus précoce était obtenue chez les rats du 3-e et du 5-e lot.

Les rats de chaque lot expérimental ont présenté des modifications semblables de S.R.E. général, mais variant au point de vue de l'intensité de la topographie, ainsi que de la rapidité de leur évolution.

On a visé, au cours de ces expériences, de réaliser l'excitation lente et prédominante de l'élément mésenchymateux hépatique et général. On a pu montrer certains aspects du rôle de la rate dans le processus cirrhogène, ainsi que l'évolution des lésions hépto-spléniques au cours de la sténose expérimentale de la veine porte.

Enfin les résultats de ces expériences mettent une fois de plus en évidence l'unité d'action du S.R.E. hépatique, splénoganglionnaire et général. On insiste aussi sur certains aspects communs entre les modifications morphologiques expérimentales obtenues par les auteurs et certaines hépatopathies chroniques de l'homme, ainsi que sur les analogies importantes avec les réactions immunologiques expérimentales.

Les multiples aspects non élucidés dans le cadre des hépatopathies chroniques justifient la continuation de l'investigation des mécanismes pathogénétiques.

Pour ces raisons, nous avons entrepris quelques séries d'expériences afin d'étudier par des moyens relativement simples, les lésions incipientes et évolutives qui se constituent dans le foie et dans le reste de l'organisme animal, au cours de la formation de la cirrhose. Nous avons suivi surtout les modifications du tissu mésenchymateux local (hépatique) et général, car il constitue l'élément morphologique essentiel de la maladie tant en pathologie humaine qu'en expérimentation.

Des études antérieures (1954—1957) faites sur un matériel de nécropsie nous ont permis de nous rendre compte des lésions complexes que la cirrhose hépatique humaine produit dans l'ensemble de l'organisme (Laky et al., 1956). L'étude effectuée sur un lot restreint d'animaux, dont nous disposions à ce moment-là, nous a permis d'effectuer quelques constatations provisoires que les résultats actuels pourraient corroborer (Quintesco et al., 1957; Ursu et al., 1961).

Nous avons à analyser les modifications produites sur des rats blancs, tout d'abord par deux grands types de modèles expérimentaux, 1. modèle toxique par  $\text{CCl}_4$  et 2. stase biliaire, réalisée par la ligature incomplète du cholédoque. On a ajouté un modèle vasculaire : la sténose incomplète de la veine porte pour réaliser une hypertension portale, la ligature du pédicule hépatique et la splénectomie complémentaire qui constitue un modèle expérimental associé à la ligature incomplète du cholédoque et à la ligature incomplète du pédicule hépatique.

### Matériel et technique

On a utilisé des rats blancs adultes, poids 150—200 g. Les animaux de chaque lot ont été sacrifiés d'une façon itérative. En ce qui concerne les animaux qui sont morts d'une façon spontanée, on a tenu compte seulement de ceux qui ont pu être nécropsiés immédiatement après l'exitus. Après l'examen macroscopique effectué au cours de la nécropsie, on a prélevé des fragments des principaux organes. Les fixateurs utilisés ont été la solution de formol à 10 pour 100 et le liquide de Carnoy. Les coupes à la paraffine ont été colorées par quelques techniques usuelles. (H.E., V.G., imprégnation argentique suivant Gömöry, Carmin-Best, vert de méthyle-pyronine, PAS avec diastase salivaire.) Les coupes à la congélation ont été utilisées pour la coloration des graisses (Soudan III) et pour les enzymes (ATP-ase, phosphatases acides et alcalines). Dans le tableau ci-joint on a exprimé en résumé les résultats essentiels obtenus par divers modèles expérimentaux.

### Discussions

Devant les résultats obtenus, plusieurs questions peuvent être posées :

I. Quels sont les mécanismes qui agissent dans chaque procédé expérimental (sur le foie et sur le reste de l'organisme) ?

II. Quelles sont les différences d'action entre les différents modèles expérimentaux ?

III. Peut-on tirer des conclusions en ce qui concerne la pathologie humaine ?

#### *I. Caractéristiques de chaque modèle expérimental*

1. Le vieux procédé visant la création d'une cirrhose hépatique à l'aide du  $\text{CCl}_4$  a été utilisé de telle manière (inhalation de 0,1 cc sol. de  $\text{CCl}_4$  pur, pour chaque animal, progressivement de 1—15' bihebdomadairement) qu'on a pu stimuler en

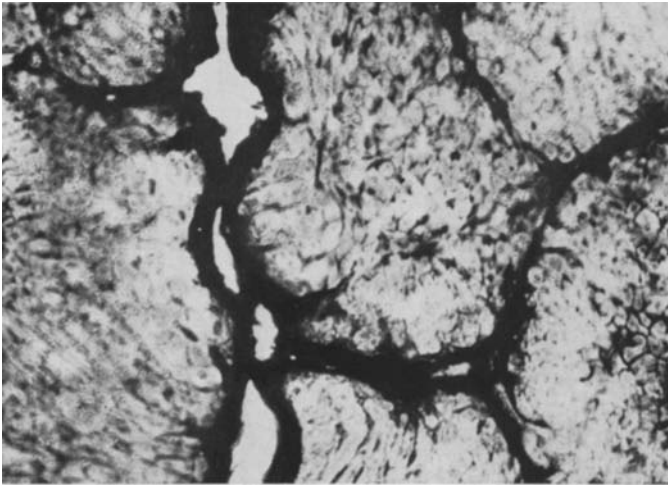


Fig. 1. Foie — ob. 10, r. ATP,  $\text{CCl}_4$  (125 jours): Intense réaction ATP-asiqne dans les septums conjonctifs et dans les éléments mésenchymateux, ainsi qu'au niveau des membranes hépatocytaires indiquant l'évolutivité du processus cirrhotique\*

\* Les photos présentées représentent seulement une partie des images particulières rencontrées.

premier lieu et avec prédominance le mésenchyme. En effet, les lésions initiales circulatoires et exudatives, au tout début, et prolifératives-granulomateuses ensuite s'acheminant vers la cirrhose, ont dominé le tableau évolutif, du moins jusqu'au 51<sup>e</sup> jour. Aussi les dystrophies hépato-cellulaires sont devenues manifestes seulement au moment où la cirrhose commençait à se constituer. Les lésions dégénératives étaient donc tardives et peut-être secondaires au processus mésenchymateux. Le mécanisme qui entre en jeu dans la production fibrillaire en quelque sorte «systémique», semble être l'évolution des éléments kupffériens et histiocytaires vers la fibrillogénèse, car on peut suivre une filiation chronologique entre l'hyperplasie des cellules de Kupffer, fibrillogénèse argentaffine et ensuite collagène (Schaffner et al., 1963; Stenger, 1966). L'intensification de la colorabilité PAS sur ces structures, l'accentuation des réactions enzymatiques montrent l'activité intense et d'une façon prédominante du tissu conjonctif (fig. 1). Il ne s'agirait donc pas, dans ce lot expérimental, de cirrhose secondaire à une lésion épithéliale, suivant la théorie classique, ni d'une condensation des fibres argentaffines existantes (Popper et al., 1961; Velican, 1962), processus décrit surtout dans les cirrhoses à début centrolobulaire, car nous avons réalisé par ce modèle expérimental des cirrhoses septales dont le point de départ est l'espace porte.

Le tableau hépatique restant après la suspension pendant 150 jours du  $\text{CCl}_4$  (variante expérimentale 1a) a montré que ces lésions sont réversibles, du moins jusqu'à un certain stade évolutif. Par contre la ligature incomplète du cholédoque (150 jours) effectuée chez les animaux avec  $\text{CCl}_4$  (variante 1b) conduit à l'intensification des modifications pathologiques surtout des réactions mésenchymateuses portales précirrhotiques avec hyperplasie accentuée des canalicules biliaires.

Tableau

Modèles et variantes expérimentales	Durée (jours)	Nombre des animaux	Foie							
			Architecture lobulaire			Hépatocyte		Réaction mésenchymale		
			Con- servée	Pré- cirrhose	Cirrhose	Alté- ration	Régéné- ration	Portale (pyronino- philie)	Intra- lobulaire	
1. CCl <sub>4</sub> -inhalations 0,1 cc, 1—15 min (bihebdomadaires)	30—45	5	++ hypér- émie	+	—	+ ±	+	++	++	
	46—54	5	±	++	+	++	++	++	++	
	55—125	5	—	+	++ ± stade évolutif	++ ±	++	++ fibrose	++ ±	
	126—205	5	—	—	+++ stade avancé	++	+++	++ sclérose	+ fibrose	
1a) CCl <sub>4</sub> —45 jours suspendu 150 jours	45 + 150	3	++	±	—	±	+++	++	++	
1b) CCl <sub>4</sub> —45 jours suspendu ligature incom- plète du cholédoque	45 + 150	3	+	++	—	+ ±	+	++ ±	+++	
2. Ligature incom- plète du cholédoque a) sans dilatation	13—165	13	++	+ inconst.	—	+	+	++	+ ±	
	30—210	2	—	++	—	++	+	+++ ductular reaction	++	
3. Ligature incom- plète du cholédoque associé à la splén- ectomie	5—9	6	+	+	—	+++ nécroses	±	++ ±	++ ± neocanal. biliaires	
	13—22	4	—	++	+	++ nécroses	++	++ ±	++ ±	
	43—57	4	—	++	++	++ dystro- phie	++ ±	+++ fibrose	+++	
4. Ligature incom- plète du pédicule hépatique	6	1	+++	—	—	+	—	++	+	
	19—20	2	+++	—	—	+ ±	++	++	++ ±	
	60	2	+++	—	—	+	+	+	++	
4a) Ligature incom- plète du pédicule hépatique et splén- ectomie	60	2	+++	—	—	++	+ ±	++	++	
5. Ligature incom- plète de la veine porte	2—4	2	+++	—	—	++	+	±	++	
	51—58	2	+	+++	—	+++	+	+++	+++	

Observations: Appréciations quantitatives: — absent, ± discret, + léger, ++ léger → modéré,

Tableau (continue)

Rate		Lymphoganglions			Moelle osseuse	Poumon		Cœur		Rein
Pulpe blanche	Pulpe rouge	Corticale	Médulaire		Hyperpl. rétic.-plasm. pyronin.	Formation lymphoïde	Septa	Réaction Mésoenchymale		Réaction mésoenchymale
Élargissements folliculaires pyronin.	Hyperpl. rétic.-plasm. pyronin.	Élargis. follic. pyronin.	Sinusite catarrhe	Hyperpl. rétic.-plasm. pyronin.		Élargis.-follic. pyronin	Épaississement	Cel-lules	Fibres	
++	+++	+	++	++	±	++	±	+	±	±
++ image en cocarde	+++	++	++	+++	++	+++ centres claires	+++	+	+	+
+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++	++
+++	+++	++	+++	+++	+++	+++ fibrose	+++ pneumonie	++ diffuse	+++	++
++ image en cocarde	+++	++ centres claires	++	+++	±	++	—	—	+	—
++	+++	+	+++	+++	++	++	+	—	++	+
++	+++	±	++	++	++ variable	±	+	—	+	±
++	+++	++	+++	+++	++	++	++	+	±	+
—	—	±	++	++	±	±	±	±	+	+
—	—	+	++	+++	++	±	++	±	±	±
—	—	++ centres claires	+	+++	+++	++	++	++	++	++
—	+++	±	++	++	+	±	±	+	—	+
+	++	++	+++	+++	±	+	+	+	±	++
++	++	++	++	++	++	++	+++	+	+	+
—	—	± centres claires	±	++	+++	++	++	+	±	±
—	± hyperémie	+	+	±	+	+	+	±	—	—
++	+++	++	+	+++	++	++	+++ pneumonie	++	+	+

++ modéré, ± accentué, +++ très accentué.

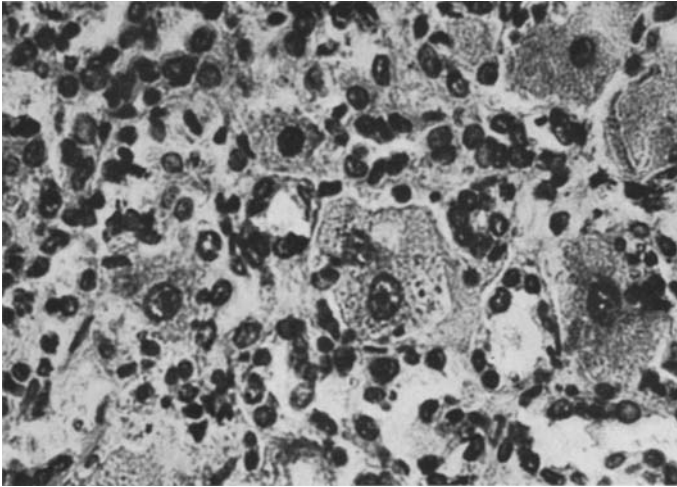


Fig. 2. Foie — ob. 40, col. H.E.: Ligature incomplète du cholédoque avec dilatation des voies biliaires (90 jours): Intense hyperplasie des canalicules biliaires et éléments mésenchymateux

On a préconisé jusqu'à présent que le  $\text{CCl}_4$  agit surtout sur l'hépatocyte. Il est certain qu'il agit très tôt sur les organites cellulaires, ainsi que sur l'équipement enzymatique de la cellule hépatique, peut-être aussi sur la perméabilité de la membrane cellulaire (Chera, 1968). Mais l'importance des modifications mésenchymateuses obtenues dans les stades incipients (Quintesco et al., 1957; Rubin et al., 1962; Stenger, 1966), par rapport à la discrétion des lésions dégénératives épithéliales, nous permet de conclure que notre procédé expérimental agit, du moins au début, d'une façon prédominante sur l'élément mésenchymateux.

Enfin la plupart des auteurs qui ont reproduit jusqu'à présent la cirrhose par le  $\text{CCl}_4$ , ont donné des doses plus élevées en inhalation ou par voie parentérale, que celles que nous avons administrées. Aussi ils ont obtenu en premier lieu la dystrophie et la nécrose des hépatocytes et secondairement la sclérose (Daniel et al., 1952).

On peut donc considérer comme caractéristique de ce modèle expérimental l'action prédominante sur le mésenchyme hépatique et général. L'évolutivité progressivement chronologique des lésions permettent d'établir des stades évolutifs distincts comme nous l'avons déjà exposé (stade initial, intermédiaire, pré-cirrhotique et cirrhotique). Cette évolution chronologique des lésions a été valable autant pour le foie que pour le mésenchyme du reste de l'organisme.

2. *La ligature incomplète du cholédoque* (effectuée au fil de lin en serrant très prudemment pour ne pas étrangler complètement le conduit) produit une *stase biliaire* chronique pouvant aboutir à la cirrhose biliaire expérimentale. Comme nous l'avons déjà montré, l'évolution n'est pas la même pour tous les animaux ayant subi cette ligature incomplète, car l'action sténosante de la ligature diffère d'un animal à l'autre. Ainsi ces cas ne peuvent pas être analysés au point de vue chronologique (par rapport à la date de la ligature) car on ne peut pratiquement contrôler d'une façon précise le serrement du nœud et son effet sténosant. L'intensité des lésions hépatiques est donc en rapport surtout avec le degré de la

sténose cholédocienne et elle évolue parallèlement à la distensions des voies biliaires (fig. 2). Pour certains auteurs l'inflammation secondaire à l'infection de la bile, jouerait un rôle important (Bonfils et al., 1966; Besançon et al., 1967). Au point de vue biologique l'absence d'ictère ainsi que l'inexistence de signes de stase biliaire intra-hépatique, malgré l'hyperplasie, la dilatation et la néoformation des canalicules biliaires, montre la possibilité que cet animal a, de métaboliser rapidement le pigment biliaire en excès. L'hyperplasie d'éléments réticulo-plasmocytaires, fréquemment pyroninophiles, qui entourent dans les stades incipients les canalicules biliaires en hyperplasie et leur constituent de véritables manchons, est peut-être en relation avec le rôle antigénique de la bile ou de certains de ses constituants (Carruthers et al., 1962; Laky, 1969). Aussi le développement des fibres réticuliniques ou collagènes autour des canalicules biliaires quelquefois sous forme de bandes circulaires denses, relève peut-être de l'action irritante, à propriétés phlogistiques de la bile, qui serait due à un agent chimotactique et pouvant s'étendre au tissu conjonctif autours des canalicules (Steiner et al., 1964). Le matériel fibrogénétique serait une substance sécrétée à partir des canaux biliaires vers les tissus environnants. L'action détersive de la bile, ainsi que sa propriété de former des fibres à partir de protéines naturelles, a été d'ailleurs signalée depuis un certain temps. Toutes ces considérations nous permettent donc de conclure qu'il est probable que la bile elle-même joue un rôle important, malgré que nos coupes histologiques n'ont pu surprendre de thrombi biliaires. Enfin l'hyperplasie active de l'épithélium biliaire pourrait être un stimulus pour la prolifération des cellules et des fibres conjonctives environnantes («ductular reaction») (Carruthers et al., 1962; Steiner et al., 1964).

3. Avec la *ligature incomplète du cholédoque associée à la splénectomie* concomitante, on a obtenu tout d'abord une dilatation plus accentuée et plus précoce des voies biliaires que dans la ligature simple du cholédoque. Deux animaux ont eu une dilatation accentuée, l'un à 19 jours, l'autre au 57<sup>e</sup> jour, ce dernier ayant une cirrhose déjà constituée. En second lieu, on a obtenu chez certains animaux de ce lot l'ictère clinique et une stase biliaire intracellulaire. Il y a eu enfin l'importance et la fréquence des nécroses, ainsi que celle des complications septiques. Le processus cirrhogène, enfin, fut ici plus complet et d'installation plus précoce : au 57<sup>e</sup> jour, tandis que par la ligature simple du cholédoque, la première cirrhose constituée fut seulement à 90 jours. Parallèlement, il y a eu une accentuation nette et précoce de l'hyperplasie des canalicules biliaires, dépassant en intensité et en précocité celle obtenue par la ligature simple du cholédoque. Dans le mécanisme des nécroses, la splénectomie intervient d'une façon évidente, car elles apparaissent avec la même intensité dans le foie d'un lot témoin avec splénectomie simple (communication personnelle encore non publiée) tandis que les lésions dystrophiques sont insignifiantes au cours de la ligature simple incomplète du cholédoque. Aussi l'inflammation biliaire ne semble pas avoir ici une action importante, car son rôle, du moins au point de vue histologique, ne peut pas être démontré. Seule la topographie de préférence péri-portale pourrait y représenter un certain indice. En ce qui concerne la pathogénie de l'ictère qui est précoce (5—7<sup>e</sup> jour) et probablement transitoire, on a vu que la simple ligature du cholédoque chez le rat n'est pas suffisamment efficace pour le déterminer. Il est probable que les dystrophies cellulaires étendues et les nécroses, constituent l'élé-

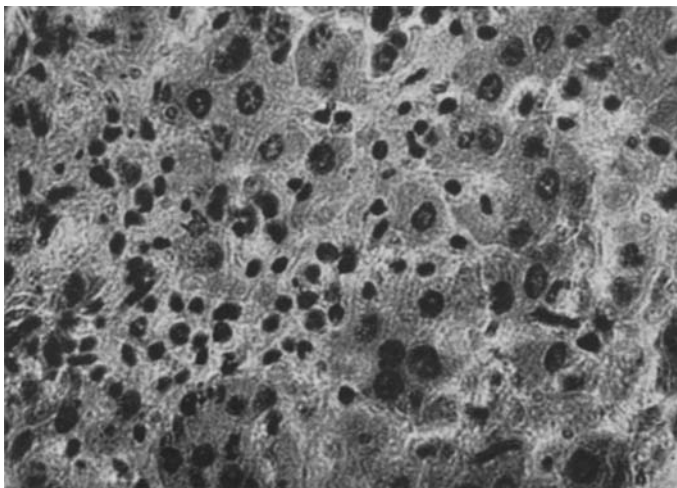


Fig. 3. Foie — ob. 40, col. H.E. : Ligature incomplète du cholédoque et splénectomie (21 jours) : Importante réaction mésenchymateuse, images de «peace meal necrosis» auprès de régénérations hépatocytaires

ment causal essentiel, car elles existent toujours chez l'animal ictérique. Aussi, plus tard, quand l'élément dystrophique diminue en intensité et les nécroses sont limitées, on ne retrouve plus l'ictère. Il est probable que le tissu granuleux qui se développe au niveau de la ligature, se développe ici davantage qu'au cours de la ligature simple et aboutit à une sténose plus rapide du cholédoque, accentuant ainsi la cholestase qui n'est plus ici histologiquement masquée (rétention biliaire intra-hépatocytaire) (fig. 3).

L'absence de la rate pourrait cependant agir également par d'autres mécanismes sur lesquels nous reviendrons. Il faut noter enfin que dans ce lot, comme dans celui à la ligature simple, la cirrhose se constitue parallèlement à l'hyperplasie des cellules de Kupffer, donc c'est une cirrhose jeune, tandis que dans le lot au  $\text{CCl}_4$ , l'hyperplasie des éléments Kupffer diminue au stade de cirrhose constituée.

4. La *ligature incomplète du pédicule hépatique* (l'anse du nœud embrasse les trois éléments du pédicule : artère hépatique, veine porte et cholédoque) a déterminé des modifications hépatiques légères, transitoires et sans dilatations du cholédoque. Cette discrétion des lésions est due probablement au fait que le lien posé n'encercle pas un des éléments du pédicule qui aurait dû être disséqué pour être ligaturé seul (cholédoque ou porte). Aussi le tissu granuleux se développe peu, car le pédicule reste protégé par le feuillet péritonéal.

La splénectomie associée à la ligature incomplète du pédicule hépatique accentue la cellularité portale ainsi que la pyroninophilie, l'hyperplasie des éléments de Kupffer, voire des nodules lymphoïdes intra-lobulaires, mais les dystrophies sont discrètes et les nécroses bien moins accusées que dans la ligature du cholédoque et splénectomie. Aussi les complications septiques manquent. Comme ici la stase biliaire n'est pas visible et qu'il n'y a pas d'ictère, l'élément infectieux biliaire ne joue pas un rôle évident. Aussi la production fibrillaire et la fibrose sont ici



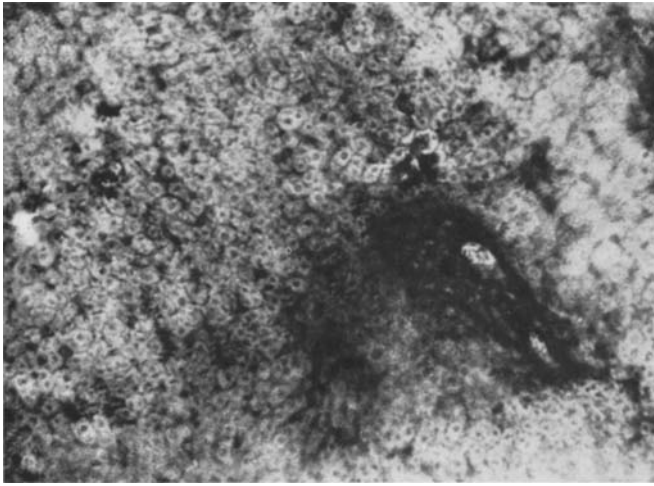


Fig. 4. Foie — ob. 10, r. ATP. Ligature incomplète de la veine porte (51<sup>e</sup> jour): Intense réaction ATP-asiq dans les espaces portes, ainsi qu'au niveau des membranes hépatocytaires et des cellules mésenchymateuses

discrètes. Mais on n'a pas eu dans le lot 4 une gamme suffisante d'animaux pour pouvoir reproduire des stades aussi réguliers chronologiquement que dans le lot 3.

5. La *ligature incomplète de la veine porte* détermine l'exitus immédiat au cas où elle est suffisamment serrée pour créer une distension brusque des vaisseaux splanchniques-intestinaux ainsi qu'un engorgement brusque de la rate. Les mêmes lésions abdominales ont été trouvées chez l'animal mort au cours du choc anaphylactique. Mais l'exitus de la plupart de nos animaux de ce lot, est survenu entre le 2<sup>e</sup> et le 4<sup>e</sup> jour et avec le même tableau de distension veineuse intra-abdominale. Au point de vue histologique le foie présentait une hyperémie très accentuée tant portale qu'intra- et centrolobulaire. Il pourrait s'agir dans ces cas d'un spasme des veines suprahépatiques, phénomène qu'on trouve aussi dans le choc anaphylactique ou histaminique et il expliquerait en quelque sorte l'importance de la stase circulatoire hépatique. On produit ainsi une hypertension portale par obstacle subhépatique. La production de la cirrhose pouvant être due premièrement à la modification importante de l'équilibre circulatoire intrahépatique, à la distension des sinusoides, des veines portes et veines centro-lobulaires. En second lieu, par la diminution du flux portal, l'approvisionnement nutritif du foie est partiellement compromis. Aussi les dystrophies sont plus précoces et plus intenses et situées à la périphérie du lobule. Enfin les shunts porte-caves qui sont nécessairement créés, contribuent à l'intoxication générale de l'organisme et créent des conditions qui favorisent l'évolution du processus cirrhogène (fig. 4).

En ce qui concerne la variante de la ligature séparée incomplète de la veine porte et du cholédoque, il nous reste seulement de constater l'énorme hyperplasie des canalicules biliaires avec hyperplasie parallèle des éléments kupffériens et histiocytaires. Il est probable que deux facteurs puissants : la sténose du cholédoque et l'insuffisance circulatoire portale contribuent à réaliser cet aspect peu commun.

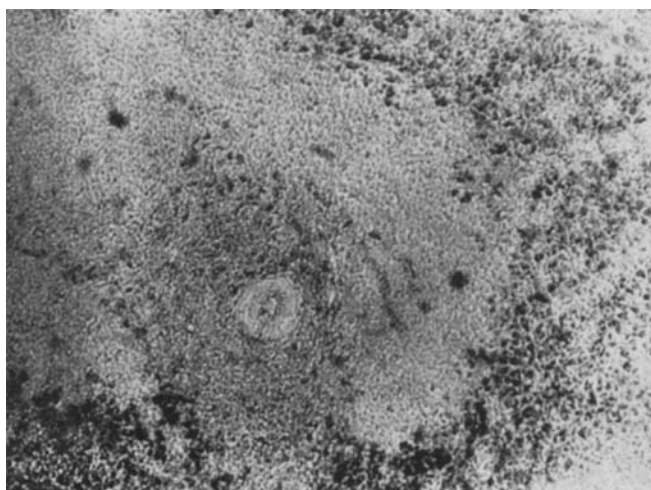


Fig. 5. Rate — ob. 10, r. phosphatase acide. Ligature incomplète du cholédoque (30<sup>e</sup> jour). Activité phosphatasique dans une follicule avec image «en cocarde». Activité phosphatasique centro-folliculaire légère, absente dans la plupart des éléments cellulaires de la zone moyenne et intense à la périphérie du follicule ainsi que dans la pulpe rouge

## II

On ne peut pas apprécier les modifications du S.R.E. des autres organes en faisant abstraction de celui du foie, qui est l'organe essentiellement visé par nos procédés expérimentaux.

L'hyperplasie d'éléments portaux réticulaires, histiocytaires et lymphoïdes du début, puis la richesse progressive en éléments réticulo-plasmocytaires est le caractère plus ou moins commun de tous les modèles expérimentaux, jusqu'à la constitution de la cirrhose. Les nodules lymphoïdes histiocytaires, souvent avec des éléments pyroninophiles intra-lobulaires, montrent, là où ils existent, l'intensité de ce processus.

Dans la rate est à évincer l'apparition de l'image «en cocarde» qui apparaît dès la fin du premier mois ou plus tard, et constitue un aspect assez particulier. Elle est caractérisée par l'élargissement des centres clairs en même temps que la zone circulaire lymphoïde s'amincit et le sinus péri-folliculaire apparaît dilaté. Il s'y ajoute une troisième zone externe, constituée par des éléments réticulaires jeunes, voire d'aspect blastique. Ces éléments sont assez semblables aux éléments réticulaires de la pulpe rouge, dont le follicule est séparé d'une façon moins tranchante (trois zones concentriques réalisant l'image «en cocarde» décrite par Laffarque et Ferrand en 1961. Dans cette formation apparaissent un nombre appréciable d'éléments pyroninophiles, plus nombreux dans le centre folliculaire. Enfin il est intéressant de remarquer que cette pyroninophilie du follicule atteint son maximum au moment où l'image «en cocarde» est constituée et que cette image devient de plus en plus nette au fur et à mesure que la cirrhose hépatique s'installe. Parallèlement l'activité phosphatasique augmente dans la zone externe de la «cocarde» et dans la pulpe rouge (fig. 5) où la pyroninophilie est particulièrement intense et les éléments macrophagiques sont nombreux, constituant des

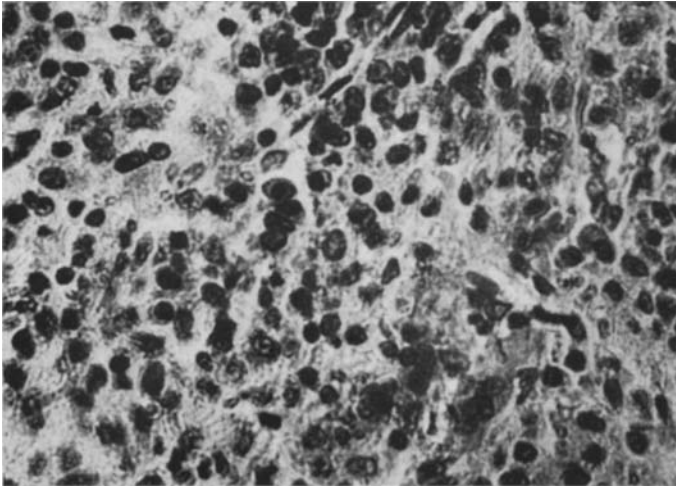


Fig. 6. Rate — ob. 10, col. H.E. Ligature incomplète du cholédoque (30<sup>e</sup> jour): Pulpe rouge avec intense hyperplasie des éléments réticulaires et blastiques ainsi que des éléments réticulo-plasmocytaires et plasmocytaires

ilôts étendus dans les cordons ainsi que des amas péri-sinusoïdaux (fig. 6). Notons enfin qu'au moment où la «cocarde» et la pyroninophilie sont nettement développées dans la rate, l'intensité de la pyroninophilie commence à diminuer dans le foie. Dans les stades tardifs l'image de la rate est très proche de celle de la rate fibro-congestive observée au cours de la cirrhose humaine.

Les *ganglions lymphatiques* reproduisent en général des modifications similaires à celles de la rate : sinusite catarrhale avec effacement plus ou moins accentué des centres folliculaires, puis apparition et élargissement des centres folliculaires. Il faut noter cependant que ce dernier aspect apparaît bien plus tardivement ici que dans la rate : à partir du 125<sup>e</sup> jour chez les animaux du 1-er lot où l'hypérémie et la sinusite catarrhale se maintiennent assez intenses jusqu'au dernier stade. La pyroninophilie suit de très près ces images. Dans les stades avancés on trouve dans la médullaire les mêmes modifications que dans la pulpe rouge de la rate.

La *moelle osseuse* (fémorale) a présenté à des stades plus avancés, un pourcentage élevé d'éléments pyroninophiles (plasmocytaires et cellules réticulaires) atteignant 50% des cellules médullaires. Chez les animaux du lot 1 on a pu suivre une certaine évolution chronologiquement progressive au point de vue quantitatif. Notons enfin que c'est dans le lot 3 (ligature du cholédoque associée avec splénectomie) que des modifications accentuées sont apparues déjà au 9<sup>e</sup> jour.

Au niveau du *poumon* on assiste tout d'abord aux modifications des formations lymphoïdes péri-bronchiques, qui subissent des modifications analogues aux follicules spléniques, ainsi qu'à ceux des ganglions lymphatiques. Tardivement on a obtenu même un développement du réseau réticulaire, voire un encerclement de la formation par des fibres collagènes. Parallèlement on assista à

l'épaississement des septums interalvéolaires, avec des amas plasmocytaires autour des capillaires. Dans les stades avancés on a observé de véritables images de pneumonite.

Le cœur, le *myocarde* surtout, n'a présenté des modifications significatives qu'à des stades tardifs. Ces lésions comprennent avant tout des infiltrats mésenchymateux avec légère pyroninophilie, suivis tôt ou tard d'enrichissement du réseau réticulinique, ainsi qu'un discret réseau collagène. Les lésions le plus rapidement constituées (à partir du 7<sup>e</sup> jour) ont concerné toujours les animaux du 3<sup>e</sup> lot, où l'on trouva même des aspects de myocardite interstitielle diffuse. Chez les rats du 4<sup>e</sup> lot, variante 4-a, l'on nota en plus un épaississement modéré de l'épicarde avec des infiltrats cellulaires, ainsi que des structures fibrillaires PAS+. Au 5<sup>e</sup> lot les infiltrats interstitiels lympho-réticulaires eurent également un siège sous-épicardique et la trame de réticuline fut plus accentuée.

Les reins ont eu des modifications glomérulaires en général congestives, très accentuées et avec caractère nettement exudatif précoce chez les animaux du 3<sup>e</sup> lot. L'épaississement de la membrane basale fut en général discret. Les infiltrats d'éléments réticulo-lympho-plasmocytaires en général peu nombreux, sont péri-glomérulaires, péri-vasculaires ainsi que sous-pyéliques, dans certains cas. Les dystrophies tubulaires furent en général peu accentuées. Seulement au lot 4 où les lésions ont été plus précoces il y a eu des necroses parcellaires, ainsi qu'au lot 5.

Il n'est pas douteux, dans ces circonstances, qu'une réaction immunologique générale doit y jouer un rôle. Au cours de l'administration du CCl<sub>4</sub> on a déjà mis en évidence dans les éléments pyroninophiles de l'espace porte, la présence des macroglobulines S-19 et dans le sang l'existence d'anticorps macroglobuliniques. La réaction de la rate au cours des hépatopathies chroniques et des cirrhoses est considérée par de nombreux auteurs comme étant d'ordre immunologique (Mackay, 1961; Cannon et al., 1967; Ursu et al., 1968). Caractérisée par sa réaction réticulaire et pyroninophile, elle a déjà été décrite au cours de l'administration expérimentale de différents antigènes et au cours des maladies avec mécanisme immunitaire (Sunderman, 1964). Au cours des cirrhoses et des syndrômes de Banti, même dans des cas sans hypertension portale, on a trouvé dans la rate l'hyperplasie réticulaire avec basophilie et pyroninophilie et l'image des follicules «en cocarde» (Laffargue et al., 1961; Ursu et al., 1968).

Tout ceci souligne l'importance du rôle immunologique de la rate, organe essentiel du tissu lymphoïde-réticulaire. Aussi son absence après splénectomie montre d'une façon prégnante, au cours de la ligature du cholédoque, les résultats de la suppression de cette fonction immunologique de défense, que le reste du tissu réticulaire, malgré ses réactions évidentes, ne peut suppléer d'une façon efficace.

Quant à la pyroninophilie, elle indique l'intensité du processus de synthèse et probablement celui de la formation des globulins-anticorps. L'intensité de la pyroninophilie qui évolue plus ou moins progressivement ou se maintient d'une façon appréciable dans les divers organes, ainsi que les autres modifications déjà mentionnées du S.R.E., indiquent l'existence d'un processus autoentretenu, probablement d'ordre immunologique. Les anticorps, s'ils existent, pourraient être utiles et agir contre les différents antigènes qui prennent naissance au cours du processus cirrhogène. Ils marchent probablement de paire avec les phénomènes de restauration dans le cas où l'on a suspendu l'administration du CCl<sub>4</sub> et on a trouvé des modifications

discrètes dans le foie par rapport à la période d'administration du toxique, tandis que dans le reste du S.R.E. les modifications (hyperplasie réticulaire, plasmocytaire, pyroninophilie, réactions enzymatiques étaient aussi intenses que chez les animaux qui continuaient à recevoir du  $\text{CCl}_4$ . Ils peuvent avoir par contre le caractère d'auto-immunité : anticorps chez les animaux du lot 3 où le processus de nécrose était plus avancé et où les lésions fibrillaires avaient un caractère nettement évolutif.

La tendance à la fibrillogénèse interstitielle générale, qu'on voit dans certains lots et dans les stades avancés ( $\text{CCl}_4$ , cholédoque et splénectomie, ligature de veine porte, pédicule et splénectomie) donne un tableau morphologiquement comparable à celui des «collagénoses». Il faut mentionner également l'épaississement des parois vasculaires appréciable surtout à la rate (artériole centro-folliculaire, vaisseaux de la pulpe rouge) où l'on peut également rencontrer la turgescence des cellules bordantes des sinus et aussi l'épaississement des parois des vaisseaux et des capillaires pulmonaires, artérioles et capillaires interstitielles du rein et des vaisseaux myocardiques. On a vu quelquefois dans le lot avec  $\text{CCl}_4$  et ligature du cholédoque associée à la splénectomie, l'aspect de dégénérescence fibrinoïde de la paroi vasculaire, qu'on rencontre également dans le phénomène de sensibilisation et dans les collagenoses.

L'aspect de splénite réticulaire avec l'image «en coarde» semble être un aspect morphologique important pour la réaction immunologique de la rate. La présence d'amas de macrophages enchâssés dans des plages d'éléments pyroninophiles est très suggestive, car les premiers contiennent l'antigène et transmettent probablement aux seconds l'information immunologique et suggèrent la constitution de la matrice des anticorps. On a montré l'existence de relations étroites entre le macrophage et la cellule réticulaire ou l'immunocyte avec lequel il vient en contact (Schoenberg et al., 1964; Repciuc et al., 1968).

### III

Il est bien entendu que les conditions expérimentales ne permettent pas une extrapolation de l'animal à l'homme. On ne peut parler que de certaines analogies. Dans les hépatopathies chroniques, chez l'homme, on retrouve la cellularité, la pyroninophilie et la fibrose portale, les infiltrats et la production fibrillaire intralobulaire, ainsi que la réaction du mésenchyme général surtout dans les hépatites chroniques et dans les cirrhoses (Hutterer et al., 1961; Schaffner et al., 1963). De plus, le mécanisme auto-immunitaire qui constitue un facteur d'auto-entretien de certaines hépatopathies chroniques, a été bien démontré en clinique humaine (Lod et al., 1967).

La ligature incomplète du cholédoque peut comme dans certains cas chez l'homme, aboutir à la cirrhose d'origine biliaire. Il est probable que dans ces cas l'élément inflammatoire des voies biliaires surtout au niveau des cholangioles constitue un élément largement favorisant. Le rôle de la rate, que la splénectomie semble appuyer, soulève peut-être un coin de ce problème obscur, car chez l'animal par l'ablation de la rate, chez l'homme par l'épuisement, la déviation de certaines de ses fonctions, elle ne peut plus effectuer son rôle anti-inflammatoire, anti-infectieux, ainsi que ses fonctions d'équilibre hématologique dans le métabolisme des protéines et peut-être ni celle de régulation des fonctions du S.R.E. général. Ainsi la splénectomie pourrait déterminer l'aggravation des lésions hépatiques.

Les résultats obtenus par la ligature du pédicule hépatique sont impressionnants par le contraste qui existe entre la discrétion des modifications hépatiques et les réactions importantes enregistrées dans les organes réticulaires (dans la rate), ainsi que dans le poumon.

La ligature de la veine porte reproduit d'une façon assez brutale une hypertension portale à obstacle bas. Les lésions obtenues évoqueraient la sclérose portale sous-hépatique qu'on rencontre en pathologie humaine et où les lésions hépatiques prédominent dans les espaces portes. L'importante hypérémie intra-hépatique, qui est l'apanage du procédé expérimental, est due probablement à la brusquerie de la ligature. Les lésions de la rate ne diffèrent pas au point de vue qualitatif de celles obtenues par d'autres procédés, malgré qu'elles sont plus intenses. Donc l'élément essentiel dans les modifications des follicules de la pulpe rouge et des vaisseaux n'est pas l'élément mécanique représenté par l'hypertension portale; ces modifications représentent plutôt la réponse à l'agression qui s'est produite au niveau du foie. On sait néanmoins que l'hypertension portale augmente le pouvoir granulopexique de la rate. Aussi elle pourrait augmenter cette réponse.

Il faut signaler l'analogie entre l'ensemble des lésions du S.R.E. obtenues par nos modèles expérimentaux et les modifications produites dans l'organisme par l'introduction des antigènes microbiens. Ainsi dans la rate l'hypérémie, l'hyperplasie des éléments réticulaires de la pulpe rouge et la pyroninophilie se trouvent également dans les cas de réaction immunologique générale. A cette réaction participent aussi les ganglions et la moelle osseuse tout comme il a été mentionné dans nos résultats, ainsi que le mésenchyme des autres organes: cœur, poumons et reins. Suivant certains auteurs, les éléments pyroninophiles de la rate pénétreraient dans la circulation et repopuleraient la moelle osseuse et les ganglions, si l'activité de ces organes était inhibée par une irradiation générale, avec protection de la rate (Cannon et al., 1967). Ce fait nous indique le grand rôle immunologique de la rate. Aussi, on comprend la baisse de l'activité immunologique chez les animaux privés de cet organe, par la splénectomie (modèle 3, 4-a) malgré l'hyperplasie intense et la pyroninophilie trouvées dans le foie, les ganglions, la moelle osseuse et dans les autres organes, chez les animaux splénectomisés.

Travail effectué dans le service d'anatomie pathologique de l'hôpital clinique Fundeni-Bucarest.

### Bibliographie

- Besançon, F., Rose, C., Souchart, M., Barbier, F., Debray, Ch.: La fonction biliaire au cours d'expériences de cholestase extra-hépatique incomplète. *Rev. int. Hépat.* **16**, 537 (1967).  
Bonfils, S., Gorot, M., Dubrasquet, M., Carnot, F., Polet, F.: Les cirrhoses biliaires du rat blanc. Rôle non spécifique de l'infection et de frénation biliaire. *Sem. Hôp. Paris* **42**, 2985, 1966.  
Cannon, C. I., Wissler, W. R.: Spleen cell migration in the immune response of the rat. *Arch. Path.* **84**, 109—117 (1967).  
Carruthers, S. J., Kalifat, S. R., Steiner, W. J.: The ductular cell reaction of rat liver in extrahepatic cholestasis. II. The proliferation of connective tissue. *Exp. molec. Path.* **1**, 377—396 (1962).  
Chera, Gh.: Considerații critice și contribuții experimentale privind mecanismul acțiunii hepatotoxice a  $\text{CCl}_4$ . *Stud. Cercet. embriol., citol., ser. citol.* **5**, 147—157 (1968).

- Daniel, P., Marjorie, M., Prichard, M. I., Reinel, P. P.: The portal circulation in experimental cirrhosis of the liver. *J. Path. Bact.* **64**, 53—60, 61—64 (1952).
- Huttrer, F., Aubin, E., Singer, J. F., Popper, H.: Quantitative relation of cell proliferation and fibrogenesis in liver. *Cancer Res.* **21**, 206—215 (1961).
- Laffarque, P., Ferrand, B.: Anatomie pathologique de la rate dans syndrômes bantiens observés en Algérie. *Ann. Anat. path.* **6**, 235—242 (1961).
- Laky, D.: Probleme actuale în cadrul colostazelor hepatice. *Morf. norm. pat.* **14**, 193—201 (1969).
- Găleşanu, M. R.: Aspecte morfofiziopatologice în cadrul cirozelor hepatice. *Viața med.* **1**, 86 (1956).
- Lod, C. J., Paolaggi, J. A., Debray, Ch.: Les maladies autoimmunes du foie. Principes généraux, applications pratiques. *Rev. int. Hépat.* **17**, 126—135 (1967).
- Mackay, J. R., Wood, I. I.: Autoimmunity in liver disease. *Progress in liver diseases* 1, p. 39—55, 1961. New York-London: Grune & Stratton 1961.
- Popper, H., Schaffner, F.: Response of the liver to injury. *Progress in liver diseases* 1, p. 86—108. New York-London: Grune & Stratton 1961.
- Quintescu, M., Laky, D., Găleşanu, M. R.: Leziuni incipiente în cadrul cirozelor hepatice experimentale. *Spitalul* **2**, 156—164 (1957).
- Repciuc, E., Nicolescu, P.: Despre raporturile imunocitelor cu macrofagele. *Morf. norm. pat.* **13**, 391—395 (1968).
- Rubin, E., Huttrer, F., Popper, H.: Cell proliferation and fiber formation in chronic  $\text{CCl}_4$  intoxication. A morphologic and chemical study. *Ann. J. Path.* **42**, 715—723 (1962).
- Schaffner, F., Barka, T., Popper, H.: Hepatic mesenchymal cell reaction in liver disease. *Exp. molec. Path.* **2**, 419—441 (1963).
- Schoenberg, M. D., Muman, V. R., Moor, R. D., Weisberger, A. S.: Cytoplasmic interaction between macrophages and lymphatic cells in antibody synthesis. *Science* **143**, 964—970 (1964).
- Steiner, J. W., Carruthers, S. J.: Studies on the fine structure of proliferated bile ductules. II. Changes of the ductule-connective tissue envelope relationship. *Canad. med. Ass. J.* **85**, 1275—1283 (1964).
- Stenger, R. J.: Sinusoids in  $\text{CCl}_4$  induces cirrhosis. *Arch. Path.* **81**, 5, 439—446 (1966).
- Sunderman, A.: Die Bedeutung der Milz als Organ der Antikörperbildung. *Haematologia Hung.* **4**, 281—291 (1964).
- Ursu, A., Quintescu, M.: Morphologic changes in the spleen during some immunologic disorders. VIIth. Intern. Congr. Path. Milano 1968. Abstracts, p. 278—279.
- — Laky, D., Găleşanu, M. R.: Quelques données histo-pathologiques dans l'hépatite épidémique. *Stud. Cercet. Med. I*, 289—296 (1961).
- Velican, D., Velican, C.: Biologie des procès sclérotiques. IX ième Comm. Observations sur des modifications du réticulum intralobaire dans la foie précirrhotique. *Stud. Cercet. Med. intern.* **3**, 379—385 (1962).

Dr. Laky Dezideriu  
Str. Castranova Nr. 8  
Sector 7  
București 16  
R. S. Romania