

La découverte des plaquettes sanguines

J.-F. LESESVE*

RÉSUMÉ

Un historique de la découverte des plaquettes est proposé, en insistant sur la période de leur caractérisation lors de la seconde moitié du XIX^e siècle. Plusieurs physiologistes les suspectent, notamment Gustav Zimmermann en 1847. Alfred Donné a l'intuition de séparer ces éléments des autres cellules du sang, mais ses observations ne sont pas illustrées et mal étayées. Max Schultze est le premier à avoir individualisé les plaquettes et pressenti leur rôle dans la coagulation, mais Giulio Bizzozero est le principal contributeur pour la localisation de l'hématopoïèse dans la moelle osseuse et l'individualisation des plaquettes comme composant cellulaire à part entière du sang. Il invente des méthodes expérimentales permettant l'investigation princeps des fonctions plaquettaires. C'est à lui que l'on doit le nom de plaquettes. Il ne faut pas oublier William Osler qui les différencie dans le sang à la même époque et qui entrevoit aussi leurs fonctions au cours de l'hémostase primaire.

MOTS-CLÉS : plaquettes, Alfred Donné, William Osler, Max Schultze, Giulio Bizzozero.

I. - LES PREMIÈRES OBSERVATIONS

Dès la découverte des premiers microscopes, quelques précurseurs (Antonie Van Leeuwenhoek, William Hewson...) observent des petites poussières, des « corpuscules », mais sans véritablement cerner leur individualité (en termes de lignée) et sans comprendre leur rôle physiologique. Il est nécessaire de garder en mémoire que l'absence de la notion d'anticoagulation empêche d'explorer le sang, que l'absence de techniques de coloration des cellules (jusqu'au XX^e siècle) gêne leur discrimination, d'autant que les microscopes rudimentaires ne possèdent pas un pouvoir grossissant adapté... Tout ceci rend impossibles des expérimentations rigoureuses (1). Les premiers microscopes permettant une observation d'éléments de deux micromètres se répandent seulement à partir de 1830. Auparavant, les observateurs les plus pertinents, même munis des meilleures lentilles, décrivent au mieux des petites poussières

sans véritablement comprendre ce qu'ils observent. Et il faudra attendre Paul Ehrlich et James Wright à la fin du XIX^e pour les colorations.

Progressivement, quelques pathologistes réalisent les premières observations pertinentes. En revanche, leurs hypothèses le sont moins. William Addison indique, en 1841, que le sang « contient un grand nombre de granules extrêmement petits dont la taille varie beaucoup, le plus grand étant au moins 8 à 10 fois plus petit que les corpuscules incolores (les hématies) ». Et il remarque aussi pertinemment « Pendant que j'examinais ces très petits éléments, la coagulation de la fibrine commençait » (Figure 1). Mais il pense que ces éléments sont dus à la désintégration des leucocytes (2).

* Service d'Hématologie Biologique, CHRU Nancy.



Fig. 1 - Amas de plaquettes et de fibrine (dessin d'Addison, 1842).

Nous pourrions débiter cette histoire à la date du 7 mars 1842, le jour où Alfred Donné présente, à une session de l'Académie des sciences, l'existence, dans le sang de différents animaux, de globules rouges, de globules blancs... et de petits globules qu'il nomme « globulines » ou « sphérules » (3). Il affirme que cette découverte est originale, sans antériorité décrite. Plus tard, dans son ouvrage *Cours de microscopie*, il détaille ses propos (4). Il considère que ces « globulines » proviennent de la lymphe. La présence de composants autres que des hématies et des leucocytes a certes été faite avant lui dans les œuvres de Hewson et Gabriel Andral. C'est à peu près à la même époque que Donné que Gustav Zimmermann décrit, en 1847, des « corpuscules » (5) qu'il croit être les précurseurs des globules rouges « *Elementarbläschen* » et constate bien leur propension à s'agglutiner. En effet, Zimmermann est le premier à utiliser des anticoagulants pour l'étude du sang. En collectant du sang de cheval dans une mixture à 6 % de sulfate de magnésium, il a très probablement observé les plaquettes (6). D'ailleurs, ces observations marqueront leur époque puisqu'elles seront discutées peu après par Max Schultze qui confirmera ces « corpuscules », mais leur attribuera comme origine une fragmentation des globules blancs. Et même après les publications rigoureuses de Giulio Bizzozero individualisant les plaquettes (7), Leopold Riess écrira (1872) qu'au cours des états anémiques et cachectiques, les globules blancs se désintègrent en « *Zerfallskörperchen* » analogues aux « *Kugel* » de Schultze, mais différents des « *Elementarbläschen* » de Zimmermann (8). Une plaquette a probablement été dessinée pour la première fois par George Gulliver, en 1842 (9), mais il ne les relie pas à la formation de fibrine et ne

voit pas en fait la portée de sa découverte. La même année, Addison a observé lui aussi ces corpuscules incolores, mais il les associe à la formation de fibrine (2). On approche... Mais Addison pense encore, hélas, qu'elles sont dues à la lyse des leucocytes. Peu après (1864), Lionel Beale, un pathologiste anglais, ébauche une théorie complexe : il observe les petites particules qu'il suppose de type « *germinal matter* » (10) : en effet, elles se transformeraient en leucocytes et en hématies, mais également, en se lysant rapidement, seraient une source de fibrine.

Les découvertes majeures approchent avec Max Schultze, William Osler, Georges Hayem et Giulio Bizzozero. Établir la paternité de la « vraie » découverte est ardu, d'une part car les trois derniers travaillaient indépendamment pendant huit ans, et d'autre part à cause de l'absence de confrontation, et même d'une certaine défiance ou rivalité (11). L'histoire retiendra Bizzozero !

Vers 1870, Osler (Figure 2) contribue largement à décrire les plaquettes. À 24 ans, il est déjà un microscopiste confirmé (12, 13). La publication princeps

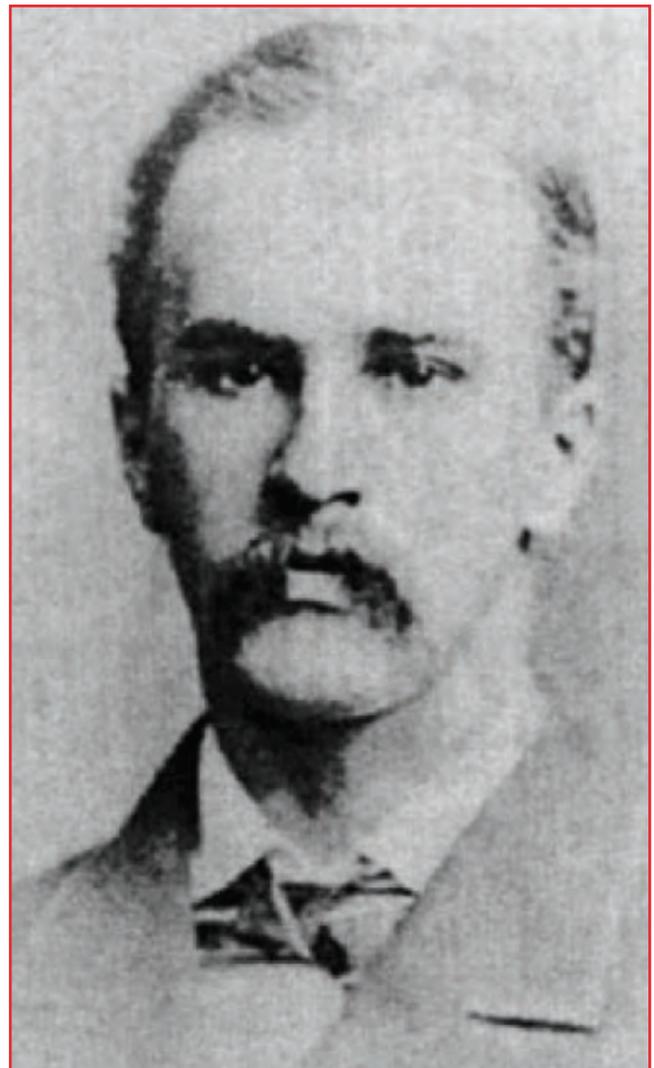


Fig. 2 - William Osler (âgé d'environ 23 ans).

date de 1873 (14). Dans sa publication suivante (15), il donne une description originale des plaquettes : « L'examen approfondi du sang montre qu'en plus des éléments traditionnels, il existe des masses granulaires pâles qui présentent une forme corpusculaire après un examen attentif. Leur taille varie beaucoup, de la moitié ou du quart d'un globule blanc à des masses colossales (Figure 3) si on n'ajoute pas de réactifs au sang, des filaments de fibrine adhèrent à elles », et il confirme alors les observations de Schultze. Il donne plus tard une série de trois conférences à New York, en 1886, exposant ses observations initiales sur la présence de *blood plates* dans les vaisseaux (16) ; ce qu'il écrira dans sa première édition de *Principles and Practice of Medicine* (17). Mais il imagine ce qu'il voit comme des bactéries saprophytes du sang, parfois associées à la formation de fibrine.

Parmi ces débuts à la fois foisonnants et chaotiques, consacrons deux chapitres aux contributeurs majeurs, Schultze et Bizzozero, mais sans oublier au préalable Donné qui révolutionnera les comptes-rendus en « inventant » la « photographie » des cellules.

II. - ALFRED DONNÉ (1801-1878)

Alfred François Donné naît le 13 septembre 1801 à Noyon (Oise) et meurt à Paris le 7 mars 1878. Médecin et scientifique très prolifique, auteur de très nombreux articles dans diverses revues (description des cellules, hygiène, maladies infectieuses...), il est connu avant tout pour sa découverte de *Trichomonas*. Dans le domaine de l'hématologie, il est le premier à donner une description illustrée des plaquettes et également à décrire des cellules leucémiques à partir de préparations de patients. Il inaugure la photographie des cellules.

Il étudie la médecine à Paris et soutient sa thèse en 1831. Nommé chef de clinique à l'hôpital de la Charité (à l'emplacement actuel de la Faculté de Médecine des Saints-Pères), il donne des cours de microscopie extrêmement remarquables. En même temps, il occupe des fonctions de bibliothécaire à la Faculté de

Médecine de Paris. Il tente plusieurs fois le concours d'agrégation, mais sans succès. Qu'importe, il se nommera lui-même professeur particulier ! Ses nombreuses publications et travaux en font effectivement un médecin très reconnu avant la révolution de 1848. En conséquence, il est promu sous-inspecteur des sources à Enghien et inspecteur général à la Faculté de Médecine de Paris. Mais la révolution passe et ces titres lui seront retirés ! Il deviendra recteur de l'académie de Strasbourg, puis migrera avec les mêmes fonctions à Montpellier. Il contribuera à de nombreux journaux médicaux, ainsi qu'à d'autres plus littéraires parmi lesquels *La Revue des deux mondes*. Il transcrit également de nombreux comptes-rendus à l'Académie des sciences. En 1842, il publie une description des cellules du sang différenciant nettement les plaquettes des autres cellules (18), (Figure 4). Cependant, il les prend pour des globules graisseux provenant du chyle. L'article dans lequel est mentionnée la découverte des plaquettes est complété par deux autres publications la même année. Par contre, Donné ne procure pas d'illustration et n'indique pas sa méthodologie. Il nomme ces particules des « globulines » (petits globules) du chyle, et les pense dériver du plasma. En ce sens, on ne peut le créditer de la découverte explicite des plaquettes et cela explique, probablement, pourquoi il laissera plus son empreinte pour d'autres écrits que pour ces spéculations. Cet article, sans méthode clairement expliquée, sans figure explicite, incitant le lecteur à le croire sur parole, serait refusé sans commentaire de nos jours !

À cette période, avec son élève, puis assistant Léon Foucault (1819-1869), Donné développe de manière totalement inédite les applications de l'électricité à la microscopie et réalise les premières photographies dans le domaine médical, appliquant immédiatement l'invention de Daguerre (1839). Il conçoit, en particulier, le premier microscope photoélectrique capable de projeter des images et perçoit aussitôt son intérêt pour l'enseignement. Alfred Donné présente ses photographies le 24 février 1840, à l'Académie des sciences, et anticipe, de manière visionnaire, sur l'intérêt d'avoir des documents réels de l'ensemble des tissus. En 1845, il publie un traité sur la microphoto-

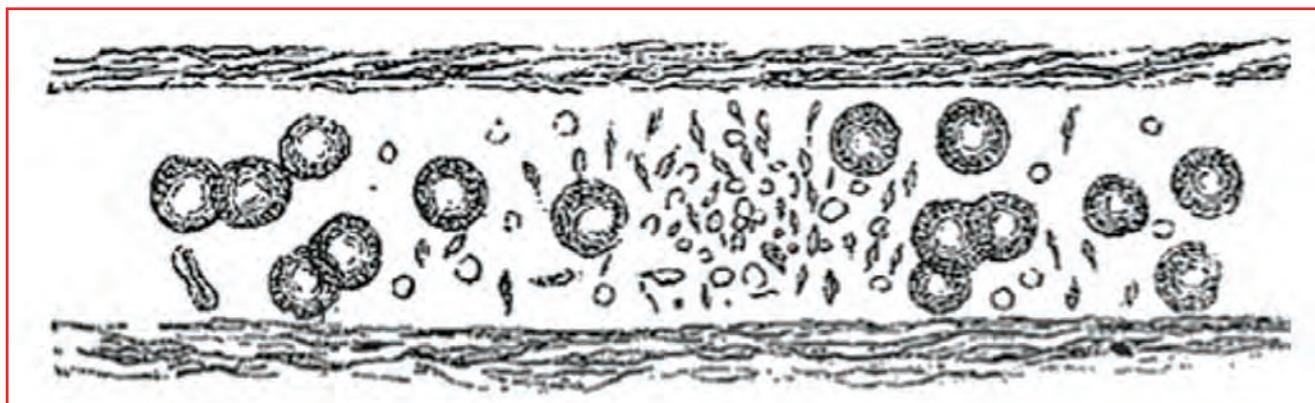


Fig. 3 - "Corpuscules" provenant du sang veineux d'un rat (dessin d'Osler, 1874).

PHYSIOLOGIE. — De l'origine des globules du sang, de leur mode de formation et de leur fin ; par M. AL. DONNÉ. (Extrait par l'auteur.)

(Commissaires , MM. Magendie, Flourens, Dumas , Milne Edwards, Payen,

« Il existe dans le sang trois espèces de particules : 1° les globules rouges ou sanguins proprement dits ; 2° les globules blancs qui n'ont été bien connus que dans ces derniers temps ; 3° les globulins du chyle.

• Les globules rouges sont plats dans toutes les espèces de sang ; ils sont circulaires dans le sang des mammifères , et elliptiques dans celui de oiseaux, des poissons et des reptiles.

• Les globules elliptiques sont les seuls qui présentent une substance solide dans leur intérieur ; on ne peut pas démontrer l'existence d'un noyau dans le centre des globules circulaires.

• Le contact de l'eau transforme tous les globules sanguins en petites sphères , et c'est à cette circonstance , ignorée des anciens observateurs , que l'on doit attribuer l'opinion de quelques-uns d'entre eux sur la forme sphérique des globules du sang des mammifères et sur la forme également sphérique que l'on admettait dans les globules du sang des oiseaux , au moment de leur formation dans l'embryon ; cette forme n'est que secondaire et déterminée par l'action de l'eau dont on se servait pour étendre le sang ou pour préparer l'embryon de l'œuf.

Fig. 4 - Publication d'Alfred Donné mentionnant les « globulines » (1842).

graphie, profitant de l'invention de la photographie par Daguerre qui est le premier à photographier les cellules, en particulier de liquides, sous forme de daguerréotypes (4). L'Atlas d'Alfred Donné est le premier ouvrage illustré par des photographies de champs microscopiques, ce qui valut   Donné une grande notoriété. Il est consacré à la cytologie des liquides (Figure 5) et on peut supposer ce choix par l'intérêt porté, à l'époque, sur ces fluides. C'est la première publication avec des photographies recopiées de cellules. Il contient 80 micro-daguerréotypes pris par Léon Foucault et rehaussés, à la main, par un graveur. Léon Foucault va ensuite s'orienter plutôt vers la physique, dans laquelle il fera une brillante carrière, mais Alfred Donné lui gardera son amitié jusqu'à la fin de sa vie. Donné est particulièrement resté à la postérité pour la découverte de *Trichomonas vaginalis* (1845), lui attribuant à tort, dans un premier temps, l'origine de la blennorrhagie. Par ailleurs, il apportera une contribution très importante à l'hygiène et à la croissance/nutrition de l'enfant (*Hygiène*

de gens du monde – 1870). *Conseils aux m res sur l'allaitement et sur la manière d'élever des enfants nouveau-nés*, son ouvrage encourageant la nutrition au sein par la mère de l'enfant, et non par une nourrice (1846), est toujours  dit  et disponible sur les sites internet actuels de vente par correspondance !

III. - MAX SCHULTZE (1825-1874)

La « véritable » découverte des plaquettes est due à un « chercheur » – c'est ainsi qu'il se qualifiait de manière si moderne – bien méconnu (Figure 6). L'histoire retiendra le nom de Giulio Bizzozero et la date de 1882, pourtant Schultz est le premier à mentionner, en 1865, l'existence des plaquettes (19) en individualisant nettement ces particules et en suspectant leur rôle dans la coagulation par « coalescence de corpuscules incolores pour former des masses granulaires (Kugel) », qu'il considère différentes des « *Elementar Blaschen* » de Zimmermann.

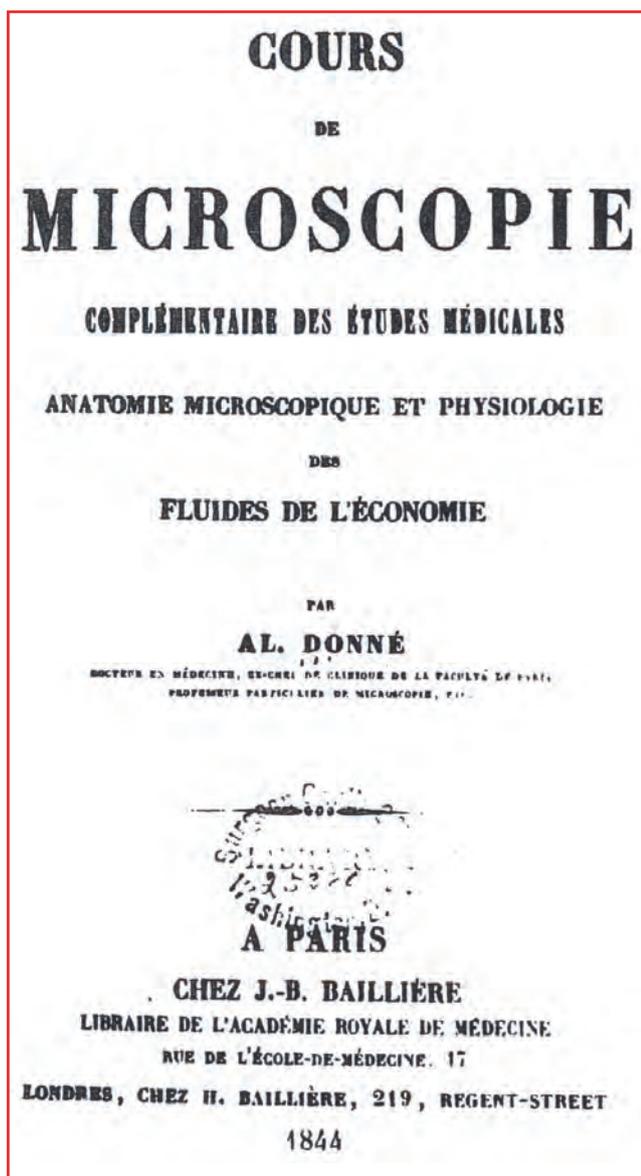


Fig. 5 - Couverture du « cours de microscopie » d'Alfred Donné.

Max Johann Sigismund Schultze est né le 25 mars 1825 à Freiburg im Breisgau (Baden) dans une famille aisée. Son père est professeur d'anatomie et de physiologie à l'université. Son frère Bernhard Sigismund (1827-1919) sera un obstétricien de renom. Max fait ses études de médecine à Greifswald (sur la côte baltique où son père vient d'être muté), puis à Berlin, et devient docteur en médecine à 24 ans. D'emblée, il montre un goût prononcé pour la recherche et s'intéresse beaucoup au concept de la cellule. Il est en particulier influencé par les recherches de Rudolf Virchow, lorsque ce dernier publie ses propres travaux. Il a alors une trentaine d'années. Nommé professeur d'anatomie à Halle, en 1854, puis professeur titulaire à Bonn, en 1859, il est titularisé à la chaire d'anatomie et d'histologie et directeur de l'institut d'anatomie. Il va alors consacrer son intérêt principalement à l'étude des nerfs sensoriels et olfactifs de la rétine. Ses conceptions sur la cellule sont alors relativement novatrices puisqu'il est l'un des premiers à décrire les cellules multinucléées, et en particulier les cellules musculaires. Cependant, il pense que la cellule n'a pas forcément de membrane, ce qui l'oppose à ses contemporains et, notamment, à l'incontournable Carl Reichert. Ces oppositions rendent difficile la publication de ses propres recherches. À cette fin, il crée alors et édite, en 1865, la revue *Archiv für mikroskopische anatomie* qui existe encore (sous le nom de *Cell and Tissue Research*), et le premier article du premier numéro de cette nouvelle revue comporte 42 pages sans aucun paragraphe : ses travaux ! (20). Il observe les effets de la température sur le cytoplasme entre 37 et 50 °C. Les cellules sanguines ne sont qu'un exemple mineur parmi d'autres cellules, mais, en détaillant ses observations, il est le premier à bien identifier les différentes catégories de globules blancs : lymphocytes, monocytes, polynucléaires neutrophiles et éosinophiles. Il pressent leur capacité phagocytaire (21) (N. B. : la phagocytose ne sera envisagée que par Élie Metchnikoff en 1882 à Messine, ce qui vaudra à ce père de l'immunité cellulaire le prix Nobel de médecine/physiologie en 1908) et il mentionne à cette occasion, la présence d'un constituant normal du sang appelé « sphérule ». Il présente ces sphérules



Fig. 6 - Max Schultze (âgé d'environ 25 ans).

cher son intérêt principalement à l'étude des nerfs sensoriels et olfactifs de la rétine. Ses conceptions sur la cellule sont alors relativement novatrices puisqu'il est l'un des premiers à décrire les cellules multinucléées, et en particulier les cellules musculaires. Cependant, il pense que la cellule n'a pas forcément de membrane, ce qui l'oppose à ses contemporains et, notamment, à l'incontournable Carl Reichert. Ces oppositions rendent difficile la publication de ses propres recherches. À cette fin, il crée alors et édite, en 1865, la revue *Archiv für mikroskopische anatomie* qui existe encore (sous le nom de *Cell and Tissue Research*), et le premier article du premier numéro de cette nouvelle revue comporte 42 pages sans aucun paragraphe : ses travaux ! (20). Il observe les effets de la température sur le cytoplasme entre 37 et 50 °C. Les cellules sanguines ne sont qu'un exemple mineur parmi d'autres cellules, mais, en détaillant ses observations, il est le premier à bien identifier les différentes catégories de globules blancs : lymphocytes, monocytes, polynucléaires neutrophiles et éosinophiles. Il pressent leur capacité phagocytaire (21) (N. B. : la phagocytose ne sera envisagée que par Élie Metchnikoff en 1882 à Messine, ce qui vaudra à ce père de l'immunité cellulaire le prix Nobel de médecine/physiologie en 1908) et il mentionne à cette occasion, la présence d'un constituant normal du sang appelé « sphérule ». Il présente ces sphérules

comme étant observées constamment dans le sang de plusieurs individus, y compris le sien. Il affirme qu'aucun constituant du sang n'est dû au hasard et pense qu'elles ont été ignorées jusqu'alors. Il décrit des formes plus ou moins irrégulières ayant tendance à se rassembler pour former des amas à partir d'éléments séparés (Figure 7). Il va même jusqu'à remarquer que ces sphérules peuvent se déformer et, qu'au moment de la coagulation, des projections émergent du protoplasme, et ceci uniquement lors des phénomènes de coagulation ! Il faut mettre en perspective les moyens techniques de l'époque : ces observations ont été possibles grâce à l'usage, pour la première fois, de microscopes et de dispositifs permettant d'observer à fort grossissement les éléments du sang. Analyse impossible auparavant. Enfin, il termine son article de manière visionnaire en indiquant que, pour ceux qui s'intéressent au sang, l'étude de ces granules est probablement très prometteuse. Ensuite, il ne reviendra plus à l'étude du sang, toutes ses recherches seront consacrées à la structure et l'innervation de la rétine. En substance : « j'ai trouvé dans mon sang, et dans celui de nombreuses personnes, des amas plus ou moins nombreux de petites sphères incolores de taille différente. Une sphérule mesure entre 0,001 et 0,002 mm. Elles sont parfois isolées,

mais sont le plus souvent accolées fermement en groupes. À cause de leur pâleur et de leur très petite taille (6 à 8 fois plus petite que les globules rouges), ces sphérules ne peuvent être observées qu'avec des lentilles puissantes et de qualité... dans certaines circonstances des filaments granulaires de protoplasme émergent... mais seulement en cas de coagulation de matériel fibreux. Il semble que la coagulation débute avec ces accumulations de granules. » Son erreur est de suspecter qu'elles proviennent de la destruction des globules blancs, ce qui sera réfuté par Bizzozero.

Max Schultze est resté dans l'histoire avant tout pour ses concepts sur la cellule, définissant celle-ci comme une masse de protoplasme nucléée, avec ou sans membrane. Il est à l'origine de la signification du protoplasme et l'a mis en évidence aussi bien dans les cellules animales que végétales (1863). Une autre grande thématique aura été la découverte du fonctionnement de la rétine, fondement des conceptions actuelles. Quand il succède à Herman von Helmholtz à la chaire d'anatomie à Bonn (1839), l'histologie de la rétine a déjà été bien décrite par ce dernier. Mais Schultze va préciser le rôle des cellules (cônes et bâtonnets), les étudier chez différents animaux. Ce travail fondateur mettra en lumière le fonctionne-

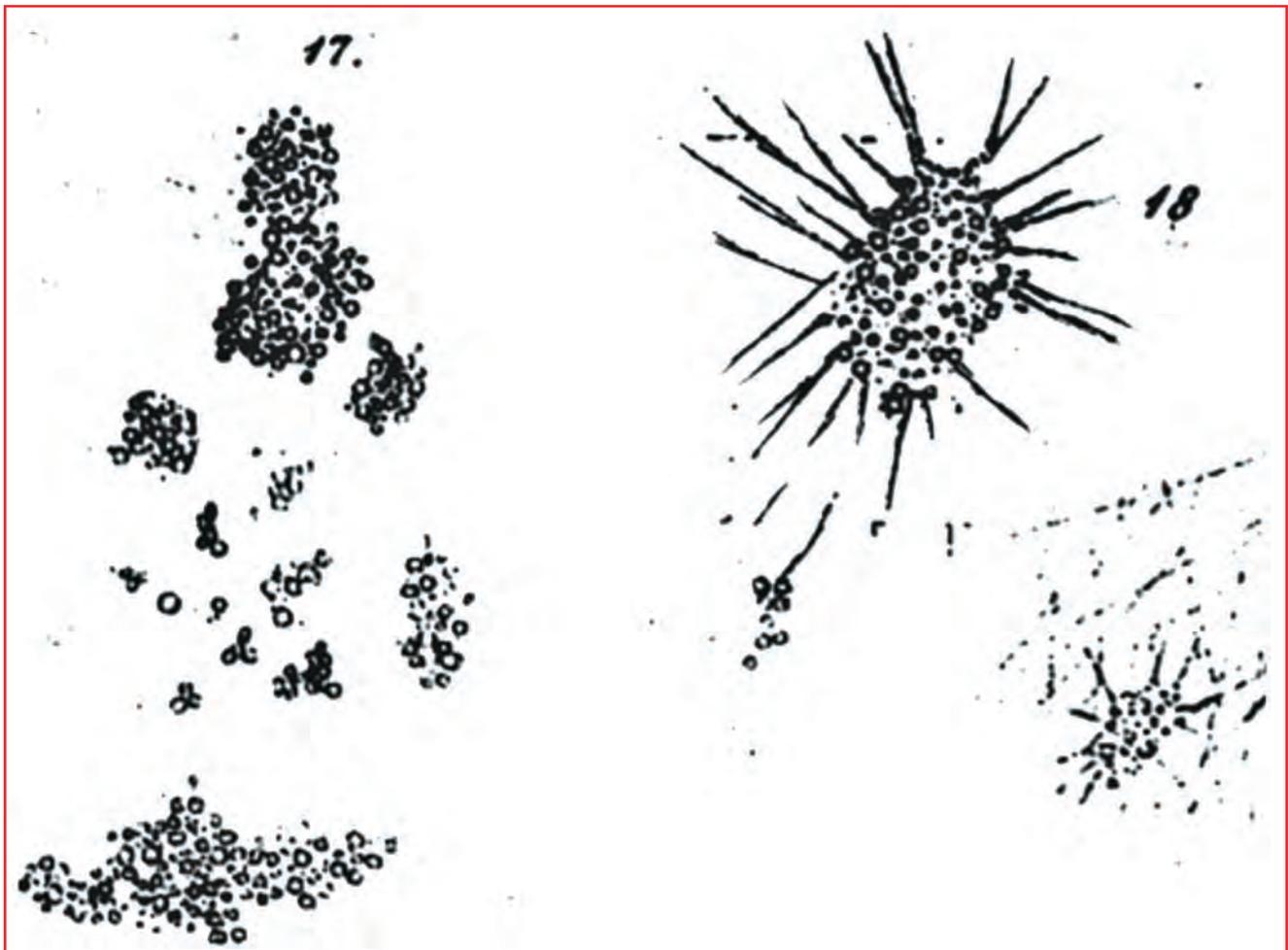


Fig. 7 - Amas de plaquettes avant (17) et après coagulation (18) (dessin de Schultze, 1865).

ment neurosensoriel de la vision (les cônes responsables de la perception de la couleur, les bâtonnets de la lumière – noir et blanc).

Il meurt d'une perforation d'ulcère à l'âge de 49 ans, le 16 janvier 1874 à Bonn, au terme d'une brillante carrière (22). Pour commentaire, à replacer dans le contexte de l'époque, sa femme était décédée à Ostende en 1865, année de sa découverte des plaquettes, des suites d'une fièvre typhoïde. Les collègues de Schultze, constatant son épuisement à travailler sans relâche à Bonn, l'avaient « obligé » à prendre des vacances avec son épouse dans l'espoir de le « régénérer », et c'est ainsi que le couple avait mangé des huîtres...

GIULIO BIZZAZERO (1846-1901)

Bizzazero est né le 20 mars 1846 à Varese, en Lombardie, entre les lacs Majeur et de Côme, dans une famille de fondeurs de cloches (Figure 8). À partir de 1862, à seulement 16 ans, il étudie la médecine à l'Université de Pavie et devient docteur en médecine en 1866... à l'âge de 20 ans ! (23). Il reçoit aussi le prix Mateucci récompensant les étudiants brillants. Son futur intérêt pour l'histologie lui vient de sa ren-



Fig. 8 - Giulio Bizzazero.

contre avec Paolo Mantegezza, fondateur du laboratoire de pathologie expérimentale en 1861, qui devient son mentor. Il part alors se former dans différents laboratoires d'histologie, souvent célèbres (comme ceux de Heinrich Frey à Zurich et de Rudolf Virchow à Berlin...). Il obtient rapidement le poste de chef du service de pathologie générale et d'histologie et professeur d'histologie à Pavie. « *He was most painstaking in training his pupils in precision of technique and conscientious observation* » (24). À 26 ans, il migre vers l'Université de Turin où il crée l'Institut de Pathologie Générale. Il fonde « *Archivio di Scienze Mediche* » et écrit un manuel de microscopie clinique en 1885. Il partira ensuite à Rome où il sera nommé « sénateur à vie » en 1890 par le roi Humbert I en reconnaissance de ses travaux. Il se battra alors pour des questions sociales et de santé publique. Il est président de l'Académie de médecine de 1892 à 1893. Il meurt à Turin âgé de 55 ans, le 8 avril 1901, d'une pneumonie (25).

Bizzazero changea donc fréquemment d'universités, même si c'est à Turin qu'il effectuera la majeure partie de sa carrière. L'institut qu'il y fonde va former de nombreux chercheurs, dont Camillo Golgi. De même, ses intérêts scientifiques évoluèrent au cours de sa carrière. Dans un premier temps, il s'investit dans des recherches sur le système vasculaire, puis sur la moelle osseuse et l'hématopoïèse (26-28). On lui doit la reconnaissance de la moelle osseuse comme siège de l'érythroïèse et de la granulopoïèse. Il évoque ensuite l'activité phagocytaire des leucocytes à partir d'observations d'inflammations de la chambre antérieure de l'œil (1871-1872). Il décrit les différences de capacités régénératives entre plusieurs tissus. Après dix années d'étude de l'hématopoïèse, il s'intéressa à la coagulation et aux plaquettes (29-31), et à la fin de sa carrière, atteint d'une choroïdite ne lui permettant plus de travailler au microscope, ses centres d'intérêt se tournèrent vers la santé publique et l'hygiène. On lui doit aussi l'observation de bactéries spiralées dans l'estomac (1892), identifiées comme *Helicobacter pylori* un siècle plus tard, l'agent de la maladie ulcéreuse. C'est un des pionniers de l'utilisation du microscope en recherche médicale. Même si d'autres avant lui les ont observées, voire individualisées comme Schultze, on peut lui attribuer la découverte des fonctions plaquettaires : il les individualise sans contestation des autres cellules du sang, et, pour la première fois, les étudie et décrit leur rôle précis dans les mécanismes de la coagulation (32).

Les premiers travaux scientifiques de Bizzazero, alors qu'il était encore étudiant, portent sur l'hématopoïèse et, en particulier, sur la formation des cellules sanguines dans la moelle osseuse (1865). À cette époque, de multiples théories, souvent contradictoires, sont débattues. Deux auteurs, dont Bizzazero, vont prouver le rôle de la moelle osseuse dans l'héma-

topoïèse. Le premier, Ernst Neumann, publie en 1869 un article indiquant le siège médullaire de la formation des cellules du sang, mais ses observations sont en fait en partie erronées puisqu'il estime qu'elles naissent dans les vaisseaux sanguins de la moelle. Par contre, sa contribution réelle est d'affirmer que les cellules du sang sont en formation continue. Ernst Neumann édite ses travaux le 10 octobre 1868 sous forme d'une note annonçant un article plus consistant l'année suivante. Toutefois, pendant ce laps de temps, deux communications de Bizzozero confirment que les hématies sont formées à partir de cellules nucléées dans la moelle, et que la formation des leucocytes s'effectue de même. La théorie de Bizzozero est donc plus proche de la réalité que celle de Neumann et on peut ainsi lui attribuer la primeur de la découverte de l'hématopoïèse (31). Il est même probable que Bizzozero avait réalisé ces découvertes avant Neumann, mais qu'il souhaitait étayer ses preuves pour les publier. En effet, à cette époque, il a 22 ans et vient de présenter sa thèse de doctorat en médecine. Position difficile, car cet étudiant brillant est non seulement contesté par d'autres professeurs émérites tels Neumann, mais également par ses propres confrères de l'Université de Pavie : jalousie ? Un autre « ténor », Georges Hayem, pense que les globules rouges sont formés à partir des plaquettes et il consacre un livre entier au dénigrement des théories de Bizzozero ! Il identifie des cellules géantes dès 1869 (mégacaryocytes), mais ne rend publique sa contribution monumentale qu'en 1882.

Bizzozero est le premier à décrire les plaquettes comme le troisième élément du sang, sans rapport avec les globules rouges et les globules blancs. Il publie un premier article en italien (13/12/1881),

(Figure 9) (32), un second en français (1882) (33), puis l'ensemble de ses travaux en allemand (1882) (34), d'où les noms de ces nouvelles cellules : « *piastri* » en italien, « petite plaque » en français et « *blutplättchen* » en allemand. On lui doit donc la dénomination des plaquettes ! Il indique d'emblée que ces découvertes ont pu être possibles grâce à l'observation de la microcirculation chez les animaux vivants. Bizzozero décrit les plaquettes comme étant des groupuscules discoïdes sans noyau, comprenant une membrane et du cytoplasme contenant des granules (Figure 10). Il est ensuite le premier à établir leur rôle dans l'hémostase. Ses expérimentations consistent notamment à exercer une micro-piqûre, avec une très fine aiguille, dans une petite artère du mésentère chez des lapins ou des cochons d'Inde anesthésiés (35-37) et il observe alors que les plaquettes convergent vers la brèche vasculaire et s'accumulent pour former rapidement un thrombus permettant un début d'arrêt de l'hémorragie (Figure 11). Bizzozero conçoit une petite chambre sur une lame de microscope pour observer les plaquettes se déposer et adhérer (Figure 12). Il découvre ainsi leur déformation en étoile et l'accumulation de molécule de fibrine (Figure 13).

Son article sur les plaquettes paru en 1882 compte soixante et onze pages, écrites en allemand, car c'était la langue scientifique de l'époque. Il a été précédé, puis suivi de notes plus courtes en italien, sa langue natale (1881, deux pages) puis en français (1882, trois pages). Bizzozero fait une analyse détaillée des contributeurs précédents et relate principalement les travaux de Schültze dont il admet la contribution scientifique. Cependant, en l'absence de description précise, en particulier de dessins détaillés



Fig. 9 - Publication princeps de Giulio Bizzozero (1881).

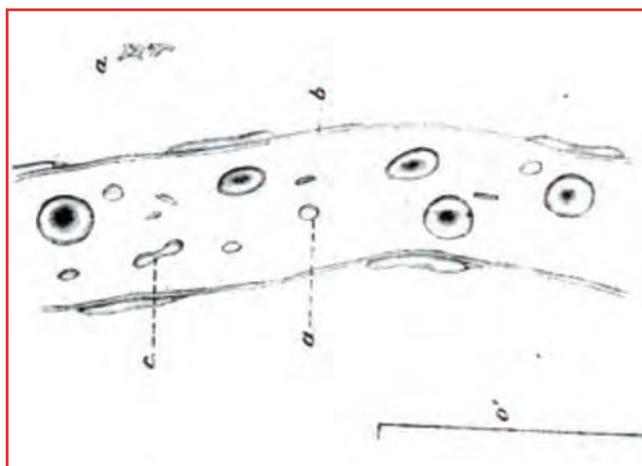


Fig. 10 - Plaquettes, représentées de face et de profil, dans une artériole de cochon d'Inde (dessin de Bizzozero, 1882).

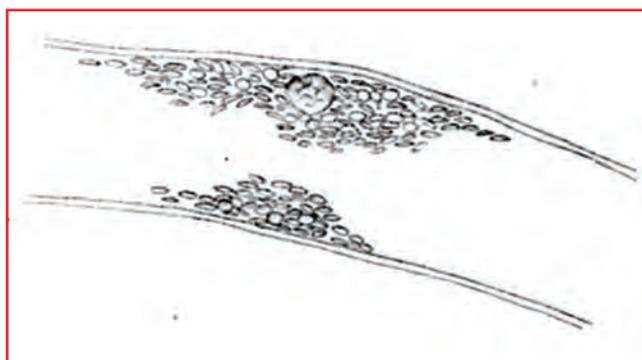


Fig. 11 - Globule blanc incorporé dans le thrombus plaquettaire (dessin de Bizzozero, 1882).

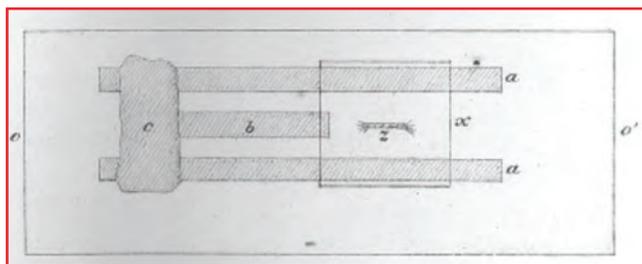


Fig. 12 - Chambre d'observation, dans laquelle une goutte de sang est déposée entre lame et lamelle et canalisée par des bandes de papier buvard (dessin de Bizzozero, 1882).

de Schultze, il est difficile d'affirmer que les cellules observées sont les mêmes. Il mentionne aussi les travaux de Hayem, ayant bien reconnu les plaquettes, mais les ayant apparentées à tort à des précurseurs des hématies contenant de l'hémoglobine et nommées en conséquence « hématoblastes ». L'apport essentiel de Bizzozero est d'avoir remarquablement conçu des expérimentations permettant d'observer les cellules sanguines dans la circulation. En substance : « La réponse à la question de l'existence et de la nature du troisième constituant du sang peut seulement être résolue par une expé-

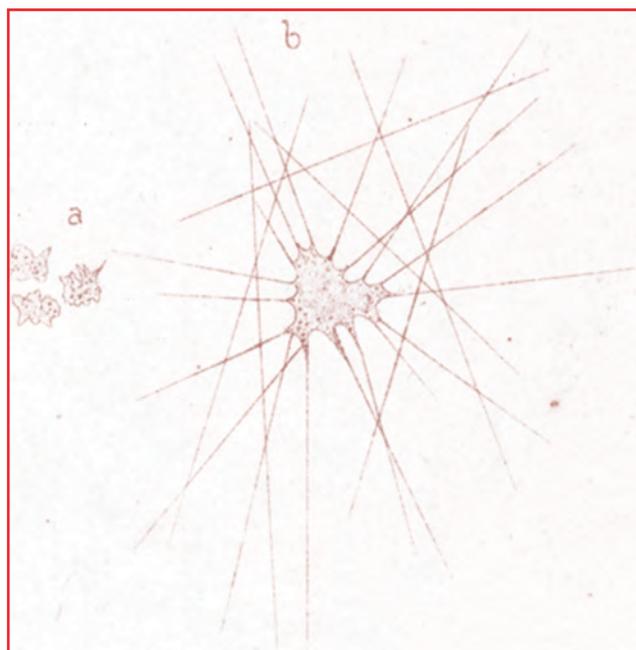


Fig. 13 - Formation de fibrine au contact des plaquettes (dessin de Bizzozero, 1882).

rience qui est si évidente qu'il est vraiment étonnant qu'aucun chercheur ne l'ait effectué. C'est l'observation du sang en circulation chez un animal vivant ». Il remarque aussi avec malice, mais pertinence, que les observateurs qui ne sont habitués à trouver que les cellules connues (globules rouges et blancs) ne pourront jamais repérer les plaquettes. « Si on regarde le contenu des vaisseaux, veines ou capillaires, avec un objectif à immersion, on voit un troisième élément en plus des globules rouges et blancs. Il s'agit de minces plaquettes, en forme de disque avec des surfaces parallèles ou rarement en forme de lentille optique, ronde ou ovale, d'un diamètre deux à trois fois plus petit que celui d'un globule rouge ». Une figure illustre le paragraphe. Il commente avec beaucoup d'acuité la difficulté d'interpréter une préparation différée, car les plaquettes s'agrègent et forment un amas non reconnaissable. Il donne la méthode pour préserver leur morphologie et indique qu'elles n'ont ni noyau ni hémoglobine, comme Hayem le pensait. Non seulement il décrit la morphologie des plaquettes dans son article, mais il poursuit en présentant leurs fonctions dans l'hémostase et la constitution du caillot. Pour le démontrer, il exerce une légère piqûre sur une artère du mésentère d'un animal. « Les plaquettes, entraînées par le courant sanguin, sont immobilisées au niveau du point de traumatisme dès qu'elles y arrivent. On en voit d'abord entre deux et six, puis rapidement des centaines. Habituellement, quelques globules blancs sont aussi piégés. Petit à petit, le volume du thrombus augmente, obstrue la lumière du vaisseau et diminue le flux sanguin progressivement » (Figure 14).

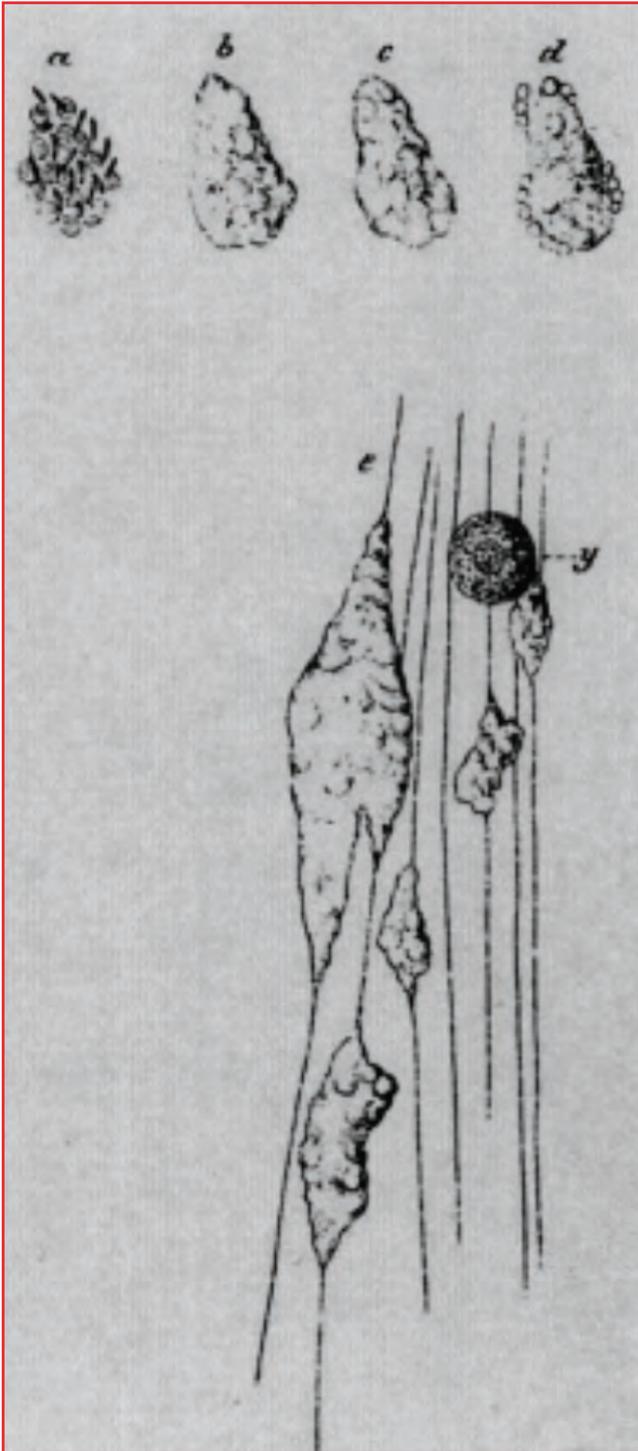


Fig. 14 - Amas de plaquettes et thrombus (dessin de Bizzozero, 1882).

« Dans les conditions physiologiques, les plaquettes flottent dans le plasma. Soumises à une condition pouvant entraîner une thrombose, elles adhèrent les unes aux autres et s'accumulent. Les plaquettes libres dans la circulation sont immobilisées par les autres plaquettes dès qu'elles entrent en contact avec elles ». Bizzozero remarque aussi qu'un matériel fibreux se dépose à la surface de la couche de plaquettes après 90 secondes. Afin de poursuivre ses observations, il construit une chambre sur une lame de verre dans laquelle il fixe quelques fils dont une des extrémités reste libre. Le sang peut circuler, mais le système permet de l'observer au microscope. « Après un délai d'une minute au plus, un grand nombre de plaquettes adhèrent au fil et le recouvrent en une grasse épaisse. Ensuite, un dépôt fibreux recouvre la couche de plaquettes et forme comme des paquets de filaments ».

Bizzozero note que les plaquettes du caillot fusionnent en une masse amorphe au bout de 15 minutes et que les contours des cellules ont disparu complètement après 20 minutes. La conclusion de son article est sans appel. « Ces travaux indiquent que dans le sang des vertébrés existe un composant normal et constant, que ses caractéristiques le différencient des globules blancs et des globules rouges. » « Une de leurs propriétés la plus remarquable est la facilité avec laquelle elles se transforment. Quand elles sont en circulation dans le sang d'un animal vivant, une petite blessure de la paroi du vaisseau, ou le contact avec une surface étrangère, est suffisante pour qu'elles deviennent visqueuses, adhèrent les unes aux autres, et forment alors un thrombus blanc... Ceci contribue à donner une explication au phénomène de thrombose et de coagulation du sang ».

Tout est dit... ou presque. La touche finale sera offerte par la mise au point de bonnes colorations par Wright en 1906 qui vont définitivement préciser la morphologie plaquettaire. Reste à explorer leurs fonctions...

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- (1) Cooper B. Osler's role in defining the third corpuscle, or "blood plates". *Proc (Bayl Univ Med Cent)* 2005 ; **18** : 376-8.
- (2) Addison W. On the colourless corpuscles, and on the molecules and cytoblasts in the blood. *London Med Gaz* 1842 ; **30** : 144-8.
- (3) Donné A. De l'origine des globules du sang, de leur mode de formation et de leur fin. *C R Acad Sci (Paris)* 1842 ; **14** : 366-8.
- (4) Donné A, Foucault L. Cours de microscopie complémentaire des études médicales : anatomie microscopique et physiologie des fluides de l'économie. Atlas exécuté d'après nature au microscope-daguerréotype. *Baillière* Paris ; 1845.
- (5) Zimmermann G. Über die Blutmischung in verschiedenen Gefässen. *Arch Physiol Heilk* 1847 ; **6** : 586-600.
- (6) Zimmermann G. Zur Blutkörperchenfrage. *Arch Pathol Anat Physiol Klin Med* 1860 ; **18** : 221-42.
- (7) Mazzarello P, Calligaro AL, Calligaro A. Giulio Bizzozero : a pioneer of cell biology. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2001 ; **2** : 776-81.
- (8) Tocantins LM. Historical notes on blood platelets. *Blood* 1948 ; **3** : 1073-82.
- (9) Gerber F. Elements of the General and Minute Anatomy of Man and the Mammals, chiefly after original researches (added notes and appendix comprising researches on the anatomy of the blood, chyle, etc.). *G. Gulliver*, London : 1842.
- (10) Beale L. On the germinal matter of the blood with remarks upon the formation of fibrin. *Trans Microsc Soc J* 1864 ; **12** : 47-63.
- (11) Spaet TH. Platelets : the blood dust. In Blood, pure and eloquent. Wintrobe MM (ed), *McGraw Hill*, New York ; 1980 : 549-71.
- (12) Stone MJ. William Osler's legacy and his contribution to haematology. *Br J Haematol* 2003 ; **123** : 3-18.
- (13) Cushing H. The life of Sir William Osler. *Clarendon Press, Oxford* ; 1925.
- (14) Osler W, Schäfer EA. Über einige in Blute vorhandene Bacterienbildende Massen. *Centralbl Med Wissensch* 1873 ; **11** : 577-8.
- (15) Osler W. An account of certain organisms occurring in the liquor sanguinis. *Proc R Soc London* 1874 ; **22** : 391-8.
- (16) Osler W. Abstract of the Cartwright lectures on certain problems in the physiology of the blood corpuscles. *Br Med J* 1886 ; **1** : 917-9.
- (17) Osler W. The Principles and Practice of Medicine (vol. 693). *D. Appleton & Co*, New York ; 1892.
- (18) Bast TH. Max Johann Sigismund Schultze (1825-1874). *Ann Med Hist* 1931 ; **3** : 166-78.
- (19) Brewer DB. Max Schultze (1865), G. Bizzozero (1882) and the discovery of the platelet. *Br J Haematol* 2006 ; **133** : 251-8.
- (20) Schultze, M. Ein heizbarer Objectisch und seine Verwendung bei Untersuchungen des Blutes. *Archiv Mikroskop Anatomie* 1865 ; **1** : 1-42.
- (21) Brewer DB. Max Schultze and the living, moving, phagocytosing leucocytes. *Med Hist* 1994 ; **38** : 91-101.
- (22) Schwalbe, G. Max Schultze, geb 25. März 1825, gest. 16. Jan. 1874. Nekrolog. *Archiv Mikroskop Anatomie Entwickl Mech* 1874 ; **10** : i-xxiii.
- (23) Collier BS. Bizzozero and the discovery of the blood platelet. *Lancet* 1984 ; **323** : 804-6.
- (24) Vigliani, R. Giulio Bizzozero : a remembrance 100 years after his death. *Pathologica* 2002 ; **94** : 206-15. [Article en italien].
- (25) Obituary. Giulio Bizzozero, MD. *Br Med J* 1901 ; **1** : 988.
- (26) Dianzani MU. Bizzozero and the discovery of platelets. *Am J Nephrol* 1994 ; **14** : 330-6.
- (27) Anonymous. Giulio Bizzozero (1846-1901). *Nature* 1946 ; **157** : 331-2.
- (28) Ribatti D, Crivellato E. Giulio Bizzozero and the discovery of platelets. *Leuk Res* 2007 ; **31** : 1339-41.
- (29) Scarani P, Zanarini P. A further object of controversy : Giulio Bizzozero and the discovery of platelets. *Pathologica* 1999 ; **91** : 412-3. [Article en italien]
- (30) Zina G, Zina A. The man behind the eponym. Giulio Bizzozero and his son Enzo. *Am J Dermatopathol* 1986 ; **8** : 445-7.
- (31) Bizzozero G. Sul midollo delle ossa. *Il Morgagni* 1869 ; **11** : 465-81 ; 617-46.
- (32) Bizzozero G. Su di un nuovo elemento morfologico del sangue dei mammiferi e sulla sua importanza nella trombosi e nella coagulazione. *Osservatore* 1881 ; **17** : 785-7.
- (33) Bizzozero G. Sur un nouvel élément, les petites plaques du sang des mammifères, deuxième note. *Osservatore* 1882 ; **18** : 97-9.
- (34) Bizzozero G. Über einen neuen Formbestandteil des Blutes und dessen Rolle bei der Thrombose und Blutgerinnung. *Arch Pathol Anat Physiol Klin Med* 1882 ; **90** : 261-332 (translated into English : On a new blood particle and its role in thrombosis and blood coagulation. *Hans Huber*, Bern : 1982).
- (35) de Gaetano G. Historical overview of the role of platelets in hemostasis and thrombosis. *Haematologica* 2001 ; **86** : 349-56.
- (36) de Gaetano G. A new blood corpuscle : an impossible interview with Giulio Bizzozero. *Thromb Haemost* 2001 ; **86** : 973-9.
- (37) de Gaetano G, Cerletti C. Platelet adhesion and aggregation and fibrin formation in flowing blood : a historical contribution by Giulio Bizzozero. *Platelets* 2002 ; **13** : 85-9.