

par l'hématoxyline de Bœhmer, on ajoute si l'on veut de l'éosine et on monte dans la glycérine. Outre les formes cellulaires déjà décrites, on trouve également des cavités vésiculaires, en quantité variable, qui contiennent des restes de cellules (protoplasma et noyau) ; il est probable que ces cavités représentent des espaces lymphatiques péri-cellulaires anormalement élargis par l'altération cadavérique de la substance cérébrale et par l'action du liquide fixateur (fig. 69 et 70).

Les pièces fixées dans le liquide de Muller et durcies dans l'alcool peuvent également servir à faire des coupes pour l'étude des cellules. Colorer et monter comme au n° 47.

N° 50. Hypophyse cérébrale. — Préparer comme au n° 47.

N° 51. Cellules nerveuses et cellules névrogliales du cerveau et de la moelle épinière suivant la méthode de Golgi. — Des fragments de l'écorce cérébrale et cérébelleuse et de la moelle épinière de 2 à 3 cent. de côté sont fixés dans 2 à 500 cent. cubes de liquide de Müller. Après 6 semaines (1), pendant lesquelles le liquide devra être changé plusieurs fois, on prépare *a*) une solution de nitrate d'argent diluée (Solution nitrat. d'arg. à 1 0/0 ; 25 cent. cubes étendue de : eau distillée : 25 cent. cubes). *b*) Une solution plus forte dont voici la formule : (Sol. nitr. arg. 1 0/0 : 60 cent. cubes, étendue de eau distillée : 20 cent. cubes). Les fragments sortis du liquide de Muller sont portés directement dans un petit cristalliseur et arrosés d'un tiers de la solution *a*). Il se forme immédiatement un précipité rouge brun ; on jette la solution et le précipité formé, puis on ajoute le second tiers ; le précipité est déjà moindre, on évacue à nouveau et on verse enfin le dernier tiers. Les fragments sont sortis de cette solution et portés dans un petit cristalliseur dont le fond est garni de papier à filtrer, on les arrose de la solution *b*). dans laquelle ils restent. Le lendemain, ou plus tard (2), on pratique des coupes dans les pièces ainsi traitées et dont la coloration est rouge brun. On prend une assiette plate remplie d'eau distillée, dans laquelle on trempe le rasoir ; on garnit la pièce imprégnée au nitrate d'argent d'une bande assez épaisse de papier à filtrer (pour éviter de se noircir les doigts) et on pratique des coupes perpendiculaires à la surface. La première coupe est opaque et d'un rouge brun ; elle n'est pas utilisable. Les coupes suivantes sont plus appropriées à l'examen ; on les porte du rasoir sur une lame porte-objets, l'eau est enlevée et l'on monte dans une goutte de glycérine étendue d'eau ; il ne faut pas couvrir cette préparation d'une lamelle ; on examine ensuite les coupes à un faible grossissement. On voit d'abord un grand nombre de précipités qu'on ne peut pas faire disparaître, mais entre eux on observe les cellules avec leurs prolongements (fig. 67 et 72).

Toutes les cellules ne sont pas visibles, quelques-unes seulement sont

(1) Les pièces qui ont passé plus longtemps dans le liquide de Müller se colorent plus difficilement ; il est bon dans ce cas d'employer à la place de la solution *b*). la solution de nitrate d'argent à 1 0/0.

(2) Les fragments peuvent rester dans la solution de nitrate d'argent pendant des mois sans subir aucune altération ; la fig. 67 représente la coupe d'une pièce restée pendant 5 mois dans cette solution.

noircies. (Les coupes qui proviennent des couches profondes du fragment présentent peu ou point de cellules imprégnées.) Outre les cellules, les vaisseaux sanguins sont également colorés en noir ; les meilleures coupes sont enlevées doucement de la lame et mises dans l'eau distillée ; après un lavage d'une à 5 minutes elles sont placées dans un verre de montre rempli d'alcool absolu ; puis on les fait passer pendant 2 à 3 minutes dans la créosote d'abord, dans l'essence de térébenthine (1) ensuite (5 cent. cubes) ; pour finir on les monte sur une lame porte-objets, on y dépose une goutte de baume du Canada. Il ne faut pas non plus recouvrir la préparation d'une lamelle ; l'examen sera fait avec des grossissements moyens.

Cette méthode n'est pas spécifique pour les éléments nerveux ; il est vrai qu'elle rend les cellules nerveuses visibles, mais elle ne met nullement en évidence les fibres nerveuses. D'autre part, il y a certainement des cellules névrogliales (fig. 67) et des vaisseaux sanguins qui se colorent en noir sous l'influence de cette imprégnation au nitrate d'argent. Il est probable qu'il s'agit ici de précipités siégeant dans les espaces péri-vasculaires et péri-cellulaires.

N° 52. Sable cérébral. — On dissocie l'épiphysse dans une goutte d'eau salée. Si le sable se trouve en grande quantité, on entend les grains crier sous les aiguilles ; il y en a même de si volumineux qu'on les voit à l'œil nu. Les préparations ainsi faites doivent être examinées à un faible grossissement (fig. 74). On enlève les plus grosses granulations avec l'aiguille, on recouvre le reste d'une lamelle, on dépose sur le bord de cette lamelle 2 à 3 gouttes d'acide chlorhydrique. Les contours très accusés des granulations disparaissent rapidement avec développement de bulles gazeuses.

N° 53. Corpuscules amyloïdes. — Il faut prendre des cerveaux d'individus déjà âgés. A l'aide d'un scalpel on racle la face médiane, celle qui regarde le troisième ventricule, de la couche optique ; la bouillie ainsi obtenue est dissociée dans quelques gouttes d'eau salée ; on recouvre d'une lamelle ; lorsqu'il y a des corpuscules, on le reconnaît facilement à leur coloration vert-bleuâtre et à leur disposition en couches stratifiées (fig. 75). Il ne faut pas les confondre avec des gouttelettes épanchées de myéline (*b*) qui sont toujours claires et à double contour. Ces préparations décèlent en outre un grand nombre de globules rouges de sang, des cellules de l'épendyme (*d*), des fibres nerveuses à myéline de différentes épaisseurs (*e*) et enfin des cellules nerveuses souvent très pâles, reconnaissables seulement à leur pigmentation (*f*). Il n'est nullement nécessaire pour ces préparations d'avoir des pièces absolument fraîches.

N° 54. Plexus choroïde. — Un lambeau d'un cent. environ du *plexus choroïde* est étalé dans une goutte d'eau salée et recouvert d'une lamelle. On voit sur cette préparation les vaisseaux remplis de sang et sinueux et de plus l'épithélium du plexus.

N° 55. Ganglions spinaux. — Ces ganglions sont difficiles à atteindre ;

(1) Les préparations éclaircies avec l'essence de lavande et recouvertes d'une lamelle s'altèrent très rapidement.

il est préférable d'exciser un fragment du ganglion de Gasser, et de le fixer dans 100 cent. cubes environ de liquide de Müller. Un mois après, on lave la pièce à l'eau courante pendant trois heures environ, et on durcit ensuite dans 50 cent. cubes environ d'alcool progressivement renforcé.

Des coupes longitudinales et transversales aussi fines que possible sont plongées pendant 30 secondes dans un bain d'hématoxyline, puis dans un bain d'éosine pendant 2 à 5 minutes; on monte dans le baume. Les cellules nerveuses sont d'un rouge pâle, le cylindre-axe d'un rouge foncé, la gaine de myéline brunâtre, et les noyaux bleus (fig. 77). Si la coupe n'est pas assez fine, il est impossible d'avoir une image nette à cause du grand nombre de noyaux fortement colorés. Les coupes épaisses seront de préférence colorées au picro-carmin, dans lequel on les laissera de deux à trois jours pour les monter ensuite dans le baume; les noyaux sont alors moins colorés; quelquefois la cellule ganglionnaire prend une forme étoilée due à la contraction du protoplasma cellulaire (fig. 77, X), cet aspect pourrait induire en erreur un débutant, et faire prendre cette cellule ganglionnaire pour une cellule nerveuse multipolaire.

N° 56. Ganglions sympathiques. — On fixe et on durcit le ganglion cervical supérieur comme il est indiqué au n° 55. Les colorants des noyaux ne seront employés ici encore que sur des coupes *très fines*, à cause de la grande abondance de noyaux. Les méthodes indiquées au n° 55 ne font pas beaucoup ressortir les prolongements des cellules multipolaires; pour voir ces prolongements, il faut prendre des coupes aussi fines que possible, et les plonger pendant 24 heures dans 5 cent. cubes d'une solution de nigrosine. On les met ensuite dans 5 cent. cubes d'alcool absolu pendant 5 minutes et on les monte au baume. Déjà, à l'aide d'un faible grossissement, on reconnaît la disposition caractéristique des faisceaux de fibres nerveuses sans myéline coupés soit transversalement, soit longitudinalement; on voit également les cellules ganglionnaires, mais leurs prolongements ne sont visibles qu'avec un fort grossissement et il faut pour les voir une observation soutenue (fig. 78); certaines cellules ganglionnaires ne présentent aucune trace de prolongement.

N° 57. Cellules tactiles simples, fibres nerveuses intra-épithéliales, cellules de Langerhans, corpuscules tactiles. — On commence par préparer à chaud un mélange de chlorure d'or et d'acide formique qu'on laisse refroidir (page 22), on découpe ensuite sur la face palmaire d'un doigt fraîchement amputé (un orteil), avec des ciseaux plats, plusieurs petits fragments d'épiderme, 5 mm. de long et de large sur 1 mm. d'épaisseur. La graisse qui adhère aux couches inférieures du chorion doit être soigneusement enlevée. On place pendant une heure tous ces fragments dans le mélange de formiate d'or, en les tenant dans l'obscurité. A l'aide d'aiguilles de verre on les porte dans 10 cent. cubes d'eau distillée, et après quelques minutes dans de l'eau distillée contenant de l'acide formique (page 22), et on expose le tout à la lumière du jour (la lumière solaire n'est pas nécessaire) 24 à 48 heures après, les fragments sont devenus d'un violet foncé. C'est à ce moment qu'il faut les durcir dans

30 cent. cubes d'alcool progressivement renforcé. Après huit jours de durcissement, les fragments peuvent être inclus dans du foie pour être coupés; il faut monter dans le baume.

L'épiderme est rouge violet de différentes nuances, les noyaux ne sont visibles que par places, et quelquefois on n'en voit pas du tout; le chorion est blanc, les capillaires, les conduits excréteurs des glandes sudoripares et les nerfs sont d'un violet foncé, tirant sur le noir.

Pour les cellules tactiles simples, il faut faire les coupes aussi fines que possible, on les trouve souvent au voisinage des conduits excréteurs des glandes sudoripares; il ne faut pas les confondre avec les noyaux ratatinés des cellules épithéliales (fig. 80).

Les *fibres nerveuses intra-épithéliales* apparaissent sous la forme de fils très fins; leur connexion avec les fibres nerveuses des couches sous-épithéliales est difficile à établir; les prolongements des cellules de Langerhans peuvent être confondus, sur des coupes très fines, avec des fibres nerveuses intra-épithéliales (fig. 79).

Les *cellules de Langerhans* et les *corpuscules tactiles* sont faciles à voir; sur des coupes épaisses les corpuscules tactiles sont noir foncé (fig. 79), sur des coupes minces ils sont rouge violet (fig. 85).

N° 58. Cellules tactiles composées. — Du bec d'un canard ou d'une oie qu'on vient de tuer, on excise la peau jaune qui recouvre le bord latéral du mandibule supérieur. On découpe cette peau en fragments d'un à deux cent. d'épaisseur sur un cent. de longueur et on les plonge dans 3 cent. cubes d'une solution d'acide osmique à 2 0/0 auxquels on ajoute 3 cent. cubes d'eau distillée; on met le tout à l'abri de la lumière pendant 18 à 24 heures. On lave ensuite ces fragments pendant 1 heure à l'eau courante et on les porte dans environ 20 cent. cubes d'alcool à 90°; on peut couper les fragments déjà 6 heures après; il faut les inclure dans du foie de manière à faire les coupes en allant du chorion vers l'épithélium, jamais en sens inverse. Les coupes peuvent être montées sans coloration dans le baume. Si les cellules tactiles d'un vert olivâtre sont faciles à voir, il n'en est plus de même du point de pénétration de la fibre nerveuse qu'on aperçoit très difficilement (fig. 81 et 82). On trouve en outre dans ces coupes des corpuscules de Herbst (voir page 111). Si l'on veut colorer il faut se servir des matières colorantes qui ont une affinité spéciale pour les noyaux.

N° 59. Renflements terminaux cylindriques. — On se procure à l'abattoir un œil de veau frais et à l'aide de ciseaux et de pinces on excise 1 cent. carré environ de la conjonctive bulbaire le plus près possible du bord de la cornée. Il faut éviter de laisser le fragment se recroqueviller; pour cela on le pose avec précaution, la face épithéliale dirigée en haut, sur une plaque de liège et on le fixe à l'aide d'épingles. On commence par humecter la surface du fragment avec quelques gouttes de l'humeur aqueuse du même œil et l'on isole avec des ciseaux et des pinces une parcelle comprenant une mince couche conjonctive et l'épithélium qui la tapisse. Cette dernière opération exige la plus grande attention. Il faut éviter autant que possible de plisser ou de rouler la parcelle que l'on enlève. On l'étale ensuite, la face épithéliale en haut, sur une lame de verre. Au début le

fragment se rétracte, mais 1 à 2 minutes après les bords se desséchant adhérent au verre et l'on peut assez facilement l'étaler. La lame de verre est portée ensuite dans 60 cent. cubes d'eau distillée auxquels on a ajouté 2 cent. cubes d'acide acétique. Après un séjour d'une heure au plus le fragment se gonfle et se décolle du porte-objet; on peut alors à l'aide d'une pointe d'aiguille bien propre isoler l'épithélium qui se détache sous forme de petits lambeaux blanchâtres. L'opération est d'autant mieux réussie que l'épithélium se détache plus facilement. Après un séjour de 4 à 5 heures dans l'eau additionnée d'acide acétique, on porte le fragment sur une lame de verre, dans quelques gouttes du même liquide et l'on recouvre d'une lamelle que l'on comprime avec des pinces. A un faible grossissement on voit les vaisseaux sanguins rendus plus apparents par le gonflement de leurs noyaux, de même que les fibres (1) nerveuses à myéline; il faut suivre l'une de ces fibres jusqu'à ce qu'elle perde sa myéline. C'est le point intéressant à examiner; et à ce moment il faut employer un fort grossissement, parce que c'est là que l'on peut trouver les renflements terminaux. Dans un grand nombre de cas, on ne voit qu'un grand nombre de noyaux, même au niveau des points les plus favorables (fig. 83). Les renflements terminaux sont très pâles et il est difficile à cause de cela de les bien voir. Ces recherches ne doivent d'ailleurs être faites que par des histologistes déjà exercés, elles ne sont pas à la portée des débutants.

N° 60. — Corpuscules de Vater. Les plus belles préparations s'obtiennent avec le mésentère d'un chat fraîchement sacrifié. Les corpuscules y apparaissent même à l'œil nu, sous la forme de taches ovalaires, laiteuses, situées entre les traînées graisseuses du mésentère.

Leur nombre varie à l'infini; quelquefois il n'y en a qu'un très petit nombre et d'un volume si petit (2) qu'il faut une grande attention pour les voir. On excise avec les ciseaux la portion du mésentère contenant les corpuscules, et on l'étale dans une goutte d'eau salée sur la lame porte-objets: les particules graisseuses seront enlevées avec des aiguilles; il faut bien se garder de piquer le corpuscule même. Avant de mettre la lamelle on commence par s'assurer à l'aide d'un faible grossissement si le corpuscule est suffisamment isolé; si oui, on recouvre d'une lamelle après avoir ajouté une nouvelle goutte d'eau salée. Il faut éviter autant que possible de comprimer la préparation (fig. 84).

A un fort grossissement on voit nettement les noyaux des cellules situées entre les capsules; les noyaux allongés situés dans le renflement interne sont d'un pâle indécis et peu visibles. Veut-on conserver la préparation, on ajoute, sous la lamelle, une à 2 gouttes de solution d'acide osmique à 1 0/0 et, une fois la myéline devenue noire, le renflement interne brun, on remplace l'acide par de la glycérine très diluée.

N° 61. — Terminaisons nerveuses motrices. — a) **Ramifications terminales.** On prend soit les muscles du lézard, soit les petits muscles intercostaux ou les muscles de l'œil de petits mammifères, et on en excise

(1) Chez le veau une partie des fibres nerveuses est dépourvue de myéline, il ne faut pas en tenir compte.

(2) C'est le cas pour la figure 84, le corpuscule est très petit.

un lambeau d'un cent. de long environ; on prépare comme il est indiqué au n° 57. Après avoir laissé les fragments, devenus violet foncé, 3 à 6 jours dans l'alcool, on dissocie des faisceaux musculaires de 2 mm. d'épaisseur dans une goutte de glycérine diluée à laquelle on ajoute une goutte d'acide formique. Il est bon d'exercer une légère pression sur la lamelle. A un faible grossissement (50 diamètres) on voit des fibres musculaires colorées en rouge rosé et en rouge pourpre et d'autres en rouge violet allant jusqu'au violet bleu clair; c'est dans ces dernières fibres musculaires que j'ai vu le plus nettement les ramifications terminales. Pour les trouver il suffit de suivre les fibres nerveuses reconnaissables, déjà à un faible grossissement, à leur coloration noire (fig. 86).

b) **Noyaux des plaques motrices.** On met la moitié antérieure d'un muscle de l'œil d'un lapin fraîchement sacrifié, dans un mélange formé de 97 cent. cubes d'eau et de 3 cent. cubes d'acide acétique; 6 heures après, on porte le muscle dans l'eau distillée et on enlève avec les ciseaux un fragment plat qu'on étale sur la lame porte-objets. Déjà à l'œil nu on voit nettement les rameaux nerveux reconnaissables à leur coloration blanchâtre. A un faible grossissement (50 diamètres) on aperçoit les anastomoses des faisceaux nerveux, ainsi que les vaisseaux sanguins qui se distinguent par les noyaux transversaux de leurs fibres lisses. Il est difficile de trouver les plaques terminales à cause du grand nombre de noyaux nettement délimités qui appartiennent aux muscles, au tissu conjonctif inter-musculaire, etc. Si l'on a soin de suivre une fibre nerveuse, on la voit bientôt perdre sa gaine de myéline et se perdre dans un groupe de noyaux; ce sont les noyaux des plaques motrices, dont les autres détails ne sont pas visibles. La striation transversale des fibres musculaires, très pâle d'ailleurs, est souvent peu nette (fig. 87).