

Institut d'Histologie et Embryologie de la Faculté de Médecine de Lisbonne (Portugal)  
(Dir.: Prof. Dr. M. J. XAVIER MORATO)

## SUR LA STRUCTURE ET LE POUVOIR PHAGOCYTAIRE DES PLAQUETTES SANGUINES\*

Par

J. F. DAVID FERREIRA

Avec 8 Figures dans le Texte

(Manuscrit reçu le 16 Mars 1961)

### Introduction

Au cours de ces dernières années l'emploi de la microscopie électronique a permis un notable progrès dans les études de la pinocytose et de la phagocytose. Les recherches au niveau ultrastructural ont apporté sur ces phénomènes une connaissance plus intime du mécanisme de la pénétration de substances étrangères dans la cellule et ont démontré que ces phénomènes cellulaires sont plus généraux qu'il ne l'était admis jusqu'à présent.

Au cours d'expériences dont le but était l'étude de la distribution et de l'action du dioxyde de thorium colloïdal (thorotrast) dans les organes du Lapin (HORTA et FERREIRA 1960) nous avons observé la présence de granules de cette substance à l'intérieur des plaquettes situées dans les capillaires pulmonaires (FERREIRA 1960).

Avant l'emploi de la technique des coupes BLOOM et coll. (1955) ont observé avec le microscope électronique, que les plaquettes humaines mises en contact «in vitro» avec des particules inframicroscopiques de quartz présentent une forte tendance à attirer ces particules. Ces observations mettaient en évidence la propriété de l'adhésivité. Après la mise au point de la technique des coupes fines, les plaquettes sanguines, dont la petite taille rendait difficile les études au microscope optique, ont été étudiées au microscope électronique d'une façon très détaillée. Les nombreux travaux déjà publiés (voir bibliographie in: MARCOVICI et GAUTHIER 1959) donnent des informations importantes non seulement sur leur morphologie mais aussi sur la signification physiologique de leurs constituants ultrastructuraux (voir bibliographie in: SCHULZ et HIEPLER 1959).

Dans ce travail nous rapportons les résultats de nos expériences réalisées «in vivo» et «in vitro» qui démontrent dans les plaquettes sanguines l'existence d'une propriété phagocytaire laquelle a été mise en évidence par l'emploi d'une substance étrangère.

### Matériel et Méthodes

Les observations présentées dans ce travail ont été faites sur des coupes de tissu pulmonaire de lapins injectés par voie endoveineuse avec du dioxyde de thorium colloïdal et sur des coupes de plaquettes humaines isolées et mises en contact «in vitro» avec cette même substance.

Aux lapins utilisés nous avons administré, par voie endoveineuse, 1cm<sup>3</sup> d'une solution de dioxyde de thorium colloïdal par kilogramme de poids; ils ont été sacrifiés à la fin de périodes variables, entre 3 minutes et 24 heures après l'injection. Les fragments du poumon ont été prélevés immédiatement après la mort et fixés en acide osmique à 1 % tamponné à pH 7,2. Après la fixation ces fragments ont été inclus au méthacrylate de butyle.

\* Avec la collaboration technique de Mme. KARIN DAVID FERREIRA.

Pour les expériences «in vitro» les suspensions de plaquettes ont été préparées à partir de sang humain obtenu par ponction veineuse; immédiatement après son prélèvement, le sang est centrifugé avec  $\frac{1}{9}$  de son volume de citrate de sodium à 3,8 % pendant 20 minutes à 500 tours/minute. La couche de plasma surnageant décantée est centrifugée de nouveau pendant 15 minutes à 4000 tours/minute dans une centrifuge réfrigérée à  $-4^{\circ}\text{C}$ . Le culot est alors suspendu dans du citrate de sodium à 3,8 % auquel on a ajouté 2 gouttes de dioxyde de thorium colloïdale. Cette suspension est mise dans une étuve à  $37^{\circ}\text{C}$ . La durée du contact entre les plaquettes et la substance étrangère a été de 15 minutes ou 1 heure. Ensuite la suspension est centrifugée de nouveau pendant 10 minutes à 4000 tours/minute. Le culot de plaquettes obtenu a été fixé à l'acide osmique à 1 % tamponné à pH 7,2 et coupé en petits morceaux.

Inclusion au méthacrylate de butyle selon la technique habituelle. Le matériel en verre utilisé dans ces expériences a été préalablement siliciné. Les coupes faites au ultramicrotome de Porter-Blum ont été observées au microscope RCA EMU 3 à 100 KV<sup>1</sup>. Une partie des coupes des expériences «in vitro» a été «colorée» avec de l'acetate d'uranyl selon la technique de Watson (1958).

Nous exprimons notre reconnaissance au Dr. FERREIRA qui a permis l'utilisation du matériel du Laboratoire d'Hématologie pour l'isolement des plaquettes.

### Observations

La présence d'un grand nombre de plaquettes à l'intérieur des capillaires pulmonaires est très fréquente. Ce phénomène déjà signalé par plusieurs auteurs rend le poumon un excellent matériel pour l'étude des plaquettes du sang circulant. Avec le microscope électronique ce phénomène a été décrit par POLICARD et coll. (1959) chez le Rat et par SCHULZ (1957, 1959) dans les capillaires pulmonaires du *Myoxus glis* en hibernation.

Dans les capillaires du poumon du Lapin les plaquettes se trouvent isolées ou en petits groupements (Figs. 1 et 2), elles sont généralement allongées et ont environ 2 à  $3\mu$  de longueur et 0,5 à  $1,4\mu$  de largeur. Quelquefois on remarque dans les groupements, des plaquettes géantes dont le diamètre est beaucoup plus grand (Fig. 1).

La surface de ces plaquettes, souvent en contact avec les cellules endothéliales des parois des capillaires, est irrégulière présentant des encoches et des pseudopodes. Dans la membrane qui les entoure, dont l'épaisseur est de 60 Å, on peut reconnaître dans les coupes favorables trois lamelles identiques à celles observées habituellement dans les membranes cellulaires. A l'intérieur, dans la substance fondamentale, le hyalomère, on observe de nombreuses formations corpusculaires dont l'ensemble s'appelle habituellement le granulomère.

Dans le granulomère des plaquettes du sang du Lapin on reconnaît trois des quatre types de granules décrits par SCHULZ, JÜRGENS et HIEPLER (1958) dans le granulomère des plaquettes du sang humain:

1<sup>o</sup> — Granulomère  $\alpha$  — constitué par des granules allongées, de 120—300 m $\mu$  de diamètre. Ce sont les granules les plus nombreux des plaquettes et ils ont été identifiés aux granules azurophiles observés au microscope optique (RINEHART 1955; SUEYASU et TAGESHIGE 1956; GOODMAN, REILLY et MOORE 1957). Dans quelques unes de nos photographies on peut reconnaître que ces granules sont limités par une membrane de 130 Å formée par deux lamelles denses de 40 Å

<sup>1</sup> Laboratório de Microscopia Eletrônica Calouste Gulbenkian.



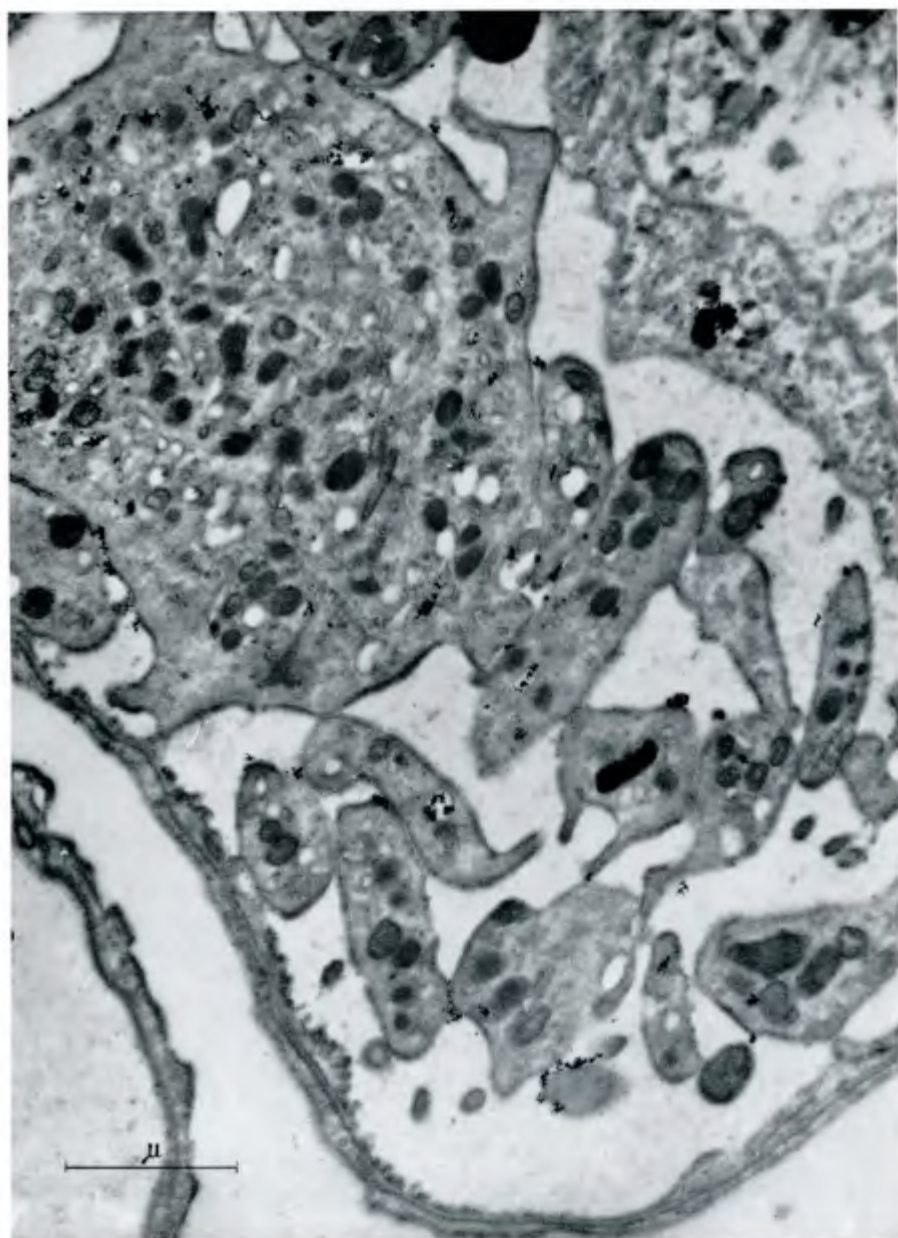


Fig. 1. Capillaire de poumon d'un lapin injecté avec du dioxyde de thorium colloïdal. Prélèvement 24 heures après l'injection. Groupement de plaquettes qui contiennent des granules de thorotrast. En haut et à gauche on voit une plaquette géante. Gross. 24.400 ×

séparées par un espace clair de 50 Å (Fig. 4). Leur contenu est granuleux et chez certains on peut reconnaître des régions plus denses généralement excentriques (Figs. 4 et 5). On observe parfois à la surface des granules  $\alpha$  des petites lobulations (Fig. 4).

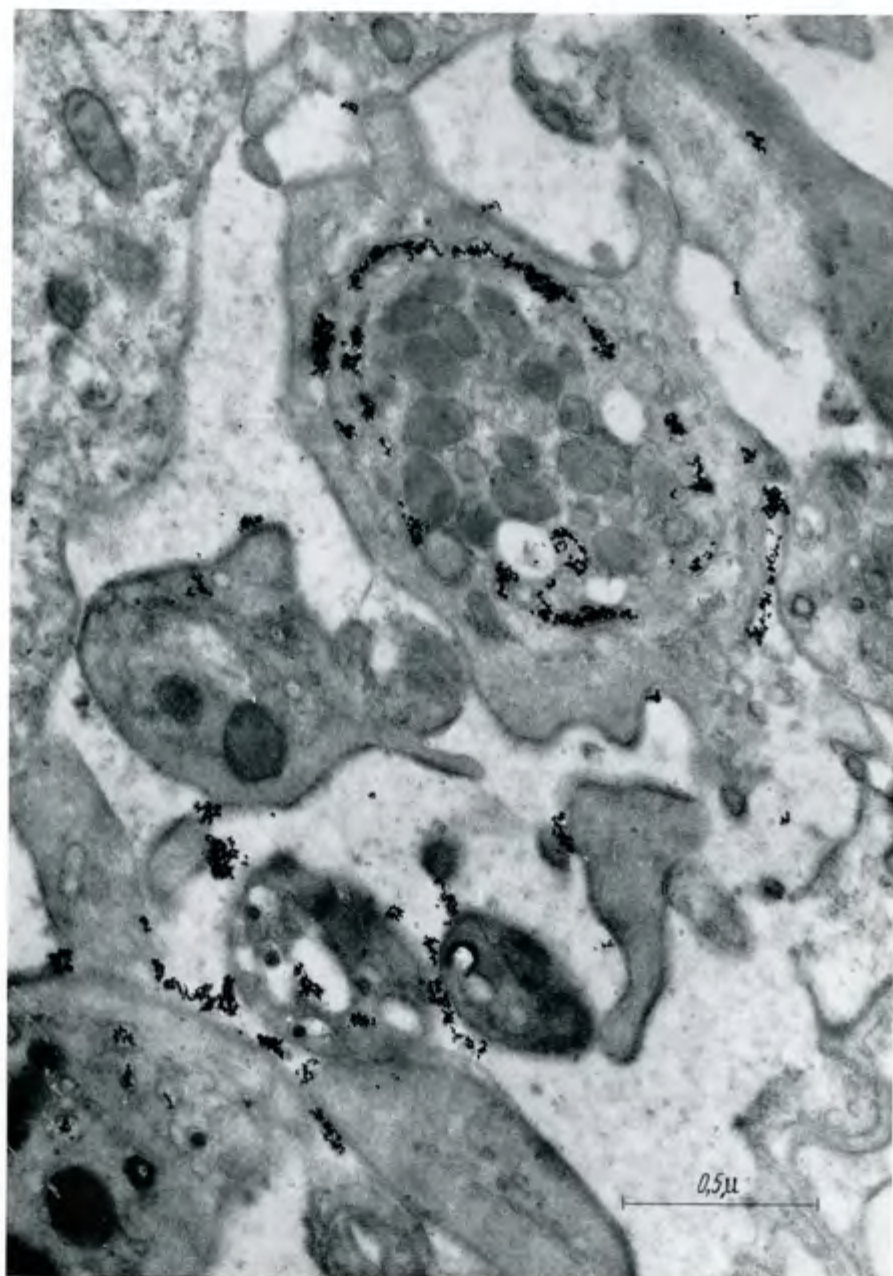


Fig. 2. Plaquettes sanguines à l'intérieur d'un capillaire pulmonaire d'un lapin injecté avec du dioxyde de thorium colloïdal. Prélèvement 24 heures après l'injection. On peut voir des nombreux granules de thorotrast à la surface et à l'intérieur des plaquettes. Gross. 53,100 ×

2° — Granulomère  $\beta$  — constitué par l'ensemble des mitochondries. Elles sont peu nombreuses et possèdent un nombre très réduit de crêtes.



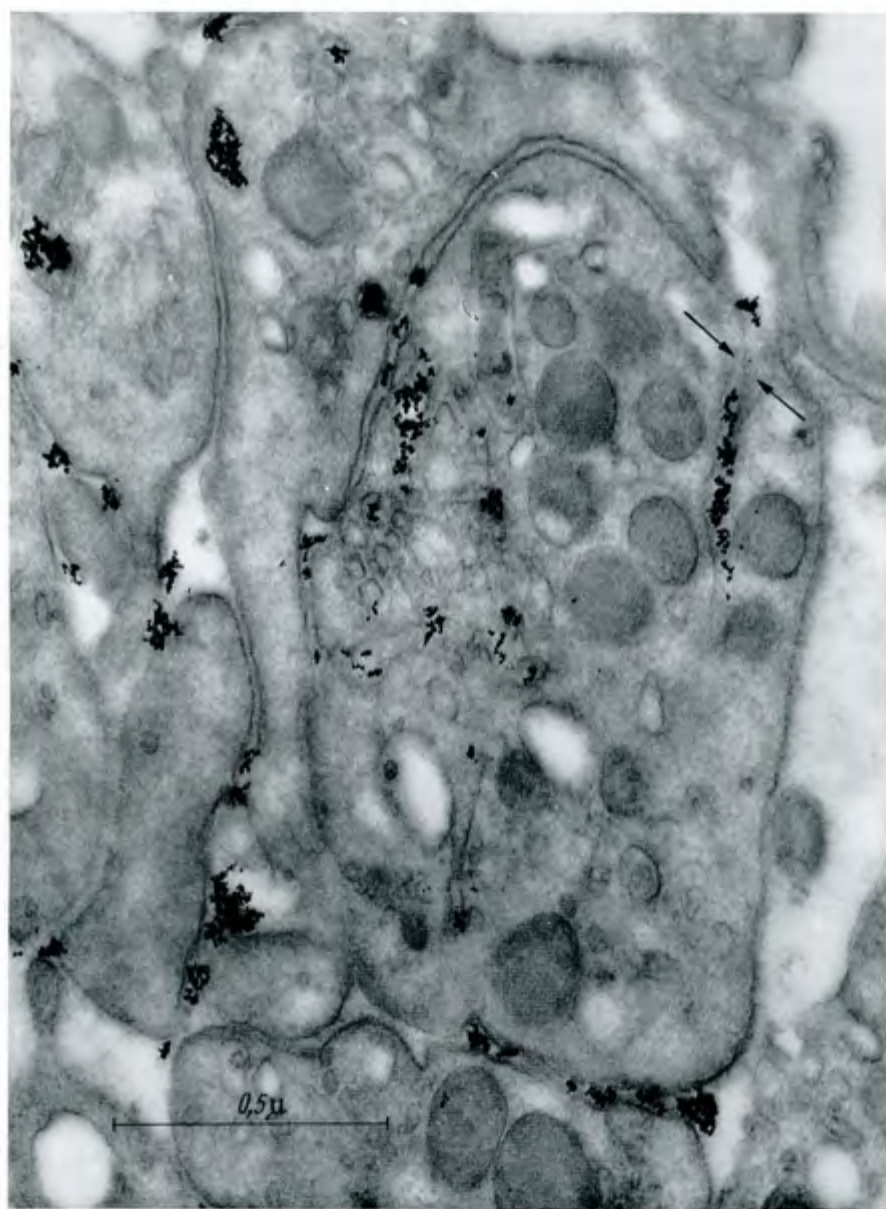


Fig. 3. Plaquette sanguine d'un lapin injecté avec du dioxyde de thorium colloïdal. Prélèvement 24 heures après l'injection. Parmi les éléments habituels des plaquettes on voit des canalicules dont l'intérieur est rempli de thorotrast. Signalée par des flèches (↑): formation d'un tubule.  
Gross. 94.400 ×

3° — Granulomère  $\gamma$  — formé par l'ensemble des microvesicules, vacuoles et saccules, il correspond aux éléments clairs des plaquettes décrits par FEISLY, GAUTHIER et MARCOVICI (1958).

Dans les plaquettes du sang humain nous avons observé les éléments ultrastructuraux déjà signalés par plusieurs auteurs et qui sont identiques à ceux décrits à propos des plaquettes du sang du Lapin.

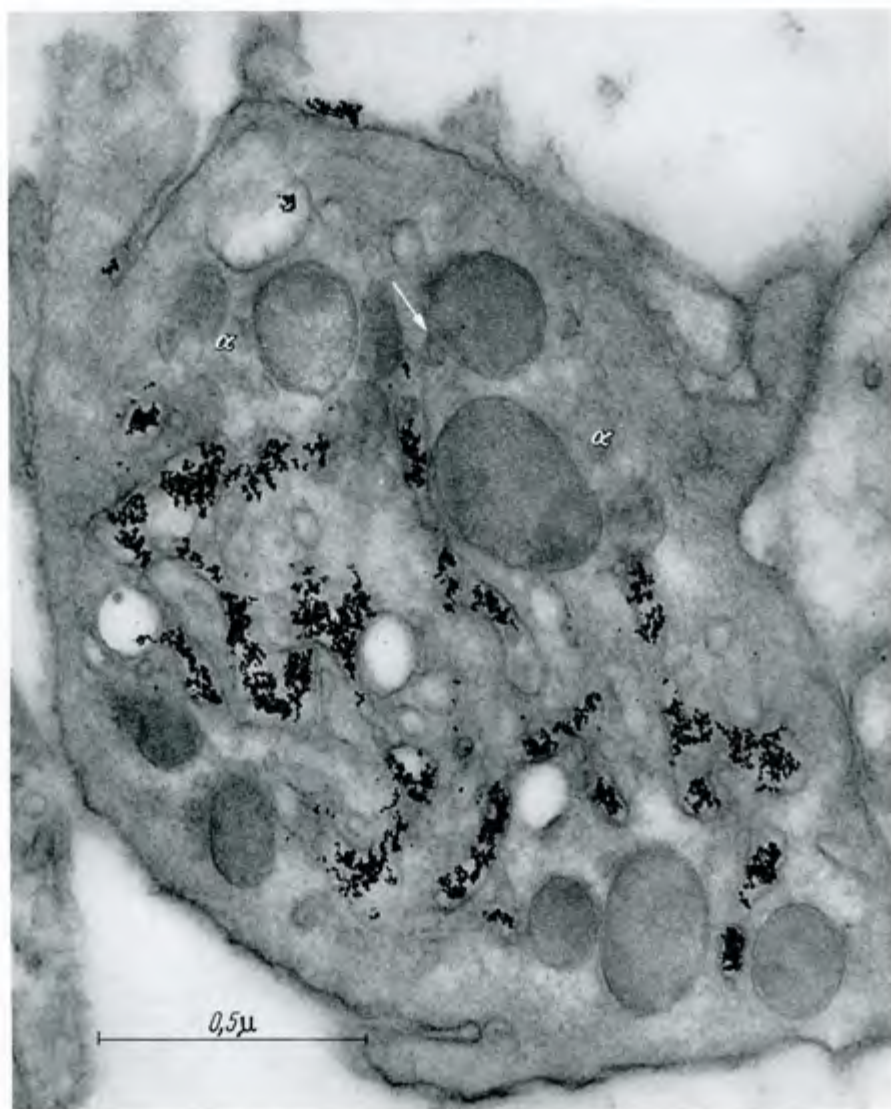


Fig. 4. Plaquette sanguine d'un lapin injecté avec du dioxyde de thorium colloïdal. Fixation 24 heures après l'injection. Parmi les composants habituels on observe de nombreux canalicules qui contiennent une grande quantité de thorotrast. ( $\alpha$ ) granules  $\alpha$  limités par une double membrane et qui ont des régions excentriques plus denses. ( $\uparrow$ ) Petite lobulation à la surface d'un granule  $\alpha$ . Gross. 75.000  $\times$

Ni dans les plaquettes du sang du Lapin ni dans les plaquettes du sang humain nous n'avons eu l'occasion d'observer les éléments du granulomère  $\delta$  défini par SCHULZ et coll. (1958) comme étant l'ensemble des cytosomes dont l'intérieur plus clair contient des nombreux granules de 55 Å très contrastés. Selon ces





Fig. 5. Plaquette sanguine d'un lapin injecté avec du dioxyde de thorium colloïdal. Fixation 24 heures après l'injection. Nombreux tubules pleins de thorotrast dont la disposition concentrique suggère un mouvement circulaire des produits dans la cellule. Gross. 75.520 ×

auteurs ces granules sont identiques aux molécules de ferritine observées dans d'autres cellules. POLICARD et coll. (1959), qui ont étudié les plaquettes du sang du Rat, signalent également qu'ils n'ont pas observé ces granules.

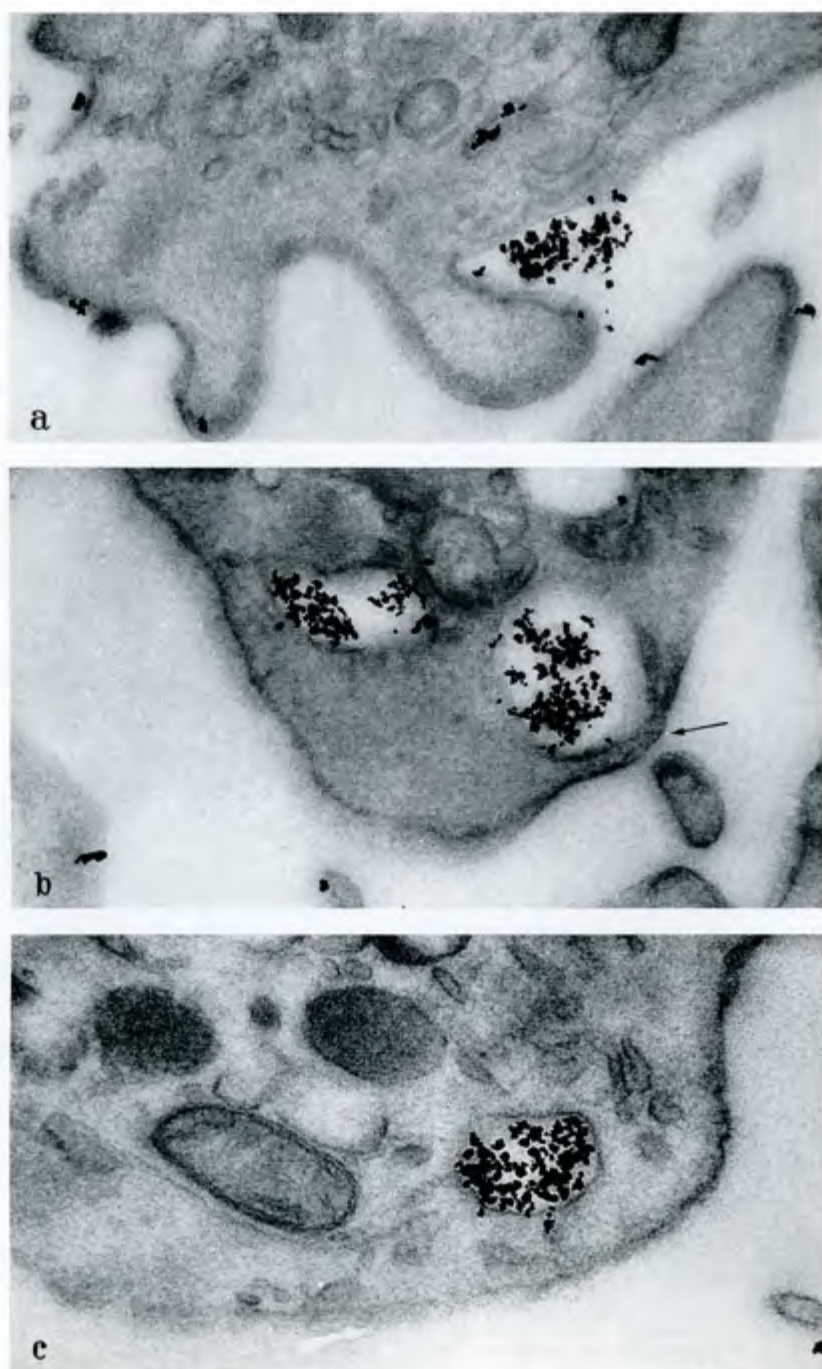


Fig. 6a—c. Plaquettes sanguines humaines mises en présence «in vitro» avec du dioxyde de thorium colloïdale. Aspects de l'incorporation du thorotrast. a Pseudopode enveloppant partiellement un groupe de particules de thorotrast. b Vacuole superficielle contenant du thorotrast. Dans la photographie originelle on reconnaît au point signalé par la flèche (†) la soudure de la membrane cellulaire. c Vacuole déjà incorporée à l'intérieur de la plaquette. Gross. 75,570 ×



Dans les plaquettes humaines isolées nous avons observé un très grand nombre de granules de 230 Å de diamètre qui dans les préparations traitées à l'acétate d'uranyl, sont très évidents (Fig. 8). Dans ces préparations on peut voir que ces granules ne sont pas homogènes et qu'ils possèdent à leur intérieur des grains très denses de 30 Å de diamètre.

L'existence de petits granules dans les plaquettes a été pour la première fois signalé par BERNHARD et LEPLUS (1955) qui les ont identifié aux granules de PALADE. PEASE (1956) a décrit d'abondant granules de A. R. N. dans les plaquettes sanguines du Rat et du Cobaye. Les granules que nous avons observés dans les plaquettes humaines sont à dimensions un peu différentes et sont moins denses que les granules de PALADE.

Tous les éléments ultrastructurels signalés dans les plaquettes des témoins ont été observés dans les plaquettes humaines isolées et mises en contact «in vitro» avec le thorotrast.

A la surface des plaquettes des animaux injectés on observe des groupements de granules très denses de thorotrast (Fig. 2). Fréquemment ces granules sont situés à l'intérieur des encoches de la surface des plaquettes, ou sont partiellement entourés par des pseudopodes (Fig. 2). Les granules de dioxyde de thorium colloïdal situés à l'intérieur des plaquettes ne sont jamais libres dans le hyalomère mais toujours situés à l'intérieur des vacuoles ou des tubules du granulomère  $\gamma$  (Figs. 2—6).

Nous sommes convaincus que l'existence des granules de thorotrast à l'intérieur des plaquettes rend plus évidents les éléments vacuolaires et tubulaires qui les contiennent, lesquels sont très nombreux chez les animaux injectés. Le thorotrast est incorporé à l'intérieur des plaquettes par des invaginations de la membrane cellulaire; ces invaginations se transforment ensuite en des tubules plus étroits mais identiques à ceux observés dans *Amoeba proteus* après l'induction de la pinocytose (ANDRESEN et NILSSON 1960). Quelquefois les éléments tubulaires ont des aspects très particuliers, comme ceux qu'on observe dans les Figs. 2 et 5 où ils se montrent très allongés et avec une disposition concentrique très spéciale.

Dans les coupes de plaquettes humaines préalablement mises en contact «in vitro» avec du dioxyde de thorium colloïdal, on observe à la surface et adhérents à la membrane, des petits groupements de granules très denses (Figs. 6 et 7). Quelquefois ces groupements sont situés à l'intérieur des encoches de la surface des plaquettes ou partiellement entourés par des petits pseudopodes (Fig. 6a). Dans les préparations correspondantes aux plaquettes qui ont été en contact plus longtemps avec le dioxyde de thorium colloïdal (1 heure) en plus de ces images, on remarque que les composants du granulomère  $\gamma$  possèdent des granules de thorotrast à leur intérieur. D'une façon générale les vacuoles de ces plaquettes sont plus grandes que celles observées dans les plaquettes du poumon des lapins injectés; les éléments tubulaires ou sacculaires sont moins fréquents (Figs. 6—8).

Les images observées dans les expériences «in vivo» et «in vitro» démontrent que les plaquettes possèdent la propriété de la phagocytose. L'importance de cette propriété est mise en évidence par la grande quantité de particules observées à l'intérieur du granulomère  $\gamma$  de ces plaquettes.

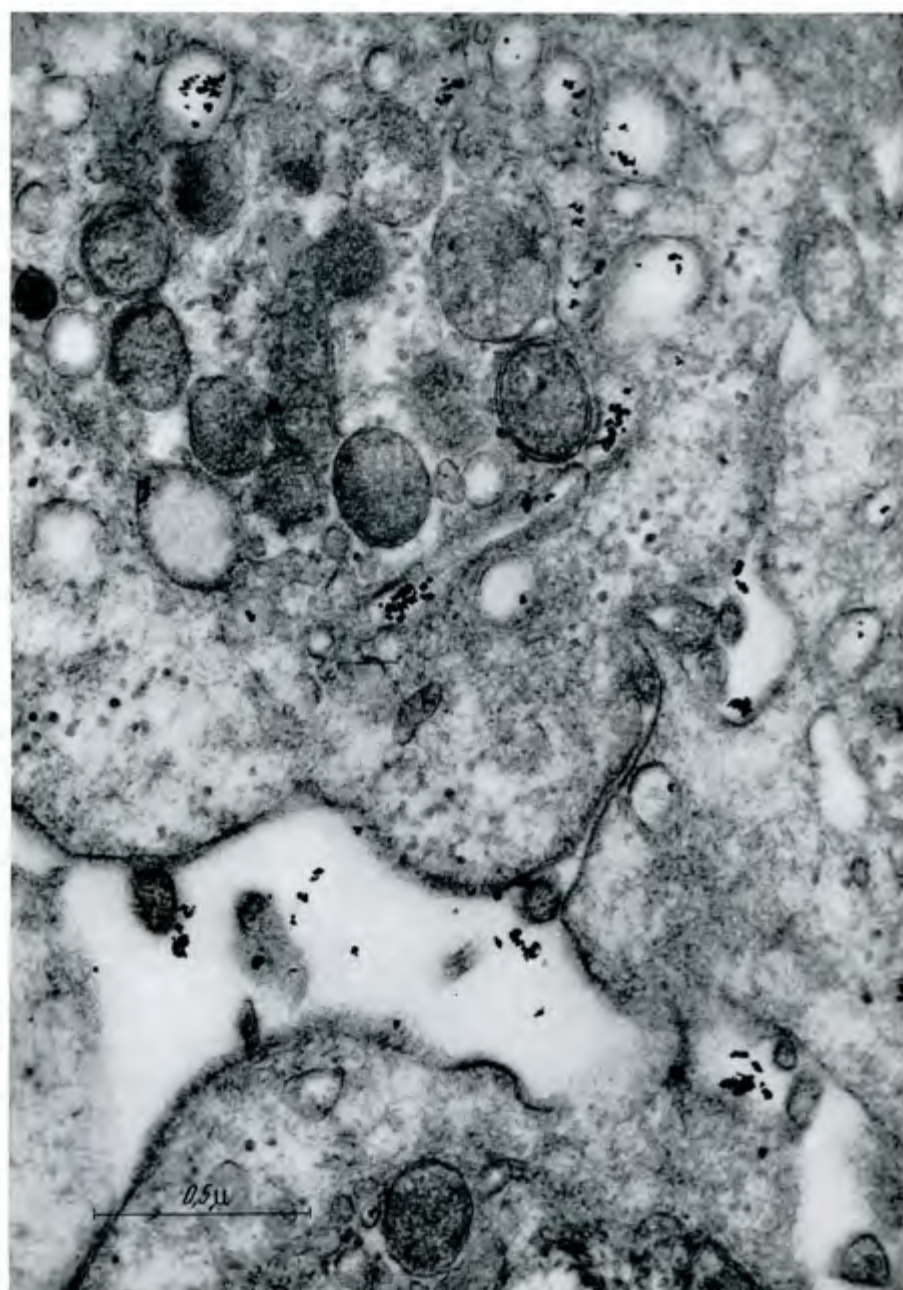


Fig. 7. Plaquette sanguine humaine mise en présence «in vitro» pendant 1 heure avec du thorotrast. Coloration à l'acetate d'uranyl. Granules de thorotrast à la surface et à l'intérieur. Dans le hyalomère on observe de nombreux granules de 230 Å très abondants dans les plaquettes isolées «in vitro». Gross. 63,400 ×

D'accord avec les différentes images décrits il est possible de conclure que les particules étrangères dans une première phase, adhèrent à la surface des plaquettes;



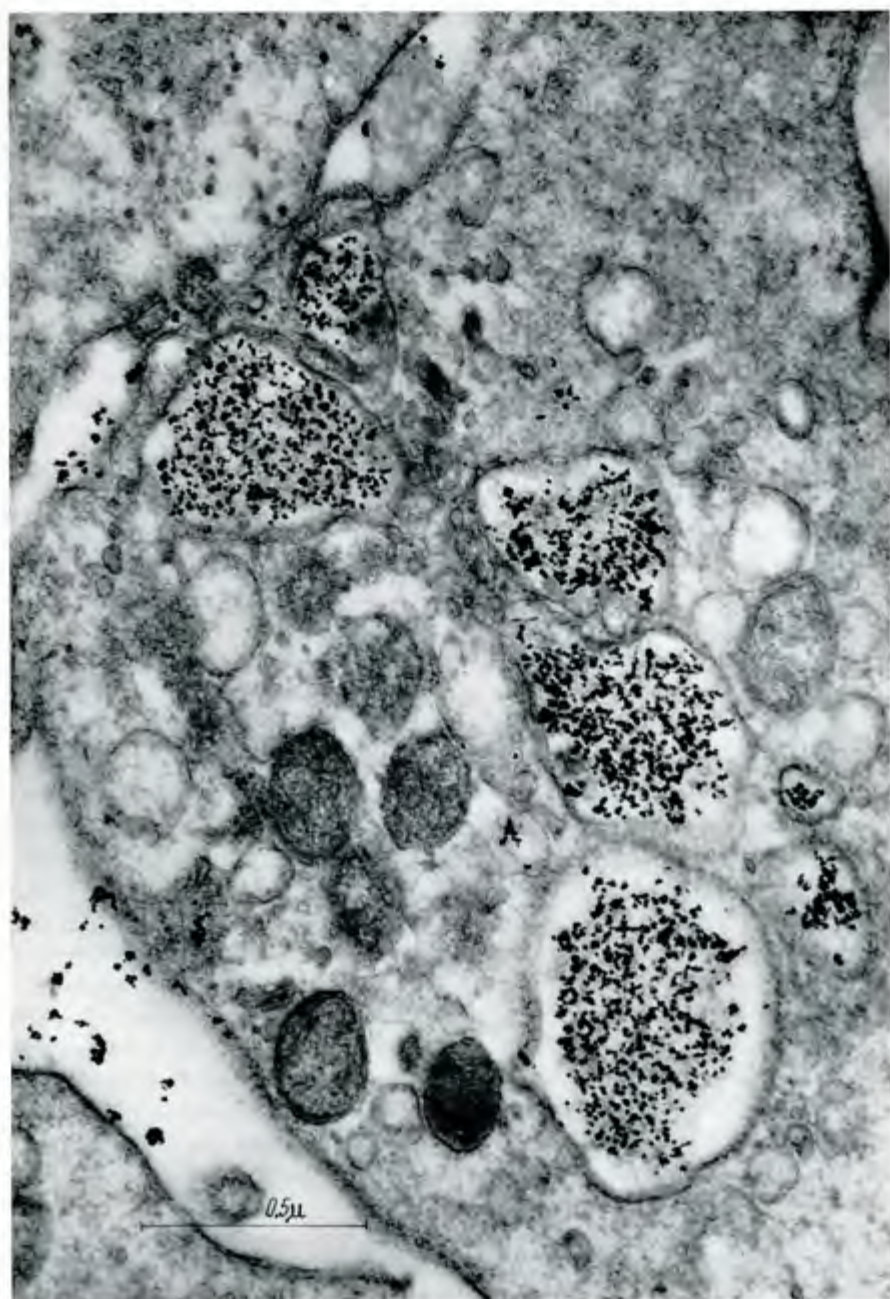


Fig. 8. Plaquette sanguine humaine mise en présence de thorotrast « in vitro » pendant une heure. Coloration à l'acétate d'uranyl. À l'intérieur du hyalomère des vacuoles qui contiennent de grandes quantités de thorotrast. Gross. 63.100 ×

ces particules sont ensuite entourées par les pseudopodes plaquettaires et ultérieurement incorporées à l'intérieur du hyalomère dont elles restent isolées par une membrane identique à la membrane cellulaire (Fig. 5).

Les images où l'on observe les longs éléments tubulaires ou saculaires, limités par une membrane identique à la membrane cellulaire, et dont l'intérieur est rempli de granules de dioxyde de thorium colloïdal suggèrent le mouvement des particules phagocytées, à l'intérieur des plaquettes. Ces images démontrent que dans la phagocytose du thorostrast par les plaquettes est mis en jeu un mécanisme identique à celui décrit à propos de la pinocytose.

### Discussion

En 1896, CAJAL a démontré que les cellules fusiformes du sang de la Grenouille ont un grand pouvoir phagocytaire. Selon plusieurs auteurs les cellules fusiformes du sang des Vertébrés inférieurs correspondent aux plaquettes du sang des Mammifères.

La propriété phagocytaire n'a pas été démontrée jusqu'à présent dans les plaquettes du sang des mammifères mais on a reconnu en ces éléments une propriété apparentée : l'adhésivité.

BLOOM, GUSTAVSON et SWENSSON (1955) avec la technique de l'étalement ont observé au microscope électronique, que des particules de quartz mises en contact «in vitro» avec des plaquettes humaines se rassemblent à leur surface, surtout dans la région du chromomère et plus rarement dans la région du hyalomère. Dans d'autres expériences réalisées chez le Lapin, les mêmes auteurs ont observé que l'injection endoveineuse des particules inframicroscopiques de quartz était parfois suivie d'une baisse du nombre des plaquettes du sang circulant. Ces auteurs signalent que chez le Lapin l'instabilité du nombre des plaquettes ne permettait pas de tirer de cette expérience des conclusions définitives.

Nos observations réalisées sur des coupes ont permis de démontrer que dans le cas du dioxyde de thorium colloïdal il y a une incorporation de cette substance par la plaquette.

Il est probable que dans les expériences de BLOOM, GUSTAVSON et SWENSSON (1955) les particules de quartz aient été aussi incorporées par les plaquettes ; comme en cette époque ces auteurs n'employaient pas encore la méthode des coupes, il était impossible de vérifier la présence des particules à l'intérieur des plaquettes. Dans les capillaires pulmonaires du Rat, POLICARD et coll. (1955) ont étudié des thrombi plaquettaires formés après des injections intratrachéales de suspensions de silice. Ils décrivent les différents types de plaquettes observés dans ces thrombi. Au niveau des cavités alvéolaires ces auteurs ont observé des coagulats de fibrine et des tissus nécrosés qui renferment des particules de la silice injectée. Ils ne signalent pas la présence de particules de silice à l'intérieur des plaquettes.

Plus récemment DANON, JERUSHALMY et DE VRIES (1959) ont démontré que les plaquettes sanguines humaines mises en présence du virus de l'influenza présentaient quelque temps après des vacuoles contenant des particules de virus. Dans cet article les auteurs signalent ignorer le mécanisme de l'incorporation des virus dans les plaquettes.

On peut admettre que dans ce cas comme dans nos expériences avec le thorostrast, il s'agit du résultat de l'existence dans les plaquettes d'une propriété phagocytaire. Etant donné le grand nombre de plaquettes en circulation dans



le sang, cette propriété pourra jouer un rôle important dans la défense de l'organisme. Si l'on admet que, après avoir incorporé les particules étrangères, les plaquettes se désintègrent il est possible d'expliquer certaines thrombopénies observées dans diverses circonstances pathologiques comme étant une conséquence de son pouvoir phagocytaire.

Le mécanisme de la phagocytose du thorotrast par les plaquettes est identique à celui signalé par les auteurs qui ont étudié avec le microscope électronique le phénomène de la pinocytose et de la phagocytose. ANDRESEN et NILSSON (1960) qui par ce moyen ont étudié *l'Amœba proteus* après l'induction de la pinocytose par le glutamate de sodium ont observé la formation de tubules (pinocytosis channels) contenant le milieu extérieur.

Les images observées dans les plaquettes sont encore identiques à celles montrées par KARRER (1960a) dans son excellent article sur la phagocytose de l'encre de Chine par les macrophages du poumon. Comme KARRER (1960b) nous pensons que : «phagocytosis and pinocytosis are essentially identical processes and are based on the invagination and the detachment of bits of the plasma membrane, which is accompanied by the ingestion of particulates (phagocytosis) or of fluid (pinocytosis)».

Les résultats de nos observations sur des plaquettes s'accordent avec la notion des deux mécanismes d'incorporation de substances dans la cellule proposée par BENNETT (1956) : le mécanisme de «membrane flow» que nous avons observé surtout dans les plaquettes «in vivo» et le mécanisme de «membrane vesiculation» observé surtout dans les plaquettes «in vitro».

Lorsque la direction de la coupe est favorable et la résolution du microscope est convenable on reconnaît que la membrane des vacuoles et des éléments tubulaires qui contiennent le thorotrast est formée par les mêmes éléments que la membrane cellulaire. KARRER (1960a) a fait une observation identique dans les macrophages du poumon du Rat. Pour cette raison ANDRESEN et NILSSON (1960) n'ont reconnu aucune différence entre la membrane cellulaire et les parois des «pinocytosis channels».

L'origine et la signification du granulomère  $\gamma$  des plaquettes sont encore obscures et trois interprétations ont été attribuées à ses éléments par les auteurs qui les ont étudiés :

- a) éléments d'origines golgienne,
- b) éléments du reticulum endoplasmique,
- c) vésicules de pinocytose.

La diversité des éléments qui forment le granulomère  $\gamma$  (vésicules, vacuoles et tubules) explique la diversité de ces interprétations et aussi la possibilité d'une origine différente de ses éléments.

Dans les observations que nous présentons on met en évidence qu'une partie de ses éléments (vacuoles et tubules) est probablement en rapport avec des phénomènes de phagocytose et pinocytose réalisés par les plaquettes. Cette interprétation qui peut expliquer l'origine des éléments vacuolaires et tubulaires du granulomère  $\gamma$  n'exclue pas l'hypothèse selon laquelle les microvésicules observées dans quelques plaquettes soient originaires de l'appareil de Golgi des megacaryocytes. Comme affirment FEISLY, GAUTHIER et MARCOVICI (1958) il existe

une analogie morphologique mais «cette assimilation reste, pour l'instant, dans le domaine de l'hypothèse».

La ressemblance entre les éléments du granulomère  $\delta$  de SCHULZ et coll. (1958) et les vacuoles observés par GIESEKING (1958) dans les cellules alvéolaires du poumon, après l'injection intratrachéale de l'hydroxyde de fer est impressionnante. Ce fait et la démonstration du pouvoir phagocytaire des plaquettes nous a suggéré que les éléments du granulomère  $\delta$  pouvaient être aussi le résultat de la phagocytose de composés de fer. Nous tentons actuellement la vérification expérimentale de cette hypothèse. Nous n'avons aucune idée sur la nature des granules de 230 Å observés dans grand nombre des plaquettes humaines isolés «in vitro». Ils ne nous semblent pas identiques aux granules que BERNHARD et LEPLUS (1955) ont observé dans les plaquettes humaines et identifié avec les granules de Palade. Ils sont beaucoup plus grands que les granules de 120 Å observés par SCHULZ (1960) et que cet auteur a appelé „liberalisierte  $\alpha$ -Substanz". Dans les préparations traitées à l'acetate d'uranyl ces granules présentent encore la particularité de posséder en son intérieur des granules plus denses, de 30 Å de diamètre très évidents dans les photographies originelles. Actuellement nous n'osons pas élaborer une hypothèse sur la nature de ces granules mais nous avons été frappés par le fait de les avoir observé uniquement et en grand nombre dans les préparations des plaquettes isolés «in vitro».

### Résumé

Dans cette étude on met en évidence la propriété phagocytaire des plaquettes pour des substances étrangères. Les observations ont été faites sur des coupes de tissu pulmonaire de lapins injectés par voie endoveineuse avec du dioxyde de thorium colloïdal et sur des plaquettes humaines isolées et mises en contact «in vitro» avec du dioxyde de thorium colloïdal.

La possibilité de la participation des plaquettes sanguines dans la défense de l'organisme contre certains agents est admise.

Le mécanisme de la phagocytose du thorotrast est décrit et on explique l'origine d'une partie des éléments du granulomère  $\gamma$ . L'auteur admet aussi l'hypothèse que les éléments du granulomère  $\delta$  décrits par SCHULZ et coll. (1958) soient le résultat de la phagocytose des substances étrangères par les plaquettes.

A propos des observations réalisées sur les plaquettes humaines isolées «in vitro» l'auteur décrit des granules de 230 Å possédant en son intérieur des granules de 30 Å très évidents dans les coupes traitées à l'acetate d'uranyl.

### Bibliographie

- ANDRESEN, C. C., and J. R. NILSSON: Electron micrographs of pinocytosis channels in *Amoeba proteus*. *Exp. Cell Res.* **19**, 631—633 (1960).
- BENNETT, H. S.: The concepts of membrane flow and membrane vesiculation as mechanisms for active transport and ion pumping. *J. biophys. biochem. Cytol.* **2**, Suppl., 99—103 (1956).
- BERNHARD, W., et R. LEPLUS: La méthode des coupes ultrafines et son application à l'étude de l'ultrastructure des cellules sanguines. *J. suisse Méd.* **85**, 897—907 (1955).
- BLOOM, G.: The disintegration of human blood platelets after taking up fine quartz particles. *Z. Zellforsch.* **40**, 222—227 (1954).
- K. H. GUSTAVSON and A. SWENSSON: On the reaction of the thrombocytes to submicroscopic particles in vitro. *Acta haemat. (Basel)* **13**, 57—63 (1955).



- CAJAL, S. R.: Sobre la fagocitosis de las plaquetas. *Rev. Micrográfica* **1**, 31—37 (1896).
- DANON, D., Z. JERUSHALMY and A. DE VRIES: Incorporation of influenza virus in human blood platelets in vitro. Electron microscopical observation. *Virology* **9**, 719—722 (1959).
- FEISSLY, R., A. GAUTHIER et L. MARCOVICI: L'ultrastructure des thrombocytes du sang humain normal. *Proc. 4th Internat. Conf. Electr. Micr.*, 2, p. 261—263. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1960.
- FERREIRA, J. F. D.: Démonstration du pouvoir phagocytaire des plaquettes sanguines chez le lapin. *Proc. European Regional Conf. Electr. Micr. Delft 1960* (in press).
- GIESEKING, R.: Aufnahme und Ablagerung von Fremdstoffen in der Lunge nach elektronen-optischen Untersuchungen. *Ergebn. allg. Path. path. Anat.* **38**, 92—126 (1958).
- HOETA, J. S., et J. F. D. FERREIRA: En préparation (1960).
- KARRER, H. E.: Electron microscopic study of the phagocytosis process in lung. *J. biophys. biochem. Cytol.* **7**, 357—366 (1960a).
- The alveolar macrophage. *Proc. 4th Internat. Conf. Electr. Micr.* 2, p. 415—417. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1960b.
- MARCOVICI, J., et A. GAUTHIER: Liste analytique des travaux de cytologie électronique traitant de l'ultrastructure des thrombocytes. *Haematologica* **44**, 275—292 (1959).
- PEASE, D.: An electron microscopic study of red bone marrow. *Blood* **11**, 501—526 (1956).
- POLICARD, A., A. COLLET et L. GILTAIRE-RALYTE: Etude au microscope électronique de thromboplaquettes formés dans les capillaires pulmonaires au cours d'agressions expérimentales par des particules inframicroscopiques de silice. *Bull. Micr. appl.* **5**, 7—8 (1955).
- et S. PRÉGERMAIN: Etude infrastructurale des thrombocytes du sang circulant chez le Rat. *Bull. Micr. appl.* **9**, 26—29 (1959).
- RINEHART, J. F.: Electron microscope studies of sectioned white blood cells and platelets. *Amer. J. clin. Path.* **25**, 605—619 (1955).
- SCHULZ, H.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen der Lunge des Siebenschläfers nach Hibernation. *Z. Zellforsch.* **46**, 583—597 (1957).
- Die submikroskopische Anatomie und Pathologie der Lunge. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1959.
- Communication personnelle 1960.
- u. E. HIEPLER: Über die Lokalisierung von gerinnungsphysiologischen Aktivitäten in submikroskopischen Strukturen der Thrombocyten. *Klin. Wschr.* **37**, 273—285 (1959).
- R. JÜRGENS u. E. HIEPLER: Die Ultrastruktur der Thrombozyten bei der konstitutionellen Thrombopathie (v. WILLEBRANDT-JÜRGENS) mit einem Beitrag zur submikroskopischen Orthologie der Thrombozyten. *Thromb. Diath. haem.* **2**, 300—323 (1958).
- SUEYASU, T., and Y. TAGESHIGE: Electron microscopic study on the blood platelets of the rabbit. *Kurume med. J.* **3**, 114—128 (1956).
- WATSON, M. L.: Staining of tissue sections for electron microscopy with heavy metals. *J. biophys. biochem. Cytol.* **4**, 475—478 (1958).

Dr. J. F. DAVID FERREIRA,

Laboratório de Microscopia Electrónica C. Gulbenkian,  
Instituto de Histologia e Embriologia, Faculdade de Medicina, Lisboa, Portugal