

De l'histogénie du tissu élastique.

Par M. M. Gardner,

de l'Institut histologique de l'Université Impériale de Moscou.

Quoique la question que je me propose de traiter ait déjà un historique de plus d'un demi-siècle, on sait cependant que la science n'a pas encore dit son dernier mot sur ce sujet. Malgré le grand nombre de travaux qui y ont été consacrés, tout nouvel auteur se voit obligé de répéter la phrase stéréotype de ses prédécesseurs: que l'histogénie du tissu élastique est encore très imparfaitement connue et se prête par conséquent à la discussion non seulement dans ses détails, mais aussi dans ses principes mêmes. Le rôle créateur dans la formation du tissu élastique appartient-il à la cellule ou à la substance intercellulaire?—Voilà la question fondamentale pour la solution de laquelle deux opinions ont toujours existé et se font sentir jusqu'à nos jours.

Les partisans de la première ¹⁾ attribuent la formation du tissu élastique à la substance intercellulaire. D'après eux, celle-ci subit à cet effet certaines modifications chimiques ou physiques, soit en transformant la substance collagène directement en élastine—comme disent les uns, soit en changeant simplement d'état d'agrégation—d'après d'autres, soit enfin en élaborant des globules qui, en se soudant les uns aux autres, forment des fibres élastiques (Ranvier).

Les partisans de la seconde ²⁾ reconnaissent un lien génétique entre le tissu élastique et les cellules, mais ils ne sont pas plus d'accord sur celui des éléments anatomiques de la cellule qui prend part à ce processus de formation, que sur la manière dont celui-ci se produit.

Les uns sont d'avis que la cellule tout entière a la faculté de se transformer en fibre élastique. (Schwann, Hessling, Remak, Gerlach), d'autres—que celle-ci provient de l'enveloppe cellulaire, qu'on regardait autrefois comme une partie nécessaire de la cellule (Donders, Virchow), les troisièmes enfin—que la fibre élastique provient de l'allongement et de la soudure des noyaux cellulaires (Henle 1841, Kölliker ³⁾, Kilian, Meyer). C'est aussi aux noyaux que Kouskoff, tout dernièrement, attribuait la part essentielle dans ce processus, mais il ne les regarde que comme la substance-mère donnant naissance aux fibres. Max Schultze et Hertwig pensent que le rôle principal du processus appartient à la fonction génératrice du protoplasma et, en même temps, que les fibres élastiques se forment à la périphérie des cellules. Deutschmann a fait observer que dans le protoplasma des cellules du

¹⁾ Geber, H. Müller, Reichert, Leydig, Frey, Rabl-Rückhard, Ranvier, Kollmann, Grauwitz etc.

²⁾ Schwann, Donders, Virchow, Remak, Boll, Hertwig, Deutschmann, Soudakewitch, Kouskoff, Poliakoff, Reinke, Loisel etc.

³⁾ Plus tard Kölliker s'est prononcé pour la formation des fibres élastiques de la substance fondamentale.

cartilage réticulé il se forme des granulations qui passent à l'état de striures (Streifung) sous forme de filaments très fins lesquels, à leur tour, donnent naissance à des fibres élastiques. D'après Soudakéwitch, c'est le protoplasma qui se transforme en substance élastique, quoique les noyaux participent également à l'acte créateur de formation. Poliakoff attribue la formation des fibres élastiques à l'activité des «cellules-tisseuses»: il pense que le stroma du protoplasma et celui du noyau de ces cellules se transforment tout entiers en substance élastique, tandis que le paraplasma produit la substance collagène. Reinke et Loisel sont enclins à considérer ce processus comme une transformation directe en substance élastique des fibrilles collagènes ou indifférentes qui s'étaient formées préalablement dans le protoplasma des cellules. En outre, Loisel a constaté la présence de granulations sphériques de nature élastique, se trouvant entre les fibrilles collagènes en état de formation; il n'en précise pas encore le rôle dans la production des fibres élastiques, mais il se réserve de reprendre prochainement cette question.

Je ne cite pas les opinions de beaucoup d'autres histologistes; je m'abstiens même de rapporter la manière de voir des auteurs dont j'ai formé plus haut deux groupes. Les travaux publiés sur cette matière ont été plus d'une fois passés en revue et leur examen détaillé me ferait sortir des limites que je me suis tracées. Les courtes indications que je me suis permises ont exclusivement pour objet de rappeler la grande divergence des opinions sur l'histogénie du tissu élastique, ainsi que la nécessité qui en résulte de continuer et de multiplier nos recherches dans cette direction. Ces recherches sont d'autant plus nécessaires qu'à cette question purement histologique s'en rattache étroitement une autre—d'un grand intérêt biologique—celle du rôle et de l'importance pour l'organisme animal des substances dites inter-cellulaires.

Sur le conseil de notre honoré professeur, M-r J. F. Ognéw, auquel je me fais un plaisir d'exprimer ici ma profonde reconnaissance, j'entrepris à ce sujet une série d'observations que je me décide à exposer dans ce petit ouvrage. Bien que mes recherches se soient bornées à un nombre restreint d'animaux et d'objets, je crois pourtant qu'elles sont de nature à ajouter quelques données précises à la somme des faits qui, un jour, serviront de base à la solution définitive de la question de l'histogénie du tissu élastique.

J'ai reconnu dès le début que le point de départ de mon travail devait être la recherche de nouveaux objets et de nouvelles méthodes d'observation. Le cartilage réticulé et le ligamentum nuchae, dont on se servait habituellement, ont un désavantage, c'est que leurs éléments de structure sont trop rapprochés les uns des autres. Il en résulte qu'il est impossible de se faire une idée nette ni de la position des cellules les unes par rapport aux autres, ni de celle des cellules vis-à-vis de la substance fondamentale. Cette circonstance si peu favorable à l'observation, mettait les expérimentateurs dans l'obligation d'avoir recours à des procédés de dissociation d'un caractère au plus haut degré destructif parfois, et néanmoins ils n'étaient pas sûrs si ce qu'ils voyaient se rapportait bien à l'élément donné et non à d'autres couches de cellules qui par suite de leur adhérence simulaient la

structure de l'élément observé. En outre, les éléments cellulaires de ces objets sont si menus que les détails de leur structure atteignent presque la limite du visible.

J'ai été plus favorisé que mes prédécesseurs dans la recherche d'un objet mieux approprié à l'observation du tissu élastique, car je disposais d'un grand nombre de méthodes de coloration élective de ce tissu. Par leur sensibilité et leur constance, ces méthodes, élaborées à une époque récente, ont presque la valeur de réactions microchimiques. C'est en me servant de ces méthodes que j'ai étudié les différentes régions de l'organisme animal et que j'ai trouvé que la répartition topographique du tissu élastique était généralement plus étendue que les observations antérieures ne l'avaient fait penser. Ainsi, j'ai eu, par exemple, l'occasion de constater la présence d'un grand nombre de fibres élastiques dans la portion intra-orbitaire du nerf optique, dans l'épaisseur des lamelles du tissu conjonctif qui enveloppent chaque faisceau de fibres nerveuses. Mais c'est surtout dans l'annios de différents animaux que j'ai trouvé le tissu élastique le plus fortement répandu et j'en ai fait l'objet de mes recherches sur l'histogénie du tissu élastique. Les considérations suivantes m'ont fait donner la préférence à cet organe qui avait jusque là fort peu attiré l'attention des histologistes:

1) Les membranes amniotiques sont très minces et transparentes; elles se détachent facilement les unes des autres et se prêtent à l'examen microscopique presque à l'état vivant, sans aucun traitement préalable.

2) Au moyen d'une fixation convenable il devient facile non seulement de séparer le chorion de l'amnion, mais encore de diviser ces membranes en lamelles formées d'une seule couche de cellules, ce qui fait qu'il est impossible de confondre le tissu qu'on est en train d'examiner avec des couches superposées ou sous-jacentes.

3) Les éléments cellulaires des lamelles isolées formées d'une seule couche de cellules, se trouvent, à une certaine période de leur développement, disposés à une assez grande distance les uns des autres pour qu'on puisse se faire une idée nette du rapport morphologique entre les cellules et la substance inter-cellulaire.

4) L'annios est un organe dont le cycle de développement se termine très vite; en même temps, les processus de la formation du tissu présentent sans cesse le caractère d'une évolution active, ce qui fait qu'on ne risque pas de rencontrer ici des modifications provenant de la dégénérescence des tissus. Si de telles modifications existent dans des cellules isolées, qui périssent après avoir rempli leur rôle, elles s'y manifestent avec tant de clarté et donnent un tableau si détaillé du processus de dégénérescence qu'elles ne nuisent pas à l'observation, mais que, au contraire, elles la complètent et lui donnent le fini désirable.

5) L'intensité de la formation du tissu présente en outre l'avantage de donner à l'observateur la possibilité de voir sur la même membrane, dans ses différentes couches, presque tous les degrés de développement du tissu, depuis ses premiers rudiments jusqu'à ses formes définitives. En sus, l'état d'indépendance morphologique relative de l'annios tant du corps maternel que

de celui du foetus, permet l'observation des processus qui se passent in loco, sans que des insertions de tissus de quelque région voisine viennent s'y mêler.

J'ai eu à ma disposition des amnios d'embryons de cochon, de mouton, de lapin et de cochon d'Inde à différents stades de leur développement et j'ai trouvé que ceux du cochon, vers la moitié de l'âge du foetus (10—15 cm.), répondaient le mieux à mes vues.

Les méthodes d'observation que j'ai suivies ont été très variées. Dans le courant des dix-huit mois que j'ai consacrés à l'étude de cette question, j'ai soumis à l'expérience presque tous les fixateurs les plus usités, toutes les méthodes de coloration élective du tissu élastique dont il avait jamais été question dans la littérature; j'ai essayé de modifier d'anciennes méthodes et d'en combiner de nouvelles. Ces essais m'ont prouvé que le liquide de Müller était le meilleur fixateur des membranes de l'amnios pour l'étude de l'histogénie du tissu élastique (c'est aussi l'opinion de Loisel), et la méthode de la fuchsine décrite par Taenzer (méthode d'Unna modifiée)—la meilleure méthode de coloration élective. La plupart des autres fixateurs, y compris l'acide osmique et le sublimé, ratatinent fortement les membranes; quant aux autres méthodes de coloration élective, elles donnent des images moins nettes que celles qu'on obtient par la méthode de la fuchsine. D'après cette méthode, on fixe les tissus par l'alcool ou par la liqueur de Flemming, on les passe dans l'alcool absolu, on les colore préalablement par la vésubine, puis on les plonge, après un lavage à l'eau, pour 24 heures dans la liqueur suivante: fuchsine 0,5, alcool 25,0, aq. destill. 25,0 et acid. nitr. (à 25 pour 100) 10,0. Après ce bain on immerge le tissu pour 2—3 secondes dans une solution d'acide azotique à 25 pour 100, on le déteint en le passant à l'acide acétique dilué, on déshydrate rapidement par l'alcool absolu et on le plonge dans du baume de Canada après l'avoir passé à la cédrelée. Dans le but tout spécial que je poursuivais, j'ai été obligé de modifier un peu cette méthode, vu que la partie du traitement qui introduit la liqueur de Flemming et l'alcool absolu ne peut être appliquée aux membranes amniotiques, car ces deux liquides les ratatinent à un tel point qu'il devient impossible de les étendre sur le porte-objet dans un seul plan. Quant au baume de Canada il possède l'inconvénient de ne pas pouvoir servir aux observations du tissu élastique, les coefficients de réfraction des deux substances étant assez proches, ce qui nuit à la netteté de l'image. J'ai reconnu plus tard qu'en remplaçant, après la coloration par la fuchsine, l'acide azotique à 25 pour 100 par une solution de potasse caustique au même degré de concentration (lorsque la coloration se fait rapidement, il est avantageux de se servir de solutions plus diluées), on obtient une différenciation beaucoup meilleure. La méthode fondamentale appliquée aux membranes amniotiques se réduirait donc aux opérations suivantes: fixation pendant 2—3 jours dans la liqueur de Muller, lavage rapide à l'eau distillée et élimination par l'alcool à 60° des sels de chrome dans l'obscurité, après quoi on immerge les membranes dans de l'alcool à 75°, où elles se conservent assez longtemps sans perdre aucune des propriétés d'un objet frais. Lorsqu'on veut en étudier un morceau, on le lave à l'eau distillée, on le débarrasse des couches épithéliales, soit en le secouant doucement dans

une éprouvette avec de l'eau distillée, soit à l'aide d'une pince. C'est aussi avec la pince qu'on le divise en lamelles aussi minces que possible. On colore d'abord celles-ci à la vésuvine, on les lave encore une fois à l'eau pour éliminer l'excès de couleur et on les plonge pour 24 heures ou, mieux encore, pour plus longtemps, dans la solution de fuchsine et d'acide azotique dont nous avons parlé. En les sortant de ce mélange on les plonge chacune pour une seconde dans une solution de potasse caustique à 25 pour 100, puis successivement dans une série de capsules remplies d'eau. Il faut opérer très rapidement afin de faire cesser le plus tôt possible l'action de la potasse caustique, qui passe de la préparation dans les premières portions de l'eau. Après cela, sans avoir traité les lamelles par l'acide acétique, on étend chacune d'elles sur le porte-objet dans une goutte d'eau ou de glycérine très diluée, additionnée d'un peu de thymol. Par ce traitement les noyaux cellulaires apparaissent colorés en rouge foncé, le protoplasma en rose et les fibres élastiques en bleu foncé sur le fond général de la préparation blanc ou légèrement rougeâtre (Fig. 1). Ce contraste de rouge et de bleu facilite beaucoup l'étude microscopique, vu qu'il permet de découvrir la présence de la substance élastique même dans le cas où elle se trouve sous forme de fibrilles extrêmement fines, ou de granules de diverses formes presque imperceptibles. Par cette méthode modifiée, la différenciation peut être exécutée aussi à l'aide d'acide azotique à 25 pour 100 au lieu de potasse caustique: on obtient aussi des images très élégantes et très instructives, quoique un peu moins fortement colorées. Dans tous les cas, il faut éviter celles des opérations de la méthode fondamentale, qui, comme je l'ai indiqué plus haut, exercent une action défavorable sur les membranes de l'amnios.

Afin d'être tout à fait sûr que, par le procédé que j'ai décrit, c'était bien le tissu élastique qui se colorait en bleu et non quelque autre, j'ai vérifié cette coloration sur des tissus d'animaux adultes, en les prenant dans des régions où l'existence des fibres élastiques est manifeste et où les détails de leur répartition sont bien connus, telles que les couches du tissu conjonctif de la peau et le ligamentum nuchae du veau, et j'ai toujours obtenu des images identiques, quant aux contrastes de coloration et aux teintes, à celles que donnent les membranes de l'amnios. Malheureusement, la coloration ne réussit pas toujours. Mes recherches à ce sujet me portent à croire que la nonréussite dépend de deux causes: de la qualité de la fuchsine, qui n'est pas toujours la même, quoiqu'elle provienne de la même fabrique, et du degré de pureté de l'acide azotique. Celui-ci doit être chimiquement pur, ou tout au moins ne pas contenir d'acide azoteux.

Cependant, quelque parfaite que soit cette méthode au point de vue de la coloration élective, elle ne saurait servir à élucider toutes les questions qui pourraient se présenter pendant l'étude des images microscopiques obtenues. C'est la raison pour laquelle j'ai dû avoir recours à beaucoup d'autres procédés éprouvés, entre autres à la méthode de Wolters: traitement par le chlorure de vanadium et par l'acétate d'alumine, coloration par l'haematoxyline de Koulchitski et différenciation à l'aide du chlorure de fer ou de la liqueur de Weigert (solution de borax et de ferrocyanure de potassium—Borax-Blutlaugensalzlösung). Je fais mention de cette méthode parce que, l'ayant appliquée

aux membranes de l'amnios, je l'ai trouvée très utile, moins cependant pour la coloration élective des fibres élastiques que pour la démonstration du rapport qui existe entre celles-ci et les fibres collagènes, vu que ces dernières ressortent par ce traitement avec beaucoup de netteté. On peut encore s'en servir avec avantage pour l'étude des éléments cellulaires et de tous les changements qui s'y produisent. Pour cette étude, on peut encore faire usage du procédé de fixation des membranes de l'amnios par un mélange fraîchement préparé de 4 parties d'une solution aqueuse saturée d'acétate cuivrique et d'une partie d'acide osmique à 1 pour 100 (pendant 3—4 heures), après quoi le tissu est traité par l'acide gallique. Ce fixateur, tout en laissant les détails de la structure du tissu intacts, joue en même temps le rôle d'un bon mordant, sans ratatiner les membranes—ce que font tous les autres fixateurs contenant de l'acide osmique. N'ayant pas trouvé de description de ce procédé dans les ouvrages spéciaux que j'ai eus à ma disposition, j'ai dû le combiner moi-même, la nécessité s'étant présentée de vérifier une observation à l'aide du fixateur nucléaire (OsO_4), tout en prenant en considération les particularités de l'objet sur lequel portaient mes travaux.

Lorsqu'on observe dans l'eau ou dans la glycérine diluée des lamelles extrêmement minces d'amnios de l'embryon du cochon traitées d'après la méthode de la fuchsine, modifiée comme je l'ai indiqué, on voit les fibres élastiques ressortir nettement en bleu foncé sur le fond rougeâtre de la préparation, comme je l'ai déjà dit. La répartition de ces fibres dans les différents étages des lamelles n'est pas la même. Dans les couches de l'amnios proprement dit et dans celles du chorion les fibres parcourent la préparation en ligne droite et envoient sous un angle plus ou moins aigu des prolongements latéraux qui s'anastomosent avec des fibres de la même espèce, mais disposées quelquefois à une distance égale à la moitié ou même à toute la largeur du champ visuel du microscope. Cela donne l'image d'un réticule à très larges mailles. On rencontre, en outre, des fibres qui parcourent plusieurs champs visuels sans donner de prolongements latéraux. Souvent, au lieu d'une seule fibre on en voit tout un faisceau, formé de fibres parallèles non-anastomosées au moyen de prolongements et séparées visiblement les unes des autres par des espaces remplis de substance inter-cellulaire.

Les mêmes fibres ont un tout autre aspect dans la couche moyenne qui unit l'amnion au chorion. Nous y voyons un réticule serré, mais extrêmement délicat et à mailles très fines. La grosseur des fibres des réticules, tant à larges mailles qu'à mailles serrées, varie beaucoup, en commençant par des filaments à peine mesurables et en finissant par des grosseurs de 8 à 10 μ . Cependant les fibres du réticule à mailles serrées sont toujours moins grosses que celles du réticule à larges mailles, du moins dans l'amnios de l'embryon du cochon. Dans celui du cochon d'Inde elles sont un peu plus grosses.

Ce qui est surtout remarquable et peut être observé presque sur chaque préparation, c'est la réunion graduelle de fibrilles extrêmement fines en une seule fibrille, dont le diamètre est égal à la somme des diamètres de ses composantes. Les fibrilles plus grosses, ainsi formées, se réunissent à leur tour en fibrilles encore plus grosses et ainsi de suite, jusqu'à ce que la dernière

limite de grosseur des fibres visibles sur la préparation soit atteinte. Si l'on produit sur celle-ci au moyen de deux pinces une traction assez forte pour amener la rupture des fibres élastiques, on voit leurs extrémités, à l'endroit de la rupture, se tordre de la même façon que les fibres du ligamentum nuchae, lorsqu'on les effile.

Tel est l'aspect des fibres adultes. Voyons maintenant ce qui se passe à des degrés de développement moins avancés. Dans ce but examinons, après la coloration élective, des préparations de celles des couches des membranes dans lesquelles se forme le réticule à mailles serrées. Il est avantageux de ne pas les prendre trop jeunes, mais plutôt à des périodes où l'aspect étoilé des cellules soit déjà prononcé et où celles-ci soient séparées les unes des autres par une assez grande quantité de substance inter-cellulaire pour que chaque cellule soit nettement visible. Les cellules qu'on y rencontre sont assez grandes; elles sont formées d'un grand noyau rond ou ovoïde, d'un protoplasma finement granulé de couleur rose, et de longs prolongements protoplasmiques qui anastomosent avec les prolongements des cellules voisines. Il suffit d'un apochromate de Zeiss de 4 mm. pour distinguer dans le protoplasma de ces cellules des granules d'un bleu exactement identique à celui dont se colore la substance élastique toute mûre. Ces granules remplissent le protoplasma des cellules tantôt sans aucun ordre apparent, tantôt en forment des chapelets. Le mot «granule» a besoin d'une explication. Je ne m'en sers, pour désigner ces élaborations, que par convention et pour être bref, car ce mot présente l'idée d'un corps solide, ce qui ne saurait être dans notre cas. Ces corpuscules sont surtout de forme sphérique, cependant quelques-uns forment de petits amas irréguliers. Leur grandeur varie, en commençant par ceux qu'on distingue à peine dans une immersion homogène et en finissant par ceux qui sont très bien visibles au système de correction 4,0 mm. Ces granules ont l'air de couler dans les prolongements des cellules; plus ceux-ci s'amincissent en s'éloignant du corps de la cellule, plus le nombre des rangées formées par ces granules diminue. Vers le milieu de la jonction des prolongements de deux cellules voisines, les granules ne forment plus qu'une seule rangée, rarement 2—3. Lorsqu'ils rencontrent des granules analogues se mouvant dans un prolongement voisin, ils se confondent avec eux pour former un filament extrêmement fin et uni (Fig. 2). Celui-ci devient de plus en plus long, à mesure que de nouveaux granules viennent s'ajouter à ses deux bouts. Le filament a la même coloration que la fibre élastique tout-à-fait adulte. On observe souvent qu'un filament de ce genre se forme dans les limites d'une seule cellule; en ce cas il est ordinairement un peu renflé vers le milieu, ce qui fait que la fibre entière ressemble à un fuseau très allongé. Dans la suite le filament va toujours s'unir à un autre filament de la même espèce, après quoi leur surface s'égalise et devient régulièrement cylindrique. Ce qui est curieux, c'est que les fibrilles élastiques formées se rangent dans le protoplasma de la cellule de manière à ne jamais toucher au noyau. Si ce dernier se trouve sur le passage d'une fibrille, celle-ci décrit une courbe parallèle à la surface du noyau—ce qui lui donne la possibilité de passer à une certaine distance du noyau—pour reprendre sa direction première aussitôt que l'obstacle est tourné. C'est ainsi que se forme le réticule à

mailles fines de fibres élastiques, ébauché d'abord par un réticule de cellules génératrices anastomosées au moyen de leurs prolongements.

Si nous considérons maintenant l'histoire du développement de ces fibres élastiques longues et relativement grosses qui se présentent dans les membranes du chorion et de l'amnion sous la forme d'un réticule à larges mailles ou de grosses fibres isolées, nous apercevons sur les préparations d'une membrane assez jeune l'image suivante: sur le fond homogène et légèrement fibreux de la substance fondamentale, parsemé d'éléments errants tant isolés que sous la forme de petites agglomérations, se trouvent des groupes de cellules anastomosées au moyen de leurs prolongements longs et fortement ramifiés. Ces groupes cellulaires forment des îlots plus ou moins grands, qui envoient dans une, quelquefois dans deux ou plusieurs directions, des traînées ou colonnettes plus étroites et longues, formées également de cellules anastomosées au moyen de leurs prolongements. On peut suivre ces traînées très loin sur la préparation et l'on voit que quelques-unes restent isolées et que d'autres envoient des traînées latérales qui s'anastomosent ou à des îlots cellulaires voisins, ou à d'autres traînées qui partent de ces dernières. L'aspect général est tout-à-fait le même que celui du tissu élastique adulte sous forme de réticule à larges mailles. Sur des préparations de membranes d'un âge encore moins avancé on peut suivre pas à pas la formation des éléments que nous venons de décrire. C'est ordinairement dans le voisinage des vaisseaux sanguins qu'on trouve des cellules arrondies ou fusiformes qui donnent bientôt des prolongements. Au moyen de ces derniers les cellules s'anastomosent soit deux à deux, soit par petits groupes qui s'agrandissent dans tous les sens par la division des cellules, formant ainsi des îlots séparés les uns des autres par d'assez grandes quantités de substance fondamentale. Des cellules nouvellement formées se détachent ensuite de ces îlots et vont former dans une direction ou dans une autre des colonnettes ou traînées composées de deux, trois, souvent de plusieurs rangées de cellules. Nous voyons en même temps que vers le milieu de ces traînées et de ces îlots cellulaires le tissu se colore toujours d'une manière beaucoup plus intense que la substance fondamentale environnante. Si nous traitons une préparation de ce degré de formation selon la méthode de Wolters ou par le procédé du mordantage au sel de cuivre que nous avons décrit, nous voyons que dans certains endroits des traînées les cellules deviennent plus rares, se désagrègent pour ainsi dire, tandis que des phénomènes de vacuolisation se produisent dans le protoplasma et ceux de cariolyse dans le noyau. Des traînées cellulaires sont remplacées par des faisceaux de fibrilles collagènes, disposées en rangées régulières très serrées, mais parfaitement visibles. Des fibrilles collagènes de la même espèce, mais disposées en éventail, partent des îlots cellulaires et l'on voit clairement les cellules qui se trouvent à la périphérie des îlots se désagréger peu à peu et présenter les mêmes phénomènes de dégénérescence que celles des traînées. Si nous examinons les faisceaux des fibres collagènes ainsi formées, nous distinguons clairement dans l'intérieur de ces faisceaux, en tournant la vis, des fibrilles qui réfractent fortement la lumière et qui, quoique incolores, se comportent au point de vue optique tout-à-fait de la même manière que les fibres élastiques ordinaires au dernier stade de leur développement. Il est facile de

s'assurer qu'on est en présence de véritables fibres élastiques, engagées au milieu de fibrilles collagènes, lorsqu'on soumet la préparation de ce stade de développement à un traitement de coloration élective (Fig. 3). Nous voyons alors, dans le protoplasma des cellules qui forment les îlots, apparaître des granules bleus qui, en se fusionnant, forment des fibrilles extrêmement fines. Chacune de ces fibrilles va se placer à côté de celle qui s'est formée dans le protoplasma d'une cellule voisine; à quelque distance de là d'autres groupes de fibrilles, formées d'une manière analogue, viennent se joindre aux premières, après quoi elles se dirigent toutes vers une trainée où elles s'unissent à d'autres fibrilles qui s'étaient développées de la même manière dans le protoplasma des cellules des traînées elles mêmes. Bref, le processus de développement se fait ici sur le même plan que celui que nous avons déjà étudié lors de la formation du réticule à mailles fines. Dans le cas présent le réticule à larges mailles est également ébauché par des cellules disposées d'une manière caractéristique, et il se forme également aux dépens de ces cellules, dans leur protoplasma. Ajoutons seulement que la formation de traînées ou colonnettes n'est pas une condition indispensable à la production d'une fibre élastique isolée; au contraire, elles produisent toujours des séries de fibres, tandis que les fibres isolées, que je n'appelle ainsi que parce qu'on les voit quelquefois parcourir plusieurs champs visuels sans produire de ramifications latérales, sont ébauchées par des cellules disposées en une seule rangée. La différence consiste seulement en ce que ces cellules génératrices, ne produisant pas de prolongements latéraux, s'anastomosent par des prolongements polaires, mais le processus du développement de la fibre élastique reproduit toujours le même type.

Pour s'assurer, quoique par des tableaux moins brillants, que les images que j'ai décrites ne sont pas artificielles, on peut faire subir aux préparations d'autres traitements, en modifiant les méthodes de coloration élective et de fixation. Cependant, il n'y a pas de doute que la liqueur de Muller ne soit, dans le cas qui nous occupe, l'un des meilleurs fixateurs du protoplasma. Mais la meilleure preuve encore de la véracité de ces images peut être fournie par une vérification sur des membranes tout-à-fait fraîches, n'ayant subi aucun traitement et où tout le processus devient plus ou moins visible, grâce à la forte réfraction de la substance élastique. De plus, si l'on dissout presque complètement dans la potasse caustique une préparation de ce genre, mais fraîche, les granules et les fibrilles ressortent avec beaucoup de netteté, n'étant pas attaquées par ce réactif; or, on sait que la résistance à la potasse caustique est une propriété caractéristique qui distingue la substance élastique de toute autre. Les propriétés dont nous avons pris connaissance servent donc à déterminer la nature de ces granules, toute différente de celle des autres éléments morphologiques auxquels elles ressemblent, tels que les bioblastes d'Altmann, par exemple, qu'on n'obtient que par des traitements particuliers, ou les granulations d'Ehrlich, les méthodes de teinture d'Ehrlich ne donnant ici que des résultats négatifs. En un mot, ce sont des granules *sui generis* qui se cristallisent comme deutoplasma et se fondent ensuite en minces fibrilles, après quoi la cellule, comme telle, meurt.

Tout ce qui vient d'être dit ici sur l'histogénie du tissu élastique dans les membranes de l'amnios peut donc être résumé par les conclusions suivantes:

1) La substance élastique s'élabore entièrement dans le protoplasma des cellules sous forme de granules extrêmement petits de forme ordinairement sphérique, plus rarement irrégulière. Ni le noyau de la cellule, ni la substance fondamentale qui entoure celle-ci ne participent d'une manière immédiate ou sensible à ce processus.

2) Les granules élastiques se fusionnent ensuite en formant des filaments très fins. Cette fusion peut se produire dans les limites d'une seule cellule ou dans celles de plusieurs cellules anastomosées par leurs prolongements; dans l'un et l'autre cas les filaments n'ont aucun rapport avec le noyau de la cellule et l'évitent toujours en passant à une certaine distance, parallèlement à sa courbe.

3) Les filaments élastiques minces formés dans des cellules voisines forment en se fondant un filament plus gros auquel vient se joindre, à une certaine distance, un autre filament formé, à son tour, de deux ou plusieurs filaments analogues et ainsi de suite, jusqu'à la formation d'une fibre plus grosse dont le diamètre est égal à la somme des diamètres de ses composantes.

4) Le tissu élastique, qu'il soit distribué sous forme de réticules à larges mailles ou à mailles serrées, ou sous forme de fibres isolées qui peuvent ou peuvent ne pas se ramifier, est toujours ébauché par une disposition analogue et caractéristique des cellules qui produisent les fibres; une insertion active des fibres élastiques dans la substance extraprotoplasmique n'a été observée nulle part. Leur croissance se fait par apposition.

Si ce mode de développement du tissu élastique qu'on observe dans les membranes de l'amnios pouvait être prouvé pour toutes les autres régions de l'organisme animal (c'est à quoi je travaille maintenant), si, par conséquent, le processus de formation de la fibre élastique, tel que nous l'avons décrit, pouvait être considéré comme un phénomène général, il serait possible de tirer de ce processus de formation même des conclusions sur la structure de la fibre élastique dans sa forme définitive. Le jugement qu'on se formait de cette structure n'était fondé jusqu'à présent que sur l'image que les fibres élastiques offraient après différents traitements désagrégeants. En désagrégeant d'une certaine manière, on obtenait telle image, en désagrégeant d'une autre façon—telle autre, mais, comme dans tous ces cas-là on avait affaire à un seul et même objet, il est évident que la diversité des images obtenues dépendait non de la véritable structure de la fibre, mais du caractère de l'agent employé. Il me semble donc que quels que soient les nouveaux modes de traitement de la fibre élastique dans le but d'élucider les détails de sa structure, et quelles que soient les images qui en résulteront, celles-ci prêteront toujours au doute. Elles ne sauront démentir les images antérieures comme, par exemple, celle de la structure tubuleuse des fibres élastiques (Purkinje, Virchow, Oehl, Recklinghausen), ou celles qui démontraient l'existence dans la fibre de deux couches distinctes, l'une axiale, l'autre périphérique (Ebner, Schwalbe, Pfeyffer). Les nouvelles images auront leur place à côté des anciennes et n'auront d'autre valeur que celle de représenter le résultat de tel traitement particulier. Il me semble donc qu'on aura plus de chances de se faire une idée juste de la structure de la fibre élastique en constituant cette dernière au lieu de la détruire en la désagrégeant. Bien que cette ques-

tion s'écarte quelque peu du sujet de notre communication, cependant je crois de mon devoir d'en faire mention en tant qu'elle concerne les membranes de l'amnios. En effet, quiconque voudrait soumettre mon travail à un contrôle, tomberait en premier lieu sur des images comme celle de la fig. 4, qui a servi de base à la troisième de mes conclusions. Il s'y produit, pour ainsi dire sous les yeux de l'observateur, la réunion en une fibre plus grosse de fibrilles minces qui, à leur tour, ainsi que nous le savons par l'histoire de leur développement, ont été formées par la soudure de granules de nature élastique. La faculté de se souder a été depuis longtemps reconnue comme l'une des propriétés caractéristiques de la substance élastique. Dans notre cas cette propriété se manifeste de deux manières: d'un côté, par la soudure des granules entre eux dans le but de former la fibrille primordiale, par conséquent dans un plan perpendiculaire à l'axe longitudinal de la fibre future; de l'autre—par la soudure entre elles des fibrilles primordiales pour produire une fibre plus grosse—dans un sens parallèle à l'axe longitudinal de celle-ci. La première de ces soudures est plus solide, car on ne parvient pas à la détruire mécaniquement, c'est-à-dire à diviser les fibrilles les plus minces en granules; l'autre l'est moins, surtout au commencement. Lorsqu'on étire fortement une membrane amniotique dans les directions perpendiculaires à l'axe longitudinal de ses fibres, on arrive quelquefois à diviser en un faisceau de minces fibrilles une fibre qui au point de vue optique présentait déjà un tout homogène, comme cela se voit sur la fig. 5, tandis que des deux côtés opposés, là où l'étirement n'avait pas eu lieu, la fibre continue à former un tout homogène au point de vue optique. Il est donc permis de penser que la fibre élastique, étant composée de fibrilles plus minces, garde cette structure fibreuse pendant un certain temps. Peut-être même la garde-t-elle pour toujours, mais les considérations sur l'action des agents de désagrégation que j'ai énoncées plus haut m'empêchent pour le moment de toucher à cette question. Si l'on accorde à ces agents quelque valeur pour l'étude de la structure intime de la fibre élastique, qu'il me soit permis de mentionner une méthode de traitement grâce à laquelle j'ai eu la possibilité de voir assez clairement la structure fibreuse de fibres élastiques tout-à-fait développées. On opère de la manière suivante: de petits morceaux du ligament nuchal d'un veau sont fixés par une solution aqueuse d'alcool et d'acide osmique (à 1 pour 100) et noircis par du tannin (procédé Kolossoff), après quoi on les monte dans la paraffine et l'on en fait à l'aide du microtome des coupes aussi minces que possible, d'une grosseur de $5\ \mu$ tout au plus. On colle les coupes sur le couvre-objet d'après la méthode dite japonaise et on les traite successivement par le xylol pour éliminer la paraffine, par l'alcool absolu, l'alcool dilué et, en dernier lieu, par l'eau. Après cela on place le couvre-objet avec la coupe sur une grosse goutte de potasse caustique à 25 pour 100 se trouvant sur le porte-objet et l'on abandonne pour quelques heures l'objet ainsi garanti de la dessiccation. On ajoute de temps en temps de la potasse caustique, en mettant une goutte sur le bord du couvre-objet. 4—5 heures après on remplace la potasse caustique par de l'eau et l'on écrase la préparation en frappant le couvre-objet d'une grosse aiguille. Lorsque je regardais une préparation ainsi faite avec un obscurcissement central ou, mieux en-

core, sur le fond d'une lumière monochromatique il m'arrivait de voir assez distinctement des striures longitudinales sur les fibres élastiques, et la division en fibrilles des bouts de quelques fibres isolées. Cependant, je le répète, si je me hasarde à parler de ces images, c'est uniquement comme suite à celles dont il est question chez d'autres auteurs et je suis loin de leur attribuer une valeur décisive, propre à me faire incliner vers l'opinion depuis longtemps énoncée (Räuschel, Valentin) que les fibres élastiques ont une structure fibreuse.

En ce moment on ne saurait admettre une pareille structure que pour le tissu élastique jeune, en se basant sur l'histoire de son développement.

Il est encore un fait digne d'attention et que l'on observe souvent lorsqu'on examine les membranes de l'amnios traitées d'après la méthode de la fuchsine décrite plus haut. Si, avant de monter la préparation définitivement, on l'étire à l'aide de deux pinces, on observe quelquefois sur les fibres étirées, non dans le sens perpendiculaire à leur axe, car il en a déjà été question, mais dans la direction même de l'axe, des ruptures de la substance élastique. On voit en même temps les deux bouts qui se sont séparés et bien tordus en zigzag, ou encore ont gardé leur direction primitive en ligne droite. Dans le premier cas on découvre que les fragments tordus de la fibre ont l'air d'être placés dans un tube droit qui se traduit optiquement, des deux côtés, par deux faibles contours incolores. Dans l'autre cas on n'aperçoit ces contours que dans l'espace que laissent entre eux les deux bouts de la fibre rompue, et ils disparaissent complètement dans les endroits restés intacts. C'est pourquoi on croit voir une gaine qui entoure la fibre élastique. Cette gaine existe-t-elle véritablement, ou ces contours ne sont-ils que l'expression optique du lieu que la substance élastique avait occupé dans la substance fondamentale? Ce sont là des questions auxquelles il ne nous est pas encore permis de répondre.

Les résultats de mes recherches sur la question de l'histogénie du tissu élastique exposés plus haut ont été soumis par moi à la Société Impériale des Naturalistes de Moscou dans sa Séance du 17 octobre 1896.

Explication des planches.

- Fig. 1.** Tissu élastique tout-à-fait développé de l'amnios d'un foetus du cochon, fixé par la liqueur de Muller et teint électivement d'après la méthode modifiée de la fuchsine. Dans l'arrière-plan du dessin on aperçoit un réticulum de cellules de la couche moyenne de la membrane et dans le protoplasma de ces cellules le dépôt primordial de granules de nature élastique.
- Fig. 2.** Le dépôt de la substance élastique dans le protoplasma des cellules s'est considérablement accru. Ça et là les granules élastiques se fusionnent déjà pour former des filaments extrêmement fins.
- Fig. 3.** Des îlots et des traînées de cellules constituent le tissu élastique sous la forme d'un réticulum à larges mailles. Au milieu des faisceaux de fibres collagènes formées à la place de traînées cellulaires se voient de minces fils élastiques. Les cellules mêmes des traînées ont déjà péri presque toutes. Le processus de la formation des granules et de leur fusion n'a pas été représenté à cause des dimensions insuffisantes de notre dessin. Ce processus a été représenté sur la fig. 2.
- Fig. 4.** Formation graduelle d'une fibre plus grosse au moyen de fibrilles extrêmement fines.
- Fig. 5.** Fibre élastique de moyenne grosseur, homogène si l'on en juge par son aspect, étirée perpendiculairement à son axe longitudinal. Là où la traction a été appliquée, la fibre s'est divisée en nombreuses fibrilles excessivement minces qui, des deux cotés opposés de cet endroit, se sont de nouveau fondues pour former une fibre homogène.
-

Fig. 1.



Fig. 3.

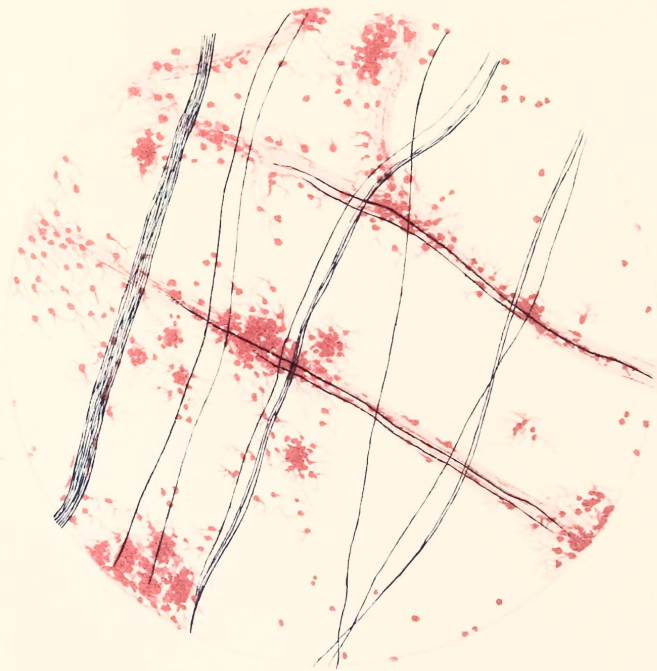


Fig. 2.



Fig. 5.

Fig. 4.

