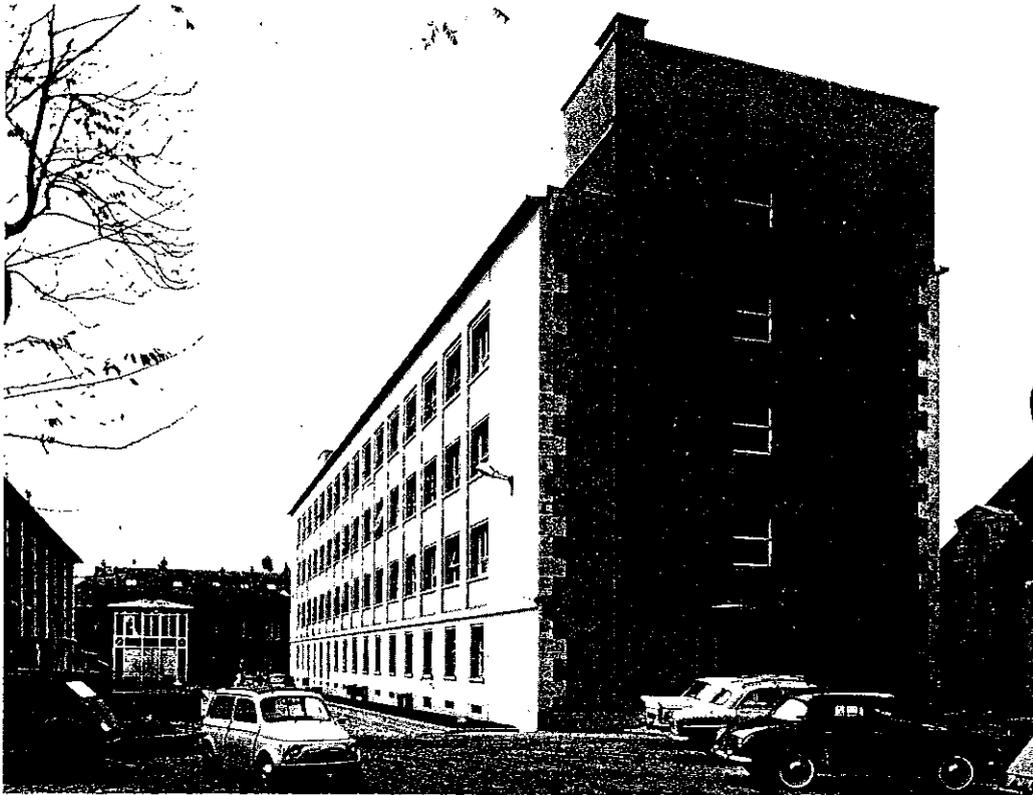


IV

Centre de recherches sur les leucémies et les maladies du sang

Professeur Jean BERNARD

Directeur



Institut G. Hayem où est installé le Centre de recherches.

HOPITAL SAINT-LOUIS
2 place Alfred-Fournier Paris 10

PERSONNEL SCIENTIFIQUE

Directeur

M. le Professeur Jean BERNARD, Professeur de Clinique des maladies du sang, Médecin Chef de Service des Hôpitaux.

Directeurs adjoints

M. le Professeur Agrégé BOIRON, Maître de Conférence Agrégé, Médecin Chef des Hôpitaux.

M. le Professeur Agrégé SELIGMANN, Maître de Conférence Agrégé, Médecin Chef de Service des Hôpitaux.

Assistants de recherches

M. le Docteur LEVY

M. le Docteur VAN RAPENBUSCH

M. le Docteur SINACOS

Techniciens

Mlle DUPERTHUIS

Mlle GAUTHERON

Mme GOBET

Mme KAUFFMANN

Mlle ZAPATERIA

INTRODUCTION

Les recherches du Centre Claude-Bernard sur les leucémies et les maladies du sang ont eu pour objets essentiels depuis dix ans l'étiologie et la physio-pathologie des hémopathies malignes et non malignes. Du côté de l'étiologie, trois voies principales ont été suivies :

(a) L'étude des *virus* des leucémies de la Souris (facilitée par un élevage qui fournit 25.000 souris de souche pure par an) a permis, entre autres progrès, la description des stades initiaux de ces leucémies virales, l'examen des propriétés des acides nucléiques infectants ; elle prépare l'étude virologique des leucémies humaines.

(b) Les enquêtes menées à l'aide des méthodes *immuno-chimiques* ont découvert les macroglobulinémies familiales et conduisent à envisager l'existence de désordres protéiques latents préalables au développement d'une leucémie ou d'un sarcome.

(c) Les travaux consacrés aux désordres sanguins provoqués par les *médicaments* permettent d'orienter efficacement la prévention de ces désordres.

Du côté de la *physio-pathologie*, l'étude de la rémission complète des leucémies aiguës et plus généralement des changements des leucémies induites par la thérapeutique n'a cessé de retenir l'attention. Depuis les observations de M. Bessis et Jean Bernard qui ouvraient en 1947 la période thérapeutique de la leucémie aiguë, ce thème a fréquemment été enrichi par les chercheurs du Centre (premières applications des fortes corticothérapies, des thérapeutiques combinées, analyse physio-pathologique de la rémission complète). Ces travaux ont permis tout à la fois de faire bénéficier les malades de nouveaux traitements et de faire progresser notre connaissance même des leucémies.

L'importance des traitements symptomatiques, anti-anémiques, anti-hémorragiques des leucémies a conduit à développer les recherches sur le mécanisme des anémies et des hémorragies. Ces recherches se sont étendues bien au-delà des leucémies à d'autres domaines de l'hématologie. C'est ainsi que le laboratoire des *isotopes* a pu (a) apporter une utile

Interféron-interférences. La production d'interféron par les cultures virales, la sensibilité du virus à l'interféron, les interférences possibles « in vivo » et « in vitro » avec virus font actuellement l'objet d'études au laboratoire. Une interférence avec d'autres virus leucémiques et avec des virus banaux semble avoir été mise en évidence récemment.

Dans l'ensemble, les études se poursuivent dans deux directions principales : (a) mise au point d'un système qui permettrait d'étudier la leucémigénèse « in vitro », et (b) recherche des facteurs pouvant bloquer l'infection « in vivo ».

Anomalies chromosomiques dans les infections virales

Un des mécanisme possible de cancérisation virale de la cellule est l'atteinte de l'appareil chromosomal. L'examen du caryotype de cellules infectées par les virus est actuellement poursuivi au laboratoire. Si le virus de la rougeole ne provoque pas d'anomalies dans les leucocytes du sang circulant, l'herpès en culture de tissus provoque de très nombreuses et précoces cassures chromosomiques (94). Les virus des papillomatoses, les virus leucémogènes murins sont également étudiés dans ce sens.

Recherches diverses

D'autres travaux du laboratoire ont porté sur le rôle de la température dans l'infection virale (22), la culture organo-typique de moelle osseuse (58), les lymphocytes normaux et leucémiques en culture de tissus (78), l'étude de diverses hémopathies humaines.

Enfin, la recherche d'un agent étiologique de type viral dans les leucémies humaines est actuellement poursuivie, en culture de tissus et chez l'animal.

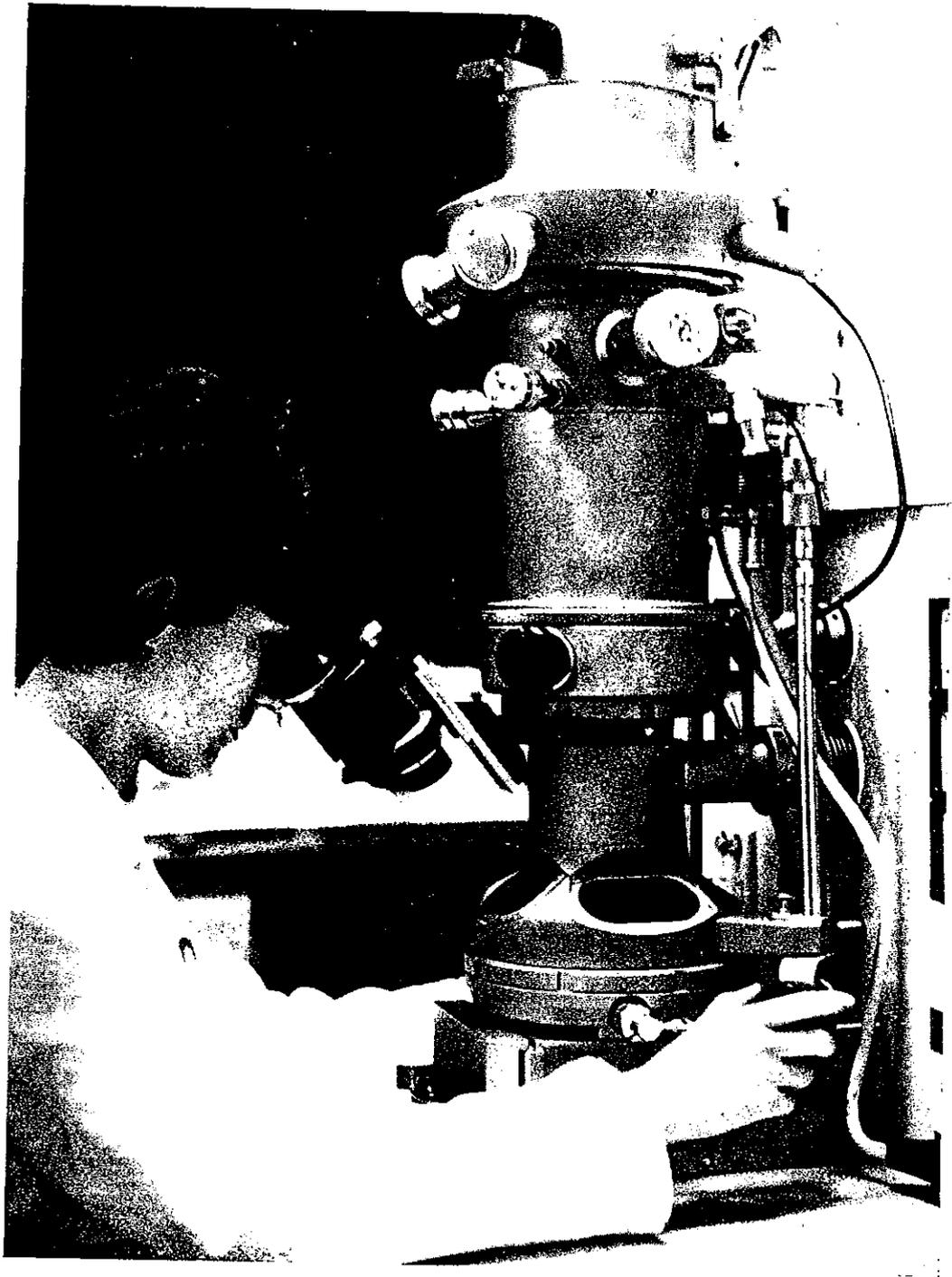


FIGURE 1. Observation au microscope électronique.

IMMUNO - HÉMATOLOGIE

Le laboratoire d'Immuno-Hématologie du Centre de Recherches sur les Maladies du Sang a orienté son activité essentiellement vers l'étude et les applications des anticorps anti-leucocytaires et plaquettaires. On distingue les iso-anticorps de groupe, les auto-anticorps et les anticorps « allergiques » actifs seulement en présence de la substance, le plus souvent médicamenteuse, qui en a provoqué l'apparition.

Les iso-anticorps anti-leucocytaires sont dépistés par l'étude systématique d'environ 300 sérums provenant de femmes multipares. Ces sérums sont envoyés au Laboratoire Central de Sérologie de l'Hôpital Saint-Louis pour les réactions sérologiques de la syphilis obligatoires au troisième mois de grossesse. Des prélèvements de sang sont organisés au moment de l'accouchement ou quelques mois après. Les sérums sont alors étudiés systématiquement sur une centaine de variétés de leucocytes toujours les mêmes de façon à pouvoir établir des comparaisons. Celles-ci sont facilitées par l'emploi de la machine électronique du Centre de Recherche Scientifiques (Centre Blaise-Pascal).

La description de nouveaux groupes leucocytaires nécessite tout d'abord d'apporter des présomptions suffisantes de la « pureté » des sérums, c'est-à-dire de l'existence d'un seul anticorps anti-leucocytair. Cette présomption est apportée par des épreuves multiples d'absorption. Puis viennent les études de familles et de population qui montrent la transmission mendélienne du nouvel antigène et la présence ou l'absence de liaison avec un autre antigène. Jusqu'à présent un système de groupe $x^a x^b$ a été décrit par ce laboratoire (71). Parmi les implications pratiques de ces iso-anticorps anti-leucocytaires citons : les chocs transfusionnels, la leuco-neutropénie du nouveau-né et l'homotransplantation.

Ce dernier problème est étudié intensivement (33, 46, 72, 77). Des greffes de peau ont été effectuées sur vingt-quatre volontaires, qui ont reçu le même jour deux greffes l'une provenant d'un individu dont les leucocytes étaient le plus compatibles avec les siens et l'autre d'un autre individu dont les leucocytes étaient le plus incompatibles. Les résultats sont allés dans le sens de l'hypothèse sans toutefois la démontrer totalement.

Deux receveurs homozygotes, pour le groupe $x^a x^b$, sont l'un $x^a x^a$ et l'autre $x^b x^b$, ont reçu le même jour des greffes de peau provenant de quatre individus $x^a x^a$ et de quatre individus $x^b x^b$. Dans un cas la durée de survie des greffons compatibles a été de deux jours plus longue que celle des greffons incompatibles.

D'autres expériences ont permis de localiser les antigènes d'histocompatibilité dans les fractions cytoplasmiques des leucocytes qui contiennent à la fois des membranes endoplasmiques et des ribosomes.

L'étude des sérums de trois individus hyperimmunisés par greffe de peau d'un même donneur a permis de montrer l'apparition d'anticorps circulants anti-leucocytaires et plaquettaires. Ces deux anticorps étant distincts l'un de l'autre. La localisation intra-cytoplasmique de l'antigène leucocytaire réagissant avec ces anticorps est en cours.

Les iso-anticorps anti-plaquettaires sont décelés dans 8 % des sérums des malades polytransfusés et 2 % des sérums des femmes multipares, grâce à la technique de fixation du complément sur plaquettes (73).

L'importance pratique de ces anticorps est grande puisque ce sont eux qui raccourcissent la durée de vie des plaquettes transfusées à ces malades. Comme pour les hématies, il serait souhaitable chez eux de choisir pour un test de comptabilité croisée, préalable à la transfusion, la variété de plaquettes utilisées (70). Ils sont également responsables de quelques cas de purpura-thrombopénique du nouveau-né, comme nous avons pu en étudier un dû à l'anti-Ko (48). On ne sait encore s'ils aideront, comme les anticorps anti-leucocytaires au choix du meilleur donneur d'organe ou de moelle.

Les auto-anticorps anti-leucocytaires et plaquettaires sont décelés dans 20 à 40 % des cas de maladie idiopathique cytopénisante, grâce aux techniques de consommation de l'antiglobuline sur leucocytes et sur plaquettes. Seul le test direct pratiqué sur les propres leucocytes et plaquettes des malades permet d'affirmer qu'il s'agit d'auto-anticorps, la signification de ces substances n'est pas encore connue (39, 45, 69). Il peut s'agir de simple conséquence d'une altération plaquettaire ou leucocytaire sans rôle pathogène.

La localisation intra-cytoplasmique des antigènes correspondant à montrer en ce qui concerne les leucocytes qu'elle était microsomiale. D'autres études sont en cours, en particulier pour localiser les antigènes en jeu dans le lupus érythémateux.

Les anticorps « allergiques » sont mis assez rarement en évidence mais il y a quelques cas pour lesquels la prise d'un médicament a entraîné en quelques heures un accident dramatique quoique fugace (à condition que l'administration du médicament soit cessée) il a été possible de caractériser ce type d'anticorps. Il en est rencontré parfois contre les hématies (anémies hémolytiques au PAS (74), à la phénacétine), contre les leucocytes (agranulocytose au pyramidon) ou contre les plaquettes (purpura thrombopénique à la quinine, quinidine, etc.). L'importance diagnostique de telle recherche et leur importance pratique pour la prévention de tels accidents est évidente (34).

Sur ce travail sérologique est venu se greffer un travail de documentation qui pourra rendre service : l'établissement d'un véritable dictionnaire des produits médicamenteux capables d'entraîner des accidents sanguins.

Les groupes sériques ont indépendamment été étudiés à l'aide d'antiglobulines « individuelles » (32,49) c'est-à-dire préparés contre les gammaglobulines d'un seul individu. Ces réactifs ont permis de décrire des déterminants antigéniques nouveaux.

IMMUNO-CHIMIE

Maxime Seligmann

Les travaux du laboratoire d'Immuno-Chimie ont surtout porté sur quatre sujets.

1. Études sur les antigènes leucocytaires et plaquettaires (1, 2, 3, 6, 8, 13)

Ces études ont comporté la mise au point de techniques originales permettant la préparation d'extraits de leucocytes normaux et leucémiques dans des conditions satisfaisantes pour des études immunologiques. Elles ont permis de dénombrer par des techniques immunochimiques (double diffusion en milieu gélifié et analyse immuno-électrophorétique) 12 antigènes solubles dans les leucocytes normaux. La comparaison entre antigènes des leucocytes normaux et antigènes des leucocytes leucémiques, effectuée à l'aide d'antisérums hétérologues, n'a pas permis de mettre en évidence un antigène spécifique des cellules leucémiques. Au contraire, les leucoblastes leucémiques et les lymphocytes de leucémie lymphoïde chronique sont plus pauvres en antigènes que les leucocytes normaux. D'autre part, la présence, en concentration très minime, dans le sérum humain normal, de certains des antigènes leucocytaires solubles a été démontrée. La teneur du sérum en antigènes leucocytaires est considérablement augmentée dans la leucémie myéloïde chronique.

D'autre part, on a pu mettre en évidence, dans des extraits de plaquettes humaines soumises à un grand nombre de lavages, la présence d'un constituant ayant la spécificité antigénique du fibrinogène et en possédant les propriétés caractéristiques. La démonstration de ce fibrinogène très intimement liée aux plaquettes ne pouvait être effectuée que par les

techniques immuno-chimiques. Cette constatation a mené à de fructueux développements dans le domaine de l'hématose.

2. Études sur les anticorps antinucléaires et sur les anomalies immunologiques du lupus érythémateux disséminé (7, 9, 11, 17, 59, 60, 93)

De multiples travaux ont été consacrés à la détection et à l'étude des anticorps antinucléaires. Parmi ces anticorps, il a été possible d'individualiser et d'isoler des anticorps réagissant avec l'acide désoxyribonucléique. Certaines propriétés de ces anticorps anti-acide désoxyribonucléique ont été définies. Etant donné que l'acide désoxyribonucléique était considéré comme une substance peu ou non antigénique, cette constatation avait un grand intérêt théorique. En outre, la présence d'anticorps anti-acide désoxyribonucléique dans le sérum a une valeur considérable pour le diagnostic de lupus érythémateux disséminé. Quelle que soit la technique utilisée pour la mise en évidence de ces anticorps (précipitation, fixation du complément, floculation des particules de bentonite), les réactions positives sont très exceptionnelles en dehors du lupus. Mais la présence de ces anticorps est inconstante au cours du lupus. L'incidence des diverses variétés d'anticorps antinucléaires (en particulier anticorps antinucléoprotéine et anticorps décelés par l'immuno-fluorescence) a été appréciée dans toute une série d'affections : ces auto-anticorps sont trouvés avec une fréquence inhabituelle, dans la polyarthrite chronique évolutive, la sclérodermie, les myasthénies, les anémies érythroblastopéniques pures avec tumeur thymique, les purpuras hyperglobulinémiques de Waldenström, certaines variétés de leucémies lymphoïdes chroniques et enfin chez des sujets bien portants mais âgés. Divers travaux ont tenté de préciser l'intérêt clinique et physiopathologique de ces constatations.

3. Etudes sur les anomalies des immunoglobulines dans diverses hémopathies malignes (25, 36, 61, 92)

Une première série de travaux a été consacrée à l'analyse immuno-électrophorétique des immunoglobulines dans les différentes variétés de leucémies. Dans les leucémies aiguës, les perturbations sont fréquentes mais variables : augmentation des diverses immunoglobulines surtout observée dans les leucémies aiguës monocytaires, profonde diminution, soit de la β 2 A globuline, soit des diverses γ et β 2 globulines dans certaines leucémies lymphoblastiques. Une observation de leucémie aiguë lymphoblastique avec un déficit aussi important que celui des « agammaglobulinémies acquises » a été recueillie au cours de cette étude. Dans les leucémies myéloïdes chroniques, l'hyperagammaglobulinémie n'est pas exceptionnelle. Dans les leucémies lymphoïdes chroniques, on peut distinguer

deux groupes de malades : le plus souvent, il existe soit une diminution de toutes les variétés d'immunoglobulines, soit une diminution élective de la β 2 A globuline. A l'inverse, dans bon nombre non négligeable de cas, on observe une franche augmentation des immunoglobulines, soit globale, soit élective. Il est possible que ces cas représentent une entité particulière à l'intérieur du cadre confus des leucémies lymphoïdes chroniques.

Plus récemment, une étude systématique du sérum des membres de la famille de malades atteints de macroglobulinémie de Waldenström a été entreprise. Cette étude a permis de déceler dans 6 familles sur 62, une incidence familiale de la macroglobulinémie. Tantôt, il s'agit d'une macroglobulinémie avec anomalies cliniques et hématologiques, tantôt d'une macroglobulinémie pathologique (avec tous les caractères d'une « paraprotéine ») mais asymptomatique. En outre, on note dans les familles de ces malades une incidence anormalement élevée de déficits en immunoglobuline d'une part, de facteurs anti- γ -globuline (type facteur rhumatoïde) d'autre part. L'ensemble des constatations effectuées au cours de cette étude permet de conclure qu'il existe certainement une anomalie génétique, dans au moins certains cas de maladie de Waldenström. Comme l'étude comparative des propriétés de la macroglobuline chez plusieurs membres atteints dans une même famille a montré des différences nettes, il ne s'agit probablement pas d'une anomalie d'un gène de structure. L'anomalie génétique porte probablement sur un gène contrôlant soit la synthèse des immunoglobulines, soit la différenciation des cellules immunologiquement compétentes.

4. Études immunologiques sur la fibrinolyse (21, 23, 26, 27)

Le fractionnement des produits de la dégradation du fibrinogène et de la fibrine par la plasmine a permis de séparer 5 constituants distincts. L'étude immunochimique a montré que les deux constituants majeurs ont des propriétés très différentes et que la molécule de fibrinogène humain porte au moins 5 déterminants antigéniques distincts réagissant avec des anticorps différents, présents chez les animaux immunisés par le fibrinogène humain. L'analyse immuno-électrophorétique a, en outre, permis d'étudier les produits formés à des stades précoces de la dégradation du fibrinogène par la plasmine. Ces constatations peuvent être utilement appliquées sur le plan clinique : les méthodes immunochimiques permettent d'apprécier la teneur du sérum des malades en produits de dégradation, constituant ainsi une nouvelle méthode de diagnostic et d'étude de la fibrinolyse surveillant dans diverses conditions pathologiques.

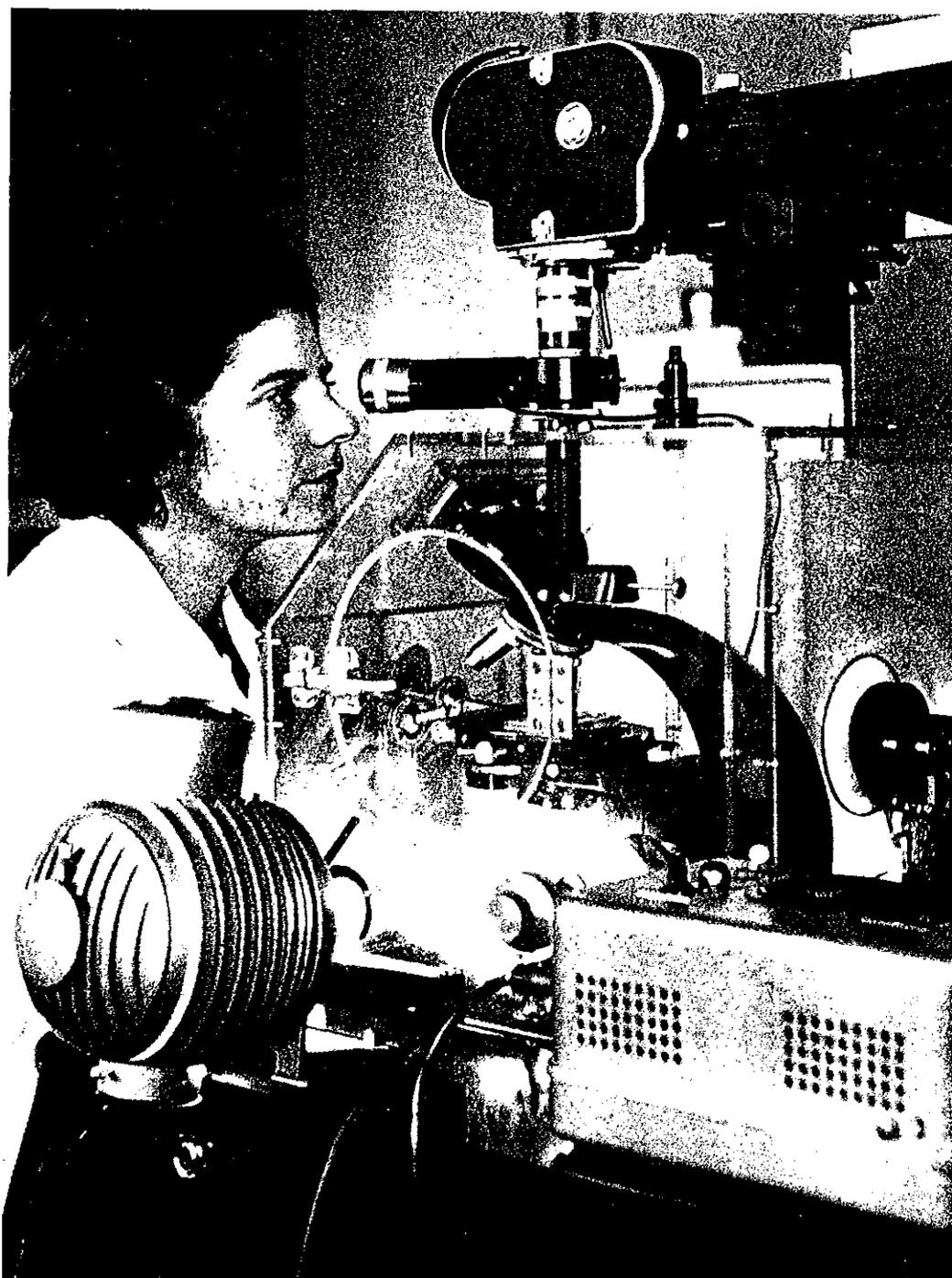


FIGURE 2. Contrôle d'une prise de vues au microcinéma en contraste de phase.

HÉMOSTASE

Les travaux du laboratoire d'Hémostase ont principalement porté sur trois sujets de recherches.

1. Étude de la physio-pathologie de la maladie de Willebrand

Poursuivant les travaux commencés en Suède par Nilsson et ses coll., nous avons pu montrer (19, 23, 41, 47, 75) que le temps de saignement, un des paramètres les plus fondamentaux de la maladie de Willebrand, était amélioré rapidement mais brièvement après transfusion. Il apparaissait dès lors qu'il existait dans le plasma un facteur indispensable à la normalisation du temps de saignement. En outre, le plasma normal et mieux le plasma d'hémophile A sont capables de faire augmenter tardivement et durablement le taux de facteur antihémophilique chez le malade atteint de maladie de Willebrand. Les hypothèses avancées et actuellement confirmées montraient qu'il existe une synthèse du facteur antihémophilique A chez le malade atteint de maladie de Willebrand.

Connaissant le rôle des nucléotides à bas poids moléculaire (ADP) dans l'agrégation plaquettaire après les travaux de Hellem et Gaarder, étant donné l'action compétitive d'autres nucléotides comme l'ATP et l'AMP., nous avons pu montrer que le rapport ATP/ADP est anormalement haut par élévation du taux d'ATP dans le plasma riche en plaquettes de maladie de Willebrand (30, 42). L'ADP est capable de provoquer l'agrégation des plaquettes qui peut être mesurée en photométrie. Cette technique nous a permis de mettre au point une méthode de différenciation de la maladie de Willebrand. En effet, lorsque l'on ajoute de faibles doses d'ADP au plasma riche en plaquettes de maladie de Willebrand on obtient une élévation paradoxale de la densité optique qui s'oppose à la diminution retrouvée chez le normal et chez le malade atteint d'hémophilie A (65, 84, 97). Nous avons tenté par des moyens immuno-chimiques de différencier le facteur plasmatique participant à la normalisation du temps de saignement et le profacteur du facteur VIII existant chez l'hémophile A. A ce propos, nous avons immunisé des lapins et à l'aide d'anti-serum anti-plasma total d'hémophile A, nous avons pu apercevoir un dédoublement de la ligne des gamma-globulines chez les hémophiles et habituellement chez les sujets normaux. Par contre, chez les sujets atteints de maladie de Willebrand, nous n'avons jamais obtenu ce dédoublement de la ligne des gamma-globulines (98, 99).

2. Etude des thrombopathies

L'étude des thrombopathies a été menée dans deux voies :

1. *Etude de la dystrophie thrombocytaire hémorragipare* (5). Dans cette maladie il a été montré que les phospholipides actifs dans la coagulation ne se retrouvent pas. Les études comparatives faites avec différentes sortes de thrombopathies semblent montrer que les atteintes plaquettaires peuvent être de plusieurs ordres sur le plan fonctionnel phospholipidique (4). Un état des travaux sur ce sujet a fait l'objet d'un rapport au Congrès Européen d'Hématologie de Lisbonne (40).

2. *Thrombasthénie*. L'étude clinique, génétique et biologique de cinq ans de thrombasthénie a été faite après les travaux de Gross. Elle a montré (24) que le métabolisme glycolytique des plaquettes était, à vrai dire, rarement perturbé (un cas sur cinq). L'étude d'une thrombasthénie expérimentale a permis (43) de montrer que le trouble de rétraction du caillot évolue parallèlement à l'adhésion de plaquettes à la fibrine. Tout naturellement ces études nous ont amenés à étudier avec le laboratoire de M. Seligmann par des moyens immunochimiques le contenu en fibrinogène des plaquettes thrombasthéniques. Il a été montré que fréquemment le fibrinogène retrouvé sur les plaquettes thrombasthéniques était diminué (86).

3. Etude du métabolisme plaquettaire

1. *Etudes isotopiques*. Les études isotopiques ont été menées en utilisant le chrome 51 dans plus de trois cents cas de purpuras thrombopéniques en collaboration avec le laboratoire des Isotopes du Docteur Najean. Il a été montré (55) que la durée de vie des plaquettes était très diminuée au cours du purpura thrombopénique et que les mesures de la radio-activité sur la rate et le foie pouvaient peut-être permettre de faire des splénectomies avec plus de chances de succès que précédemment.

2. *Etude des effets des irradiations sur les plaquettes sanguines « in vitro »*. Nous avons pu montrer qu'à petites doses les irradiations étaient capables (44) de modifier l'agrégation spontanée des plaquettes de réduire le contenu en nucléotides des plaquettes sanguines. Les études enzymatiques, singulièrement sur les phosphatases (85), ont permis de confirmer l'hypothèse selon laquelle les radiations agissent par l'intermédiaire des activités enzymatiques phosphatasiques.

3. *Etudes des phosphatases*. Les études des phosphatases plaquettaires sont actuellement menées intensivement sur les plaquettes lyophilisées, études des pyrophosphatases, des β glycérophosphatases, des A T passes, des A D passes (100).

ISOTOPES

Le laboratoire des Isotopes a été fondé il y a sept ans pour apporter à la clinique hématologique l'aide des techniques isotopiques alors connues. En fait, l'exceptionnel outil que constituent les méthodes de marquage ont amené à étendre l'activité du laboratoire aux problèmes de physiologie et de pathologie concernant la durée de vie des éléments figurés du sang et leur production médullaire. L'activité du laboratoire, depuis sa fondation, a comporté les chapitres suivants :

1. Mise au point et applications des tests isotopiques à la clinique.
2. Etude de la production médullaire érythropoïétique et surtout du métabolisme.
3. Etudes chimiques liées à la vie des érythrocytes.

Applications cliniques des tests isotopiques

Un certain nombre de tests isotopiques, déjà mis au point par des laboratoires étrangers, ont été utilisés en clinique humaine, parfois en les modifiant ou en les perfectionnant : étude de la durée de vie des hématies marquées par le radiochrome et le D.F.P., mesure de l'absorption de la vitamine B12 marquée par la technique de Schilling, mesure isotopique du volume sanguin, mesure de l'hémorragie digestive à partir de l'injection d'érythrocytes marqués.

D'autres tests ont été mis au point dans ce laboratoire. La mesure de la vitesse de circulation médullaire pourrait être utile pour le diagnostic des myélo-fibroses et myélo-scléroses (56). Le dosage isotopique de la siderurie a pu être mis au point. La mesure de l'absorption digestive du fer ionique ou protéinique par une méthode de double marquage isotopique a rendu des services pour l'étude des anémies hypochromes. Surtout, on a pu mettre au point une technique de marquage des plaquettes qui a apporté de nombreux enseignements dans l'étude du purpura thrombopénique (diagnostic, indication de la splénectomie) (20, 55, 87).

Les techniques à l'étude sont les suivantes : tentative de marquage «in vitro» des leucocytes par le radiochrome cherchant à mesurer le volume des compartiments de réserve et la durée de séjour intravasculaire des polynucléaires ; tentative de double marquage des plaquettes (plaquettes étrangères par le radiochrome «in vitro» et plaquettes propres du malade par le D.F.P. 32) ; étude de la durée de vie du fibrinogène par marquage à l'iode 131. Enfin les isotopes sont utilisés en thérapeutique et notamment le phosphore 32.

d'amidon, dosage chimique de la sidérurie permettant de juger de l'effet des chélateurs, détection et dosage de méthémoglobinémie et de sulfhémoglobinémie.

Les anomalies enzymatiques des hématies sont recherchées par des dosages spécifiques (glucose-6-phosphate déshydrogénase, glutathion réduit et sa stabilité, 6-phospho-gluconate déshydrogénase, pyruvatekinase, phosphogluco-mutase, diaphorase, acétyl-cholinestérase, etc.), ou par des mesures à la fois plus globales et plus complexes (respiration en Warburg en présence ou non de bleu de méthylène, réduction de méthémoglobine en présence d'activateurs de la génération du DPNH et TPNH, génération d'acide lactique, consommation de glucose marqué sur certains atomes de carbone).

Les isotopes ont servi à mettre au point divers dosages physiologiques : dosage, « in vitro », du facteur intrinsèque gastrique humain sur poudre d'intestin de cobaye lyophilisé, dosage d'activité érythropoïétique du sérum sur le rat à jeun. D'autres sont à l'étude : mesure de la teneur en vitamine B 12 du sérum, mesure, « in vitro », sur cultures de moelle de rat de l'activité érythropoïétique du sérum.

BIBLIOGRAPHIE

1955

- 1 GRABAR P., SELIGMANN et BERNARD J. Méthodes de préparation d'extraits leucocytaires et de sérums antileucocytaires susceptibles d'être utilisés pour des études immuno-chimiques. *Annls Inst. Pasteur, Paris*, 88, 1955, 548.
- 2 SELIGMANN M., GRABAR P. et BERNARD J. Etudes sur la constitution antigénique des leucocytes normaux et leucémiques par les méthodes de précipitation spécifiques en milieu gélifié. *Sang*, 26, 1955, 52.

1956

- 3 SELIGMANN M. Mise en évidence d'antigènes leucocytaires dans le sérum humain normal et dans certains sérums de leucémiques. *C.r. heb. Séanc. Acad. Sci., Paris*, 243, 1956, 531.

1957

- 4 CAEN J. et BERNARD J. Les facteurs thromboplastiques plaquettaires. *Rev. fr. étud. clin. bio.*, 11, 1957, 10.
- 5 BERNARD J., CAEN J. et MAROTEAU P. La dystrophie thrombocytaire hémorragique congénitale. *Rev. Hémat.*, 12, 1957, 222.
- 6 SELIGMANN M. Mise en évidence d'un constituant ayant l'antigénicité du fibrinogène dans les extraits de plaquettes humaines lavées. *C.r. heb. Séanc. Acad. Sci., Paris*, 244, 1957, 2192.
- 7 SELIGMANN M. Mise en évidence dans le sérum de malades atteints de lupus érythémateux disséminé d'une substance déterminant une réaction de précipitation avec l'acide désoxyribonucléique. *C.r. heb. Séanc. Acad. Sci., Paris*, 245, 1957, 243.
- 8 SELIGMANN M., GOUEMAND M., JANIN A., BERNARD J. et GRABAR P. Etudes immuno-chimiques sur la présence de fibrinogène dans des extraits de plaquettes humaines lavées et dans certains extraits leucocytaires. *Rev. Hémat.* 12, 1957, 302.
- 9 SELIGMANN M. et MILGRON F. Mise en évidence par la fixation du complément de la réaction entre acide désoxyribonucléique et sérum de malades atteints de lupus érythémateux disséminé. *C.r. heb. Séanc. Acad. Sci., Paris*, 245, 1957, 1472.

1958

- 10 NAJEAN Y., MEENS-BITH L. et GREMY F. Appréciation quantitative de l'érythropoïèse à partir de la détermination de la durée de vie des hématies autotransfusées marquées au chrome. *Rev. fr. Etud. clin. biol.*, 3, 1958, 1011.
- 11 SELIGMANN M. Etudes immunologiques sur le lupus érythémateux disséminé. *Rev. fr. Etud. clin. biol.*, 3, 1958, 558.
- 12 SELIGMANN M. Possibilité d'étude immuno-chimique de la fibrinolyse. *Rev. fr. Etud. clin. biol.*, 3, 1958, 1073.

1959

- 13 MILGROM F., SELIGMANN M. et BERNARD J. Etudes sur la constitution antigénique des leucocytes humains normaux et leucémiques par la technique de fixation du complément. *Rev. Hémat.*, 14, 1959, 309.
- 14 NAJEAN Y. et BOIRON M. Utilisation du fer radio-actif pour le calcul de l'érythropoïèse. Désaccord des résultats fournis par cette technique avec les données classiques du métabolisme du fer. *Rev. fr. Etud. clin. biol.*, 4, 1959, 72.
- 15 NAJEAN Y., LARRIEU M.-J. et BERNARD J. Etude de la survie des plaquettes par la méthode de marquage au radiochrome. *Rev. fr. Etud. clin. biol.*, 4, 1959, 1071.
- 16 NAJEAN Y., MEENS-BITH L., BERNARD C., BOIRON M., BOUSSER J. et BERNARD J. Exploration isotopique de l'érythrocinétique dans trente et un cas de pancytopenie idiopathique à moelle histologiquement normale ou riche. *Sang*, 30, 1959, 101.
- 17 SELIGMANN M. La spécificité des réactions sérologiques du lupus érythémateux disséminé et les anticorps anti-acide désoxyribonucléique. *Immunopathologie* (1^{er} Symposium International, Seelisberg, 1958) Bâle, Benno Schwabe, 1959, p. 402.
- 18 SELIGMANN M., ALAIS L. et BERNARD J. L'analyse immuno-électrophorétique du sérum de cent malades atteints de leucoses. *Rev. fr. Etud. clin. biol.*, 4, 1959, 901.

1960

- 19 CORNU P., LARRIEU M.-J., CAEN J. et BERNARD J. Données nouvelles concernant la maladie de Willebrand (angiohémophilie). *Rev. fr. Etud. clin. biol.*, 6, 1960, 5.
- 20 NAJEAN Y., ARDAILLOU R. et BERNARD J. Etude de l'influence du plasma sur l'utilisation globulaire du fer « in vitro ». *Rev. fr. Etud. clin. biol.*, 5, 1960, 783.
- 21 NUSSENZWEIG V. et SELIGMANN M. Analyse par des méthodes immuno-chimiques de la dégradation par la plasmine du fibrinogène humain et de la fibrine à différents stades. *Rev. Hémat.*, 15, 1960, 451.

1961

- 22 CHANY Ch. et THOMAS M. Culture des cellules « in vitro » à la température centrale des animaux homéothermes et dans les zones hyperthermiques. *C.r. hebéd. Séanc. Acad. Sci., Paris*, 253, 1961, 579.
- 23 CORNU P., LARRIEU M.-J., CAEN J., BERNARD J. Maladie de Willebrand. Etude clinique, génétique et biologique. *Nouv. Rev. fr. Hémat.*, 1, 1961, 231.
- 24 LARRIEU M.-J., CAEN J., LELONG J.-C. et BERNARD J. Maladie de Glanzmann. Etude clinique, génétique et biologique. *Nouv. Rev. fr. Hémat.*, 1, 1961, 231.
- 25 SELIGMANN M. et HAMARD M. Modifications des protéines sériques au cours des leucoses lymphoïdes chroniques. *Nouv. Rev. fr. Hémat.*, 1, 1961, 755.
- 26 NUSSENZWEIG V., PELMONT J., SELIGMANN M. et GRABAR P. Les produits de dégradation du fibrinogène humain par la plasmine. I. Séparation et propriétés physico-chimiques. *Annls Inst. Pasteur, Paris*, 100, 1961, 377.
- 27 NUSSENZWEIG V., SELIGMANN M. et GRABAR. Les produits de dégradation du fibrinogène humain par la plasmine. II. Etude immunologique. Mise en évidence d'anticorps anti-fibrinogène ratif possédant des spécificités différentes. *Annls Inst. Pasteur, Paris*, 100, 1961, 490.

1962

- 28 ATANASIU P., ORTH G., REBIÈRE J.-P., BOIRON M. et PAOLETTI C. Production de tumeurs chez le hamster par inoculation d'acide désoxyribonucléique extrait de cultures infectées par le virus de polyome. *C.r. Acad. Sci., Paris*, 254, 1962, 4228.

- 29 BOIRON M., PAOLETTI C., THOMAS M., REBIÈRE J.-P. et BERNARD J. Acide désoxyribonucléique infectieux extrait de cultures de cellules de rein de singe Babouin infectées par le virus SV40. *C.r. Acad. Sci., Paris*, 254, 1962, 2097.
- 30 CAEN J. et COUSIN C. Le trouble d'adhésivité « in vivo » des plaquettes dans la maladie de Willebrand et les thrombasthénies de Glanzmann. Essai d'interprétation. *Nouv. Rev. fr. Hémat.* 2, 1962, 685.
- 31 CHANY CH. et THOMAS M. Homeothermic cell culture « in vitro ». *Am. J. Dis. Child.*, 103, 1962, 149.
- 32 DAUSSET J., COLOMBANI J. et COLOMBANI M. Les Antiglobulines « Individuelles » *Nouv. Rev. fr. Hémat.*, 2, 695.
- 33 DAUSSET J. Leucocytes, platelets and human homografts. *Vox Sang.*, 7, 1962, 257.
- 34 MAGIS C., THIERFELDER ST., SAINT-PAUL M. et DAUSSET J. Etude sérologique d'une agranulocytose allergique à l'aminopyrine. *Nouv. Rev. fr. Hémat.* 2, 1962, 602.
- 35 NAJEAN Y. Etude du métabolisme du fer, « in vivo » et « in vitro », dans l'anémie hypochrome hyposidérémique. Volume, siège et mouvements des compartiments pré-hémiques du fer. *Nouv. Rev. fr. Hémat.* 2, 1962, 39.
- 36 SELIGMANN M. et BADIN J. Etude immuno-chimique de la fibrinolyse. *Rapport du 8^e Congrès Européen d'Hématologie*, Vienne 1961, Bâle, Karger, 1962, p. 210.
- 37 SELIGMANN M. et J. BADIN. β 2-macroglobulinémie familiale. *Rev. fr. Etud. clin. biol.*, 7, 1962, 1107.

1963

- 38 AUBIN G., CHENAILLE P., LAMONTHÉZIE N. et PAOLETTI C. Extraction de l'acide désoxyribonucléique de différents tissus par emploi de la papaine. *Bioch. Bioph. Acta.*, 72, 1963, 456.
- 39 BERAH M. et DAUSSET J. The Use of the Inverted Microscope in leuco-agglutination. *Vox Sang.*, 8, 371.
- 40 CAEN J. Adhésion et agrégation des plaquettes dans les thrombopathies. IXth Congr. Ste. Europ. Haemat., Lisbonne, 1963.
- 41 CAEN J. Effect of normal and hemophilic plasma on AHG activity and long bleeding time in von Willebrand's disease. Vth Annual Meeting, American Society of Hematology, Washington, Brinkhous, 1963, p. 8.
- 42 CAEN J. Ratio Adenosine Triphosphate/Adenosine Diphosphate in Platelet-rich Plasma in Haemorrhagic Disorders von Willebrand and Glanzmann disease). *Nature, Lond.* 197, 1963, 504.
- 43 CAEN J., LASNERET J. et MICHEL H. Etude microscopique du caillot normal et pathologique (les thrombasthénies constitutionnelles et expérimentales). Effet du magnésium et de l'ATP. *Nouv. Rev. fr. Hémat.*, 3, 1963, 251.
- 44 CAEN J., MICHEL H., BOURDON R., VAINER H. et BERNARD J. Effets des radiations « in vitro » sur les plaquettes sanguines (Note préliminaire). *Comm. Soc. fr. Hémat.* 16, 1963, 12.
- 45 CARDINAUD R., TAKASHIMA K., DAUSSET J. et FROMAGEOT P. Triation d'une Anti- γ Globuline et dosage radiochimique. *Int. J. appl. Radiat. Isotopes*, 15, 1963, 1.
- 46 COLOMBANI J., DAUSSET J. et PREAUX J. Homogreffes de peau chez l'homme en relation avec les iso-antigènes leucocytaires. *Nouv. Rev. fr. Hémat.*, 3, 1963, 449.
- 47 CORNU P., LARRIEU M.-J., CAEN J. et BERNARD J. Transfusion studies in von Willebrand's disease : Effect on bleeding time and factor VIII. *Brit. J. Haemat.*, 9, 1963, 182.
- 48 DAUSSET J. et BERG J. Un nouvel exemple d'anticorps antiplaquettaire Ko. *Vox Sang.*, 8, 1963, 341.

- 49 DAUSSET J., COLOMBANI J. et COLOMBANI M. Etude de nouveaux groupes sériques à l'aide des « antiglobulines individuelles », 3, 1963, 567.
- 50 FRIEDMANN J.-Ch., LÉVY J.-P., LASNERET J., THOMAS M., BOIRON M. et BERNARD J. Induction de fibromes sous-cutanés chez le hamster doré par inoculation d'extraits acellulaires de papillomes bovins. *C.r. hebdomadaire Séances Acad. Sci., Paris*, 257, 1963, 2328.
- 51 KUMMER H. Radioisotopen untersuchungen bei des paroxysmalen nächtlichen hämoglobinurie. *Schw. Med. Wochenschr.*, 93, 1963, 1506.
- 52 LÉVY J.-P., BOIRON M., HAGUENAU F., HOLLMANN K., THOMAS M. et FRIEDMANN J.-Ch. Etude au microscope électronique par coloration négative du virus de la papillomatose bovine. *J. Microsc.*, 2, 1963, 175.
- 53 NAJEAN Y. et ARDAILLOU N. Technique de dosage de l'absorption digestive du fer à l'aide d'un indicateur inerte radio-actif. *Nouv. Rev. fr. Hémat.*, 3, 1963, 82.
- 54 NAJEAN Y., ARDAILLOU N. et BERNARD J. Etude des compartiments non héminiques du fer. I. Explorations faites « in vivo ». *Nouv. Rev. fr. Hémat.*, 3, 1963, 17.
- 55 NAJEAN Y., ARDAILLOU N., CAEN J., LARRIEU M.-J. et BERNARD J. Survival of radiochromium-labeled platelets in thrombocytopenia. *Blood*, 22, 1963, 718.
- 56 NAJEAN Y. et CLÉMENT F. Etude de la circulation médullaire chez l'homme par une technique isotopique. *Nouv. Rev. fr. Hémat.*, 3, 1963, 133.
- 57 PAOLETTI C., ORTH G., BOIRON M., LAMONTHEZIE N. et ATANASIU P. Etude sur l'extraction et le pouvoir infectieux « in vitro » de l'acide désoxyribonucléique du virus du polyome. *Annals Inst. Pasteur, Paris*, 104, 1963, 717.
- 58 POURREAU-SCHNEIDER N., BERNARD C., BOIRON M. et WOLFF E. Comportement de la moelle osseuse humaine normale et leucémique associée au rein embryonnaire de poulet en culture organo typique. *Exp. Cell. Research*, 32, 1963, 51.
- 59 SELIGMANN M. Anti D.N.A. antibodies. *Arthr. Rheum.*, 6, 1963, 542.
- 60 SELIGMANN M. Antinuclear antibodies in disseminated lupus erythematosus. *Immunological Methods*, Oxford, Blackwell, 1963.
- 61 SELIGMANN M., DANON F. et FINE J.-M. Immunological studies in familial β 2-macroglobulinemias. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 114, 1963, 482.
- 62 TANZER J., STOTTCHKOV Y., HAREL P. et BOIRON M. Chromosomal abnormalities in measles. *Lancet*, 16 novembre 1963, 1070.
- 63 THOMAS M., LÉVY J.-P., TANZER J., BOIRON M. et BERNARD J. Transformation « in vitro » de cellules de peau de veau embryonnaire sous l'action d'extraits acellulaires de papillomes bovins. *C.r. hebdomadaire Séances Acad. Sci., Paris*, 257, 1963, 2155.
- 64 THOMAS M., TANZER J., LÉVY J.-P., BOIRON M. et BERNARD J. Transformation « in vitro » de cellules d'embryons de hamster par le virus SV40. *C.r. hebdomadaire Séances Acad. Sci., Paris*, 257, 1963, 2573.
- 65 VALNER H. et CAEN J. Utilisation d'un test photométrique pour l'étude de l'effet de l'ADP sur les plaquettes sanguines. *Nouv. Rev. fr. Hémat.*, 3, 1963, 1149.

1964

- 66 CHAVELET F., NAJEAN Y., RAVAILLEAU J., GRENET P. et BERNARD J. Etude d'un cas d'anémie pernicieuse de l'enfant avec activité « facteur intrinsèque » normale du suc gastrique. *Nouv. Rev. fr. Hémat.*, 4, 1964, 311.
- 67 CHENAÏLLE Ph., LÉVY J.-P., BOIRON M. et BERNARD J. Isolement du virus de la leucémie murine de Rauscher dans un gradient de densité de chlorure de césium. *C.r. hebdomadaire Séances Acad. Sci., Paris*, 258, 1964, 3129.
- 68 COLOMBANI J., COLOMBANI M. et DAUSSET J. Antigènes leucocytaires et greffes. Vith Transplantation Conference N.Y. févr. 1964. (non publié).
- 69 DAUSSET J. Les leucopénies par auto-immunisation. Auto-immunity Conference. N.Y. févr. 1964 (non publié).

- 70 DAUSSET J. et COLOMBANI J. Réactions immunologiques au cours du purpura thrombopénique idiopathique. *Sem. Hôp.*, 40, 1964, 387.
- 71 DAUSSET J., COLOMBANI J., FEINGOLD N. et RAPAPORT F. Un système de groupe leucocytaire et ses rapports avec l'histocompatibilité. 1964 (non publié).
- 72 DAUSSET J., RAPAPORT F.-T. et MACHADO-CAETANO J.-A. Relation entre la transplantation tissulaire et les antigènes leucocytaires et plaquettaires chez l'homme. Washington 1964 (non publié).
- 73 DAUSSET J. et TANGUN Y. Iso-anticorps antiplaquettaires décelés par fixation du complément. *Transfusion* (1964) à paraître.
- 74 DAUSSET J. et THIERFELDER, St. Spezifitäts unterschiede bei allergischen anti-PAS antikörpern. *Klin. Wschr.*, 42, 1964, 272.
- 75 LARRIEU M.-J. Congenital haemorrhagic disorders with normal platelet count and prolonged bleeding time. Xth Congr. Ste. Hemat., Stockholm, 1964.
- 76 LÉVY J.-P., BOIRON M. et BERNARD J. Ultrastructure of Rauscher virus. *J. natn. Cancer Inst.*, sous presse.
- 77 BERG P. et DAUSSET J. Survival time of skin grafts in rabbits compared with results obtained from an investigation of leucocyte intradermal tests. *Nature, Lond.*, 202, 1964, 1334.
- 78 BERNARD C., GERALDES A. et BOIRON M. Action de la phytohéماغglutinine « in vitro » sur les lymphocytes de leucémies lymphoïdes chroniques. *Nouv. Rev. fr. Hémat.*, 4, 1964, 69.
- 79 BERNARD C., GERALDES A. et BOIRON M. Effects of phytohaemagglutinin on blood-cultures of chronic lymphocytic leukaemias. *Lancet*, 1 (7334), 1964, 667.
- 80 BOIRON M., LASNERET J., LÉVY J.-P. et BERNARD J. Histogenesis of Rauscher leukemia. *J. natn. Cancer Inst.*, sous presse.
- 81 BOIRON M., LÉVY J.-P. et THOMAS M. Acide desoxyribonucléique oncogène extrait du virus SV40. *Annls Inst. Pasteur, Paris*, sous presse.
- 82 BOIRON M., LÉVY J.-P., THOMAS M., FRIEDMANN J.-C. et BERNARD J. Some properties of Bovine Papilloma Virus. *Nature, Lond.*, 201, 1964, 423.
- 83 BOIRON M., THOMAS M. et CHENAILLE Ph. A biological property of DNA extracted from bovine papillomatosis virus. *Virology*, sous presse.
- 84 CAEN J. Diagnosis of von Willebrand disease. Comm. to the Information Exchange group (Hemostasis), Bethesda, June 1964.
- 85 CAEN J., COUSIN C. et VAINER H. Observation non publiée.
- 86 CASTALDI P., CAEN J. et SELIGMANN M. Fibrinogen of thrombasthenic platelets. Xth Congr. Ste. Int. Hemat., Stockholm, 1964.
- 87 NAJEAN Y. et ARDAILLOU N. Etude de la durée de vie des plaquettes marquées au radiochrome dans le purpura thrombopénique. *Sem. Hôp., Paris*, 40, 1964, 395.
- 88 NAJEAN Y., ARDAILLOU N. et MULMANN M. Etude des compartiments non héminiques du fer. II. Cinétique du fer et synthèse héminique « in vitro » dans le réticulocyte normal. *Nouv. Rev. fr. Hémat.*, 4, 1964, 31.
- 89 NAJEAN Y., ARDAILLOU N., MULMANN M. et BERNARD J. Etude des compartiments non héminiques du fer. III. Cinétique du fer et synthèse héminique « in vitro » dans le réticulocyte pathologique. *Nouv. Rev. fr. Hémat.*, 4, 1964, 55.
- 90 ORTH G., ATANASIU P., BOIRON M., REBIÈRE J.-P. et PAOLETTI C. Infectious and oncogenic effects of DNA extracted from cells infected with polyoma virus. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 115, 1964, 1090.
- 91 PERIES J., LÉVY J.-P., BOIRON M. et BERNARD J. Multiplication of Rauscher virus in cultures of mouse kidney cells. *Nature, Lond.*, 203, 1964, 672.
- 92 SELIGMANN M., DANON F. et MIHAESKO C. Families studies in macroglobulinemia. X^e Congr. Int. Hémat., Stockholm, Maakesgaard, 1964.

- 93 SELIGMANN M., HUREZ D. et CANAT A. Studies on antinuclear antibodies in symposium on auto-immunents. *Annls N. Y. Acad. Sci.*, 1964.
- 94 TANZER J., THOMAS M., STOITCHKOV Y., BOIRON M. et BERNARD J. Altérations chromosomiques observées dans des cellules de rein de singe infectées « in vitro » par le virus de l'herpès. *Annls Inst. Pasteur, Paris*, 107, 1964, 366.
- 95 THOMAS M., BOIRON M., TANZER J., LÉVY J.-P. et BERNARD J. « In vitro » transformation of mice embryos cells by bovine papilloma virus. *Nature, Lond.*, 202, 1964, 709.
- 96 THIERFELDER S., MAGIS C., SAINT-PAUL M. et DAUSSET J. Die Pyramidon Agranulzytose. *Deut. Med. Woch.* 89, 1964, 506.
- 98 VAINER H. et CAEN J. A useful photometric test for the diagnosis of von Willebrand's disease. *J. Clin. Path.* 2, [17], 1964, 191.
- 99 VAINER H. et CAEN J. Etude immunoélectrophorétique des plasmas d'hémophile A et de maladie de Willebrand. *C.r. hebdom. Séanc. Acad. Sci., Paris*, 258, 1964, 4391.
- 100 VAINER H. et CAEN J. Etude immunoélectrophorétique des plasmas d'hémophile A (avec ou sans anticoagulant circulant) et de maladie de Willebrand. *Nouv. Rev. fr. Hémat.* (sous presse).
- 101 VAINER H. et CAEN J. Observation non publiée.