

# Étude de la structure de l'os au microscope électronique

Autor(en): **Rutishauser, Erwin / Huber, Lucie / Kellenberger, Edouard**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Archives des sciences [1948-1980]**

Band (Jahr): **3 (1950)**

Heft 2

PDF erstellt am: **12.07.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-739445>

## **Nutzungsbedingungen**

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern. Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

## **Haftungsausschluss**

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

**Erwin Rutishauser, Lucie Huber, Edouard Kellenberger, Guido Majno et Charles Rouiller.** — *Etude de la structure de l'os au microscope électronique.*

L'étude du tissu osseux au microscope électronique n'est qu'à ses débuts. Nous avons abordé ce sujet en utilisant une méthode indirecte, celle de l'empreinte.

Selon cette méthode, on n'examine pas l'objet lui-même. Un procédé à étapes successives permet le remplacement de la surface à étudier par une très fine pellicule qui en épouse exactement la forme: l'empreinte est ainsi réalisée.

Parmi les méthodes d'empreinte, il y a plusieurs variantes. Nous avons choisi un procédé au celluloïd, mis au point par l'un de nous [1].

On humecte la surface à étudier d'acétone et on la recouvre d'une feuille de celluloïd épaisse de 0,3 mm. L'acétone, douée d'un pouvoir mouillant très fort, pénètre dans les moindres aspérités. Progressivement, elle est remplacée par le celluloïd dissous. L'acétone diffuse à travers la lame de celluloïd et s'évapore. On obtient ainsi une fidélité qui équivaut au pouvoir de résolution du microscope électronique (environ 50 Å). Une fois la lame de celluloïd sèche, on la décolle facilement de l'os. On possède ainsi le négatif de la surface à examiner. L'épaisseur de la lame est telle qu'on ne peut l'utiliser directement au microscope. Par contre, elle révèle des détails intéressants à l'examen au microscope ordinaire ou, mieux encore, au microscope à contraste de phase, ainsi que nous le montrerons plus loin.

Pour le microscope électronique, on procède à la confection d'une seconde empreinte du moulage au celluloïd, en évaporant, dans le vide, du monoxyde de silicium sur sa surface. Ce corps a la propriété de se déposer en une fine pellicule d'épaisseur uniforme. La quantité de substance à évaporer est calculée pour obtenir une épaisseur de 250 à 350 Å. Le celluloïd est éliminé par dissolution dans un dispositif spécial [2], et l'on recueille la pellicule de monoxyde de silicium, qui est ensuite ombrée avec de l'or manganine selon le procédé classique de Williams et Wyckoff [3].

La méthode d'empreinte choisie, comparée aux autres méthodes, permet de travailler à des températures et à des pressions normales. De même, elle ne nécessite pas une déshydratation préalable au vide. L'acétone ne semble avoir aucun effet nocif.

Comme matériel d'étude, nous avons choisi des segments de diaphyse fémorale fixés au formol. De chaque fragment, une surface est polie progressivement jusqu'à l'obtention d'un plan le plus lisse possible, tout en ayant soin d'éviter l'échauffement de la pièce. Partant d'un meulage sur carborundum et passant par des pierres à huile, on termine l'opération sur un drap de billard aspergé d'hydroxyde d'alumine dite « 12 heures ». Le résultat du polissage est alors contrôlé au microscope en lumière réfléchie <sup>1</sup>.

a) *Examen de l'empreinte négative au microscope à contraste de phase.*

L'examen au contraste de phase de l'empreinte négative nous permet de faire le pont entre l'image connue de la surface osseuse et celle donnée par le microscope électronique (fig. 1 et 2).

Il est étonnant de remarquer que le polissage, bien que poussé très loin, n'efface pas les contours des différentes structures de l'os. Il persiste toujours un relief, de sorte que l'empreinte d'une surface osseuse polie révèle la même image de la structure ostéonique que celle obtenue à l'examen direct, en lumière réfléchie. Celle-ci, à son tour, est superposable à l'image obtenue par les coupes histologiques d'os décalcifié. L'image de l'empreinte est encore plus nette si l'on a soin d'attaquer la surface osseuse par un acide fort dilué ou par un ferment protéolytique (opération dite de révélation). On reconnaît facilement la structure concentrique des ostéones, qui se traduit par des anneaux clairs alternant avec des foncés. Ces derniers paraissent reliés par des traits fins de direction radiaire. Notons que les

<sup>1</sup> Nous profitons de cette occasion pour exprimer à M. Grosjean, de l'Institut dentaire, tous nos remerciements. Ses conseils nous ont été d'un précieux secours pour l'obtention des surfaces de polissage aptes à être examinées.

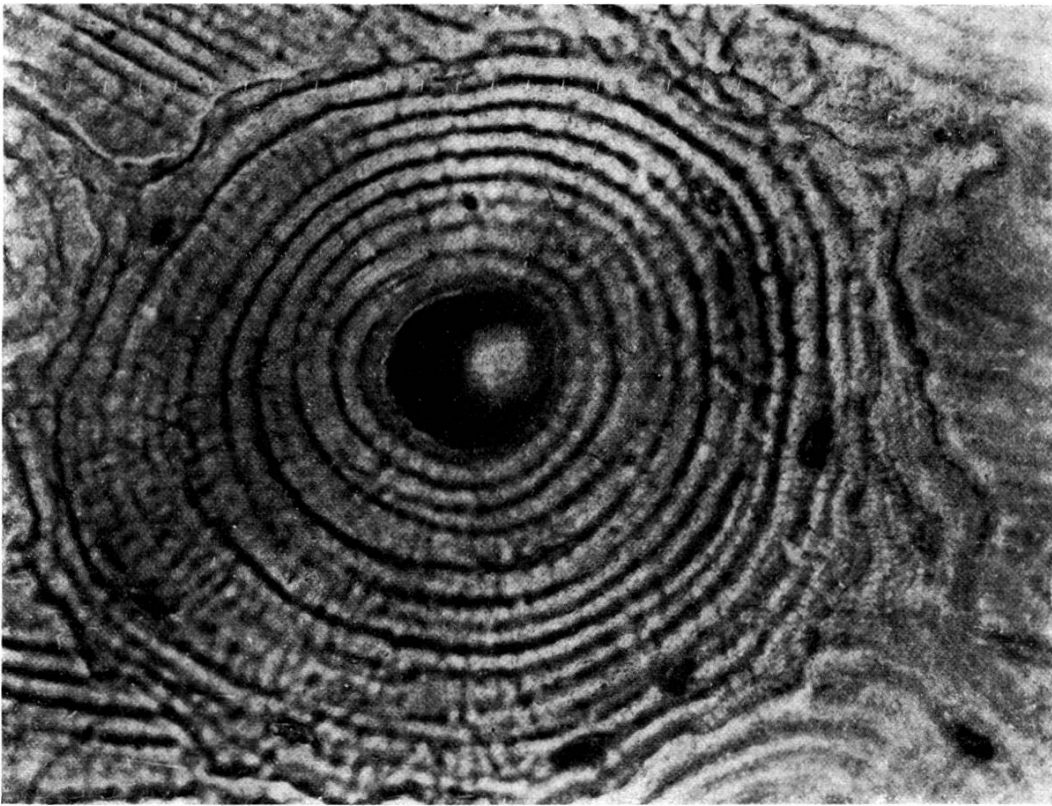


Fig. 1.

Empreinte négative au celluloid.  
Examen au microscope à contraste de phase.  
Image d'un ostéone (grossissement 400 ×).

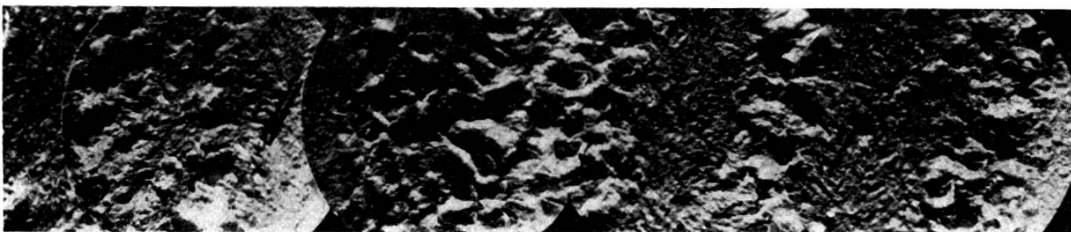


Fig. 2.

Empreinte positive. Série de micrographies électroniques prises  
en direction radiale dans un ostéone.  
Succession de « sillons » et d'« ondulations » (grossissement 2900 ×).

empreintes ombrées peuvent être regardées au microscope ordinaire, ainsi que l'a fait Wyckoff [6].

b) *Examen au microscope électronique.*

Les empreintes provenant de surfaces osseuses non révélées ne nous ont pas donné de résultats jusqu'ici. Par contre, parmi

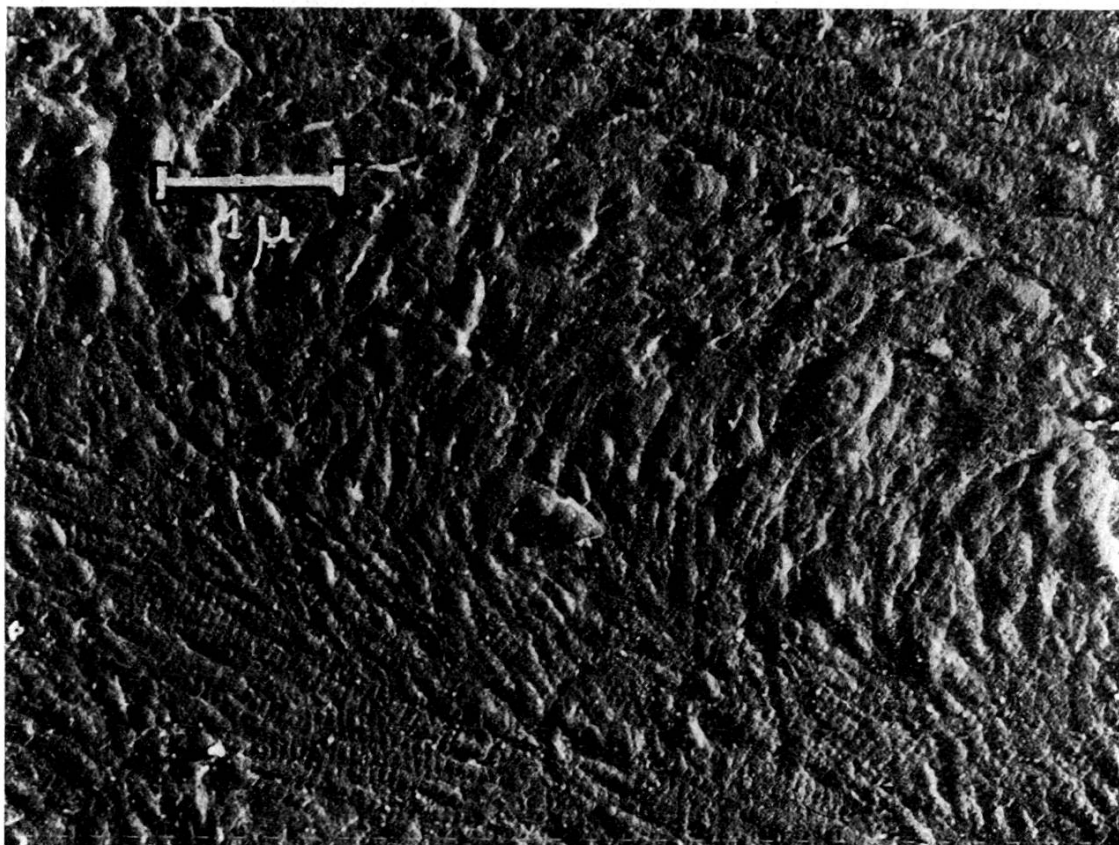


Fig. 3.

Autre empreinte positive d'une surface osseuse traitée à l'acide chlorhydrique, deux minutes à 1: 1000 (grossiss. 16.000  $\times$ ).  
En haut et en bas: faisceaux de fibrilles à structure périodique, correspondant à deux vallées. Au centre: une zone bosselée, correspondant à une ondulation.

les différentes attaques étudiées, celle à l'HCl à 1 p. 1000, appliquée pendant 2 minutes, a fourni des résultats intéressants.

La structure lamellaire, déjà mise en évidence par le contraste de phase, se traduit au microscope électronique par une succession d'ondulations séparées par des *sillons* (fig. 2 et 3). Ces

derniers ont un aspect très particulier. Leur fond n'est pas lisse, mais parcouru, particularité essentielle, de fibres de diamètre sensiblement uniforme, d'environ 1000 Å et montrant une structure typiquement périodique, consistant en une succession de structures et de renflements. Chaque période a une longueur

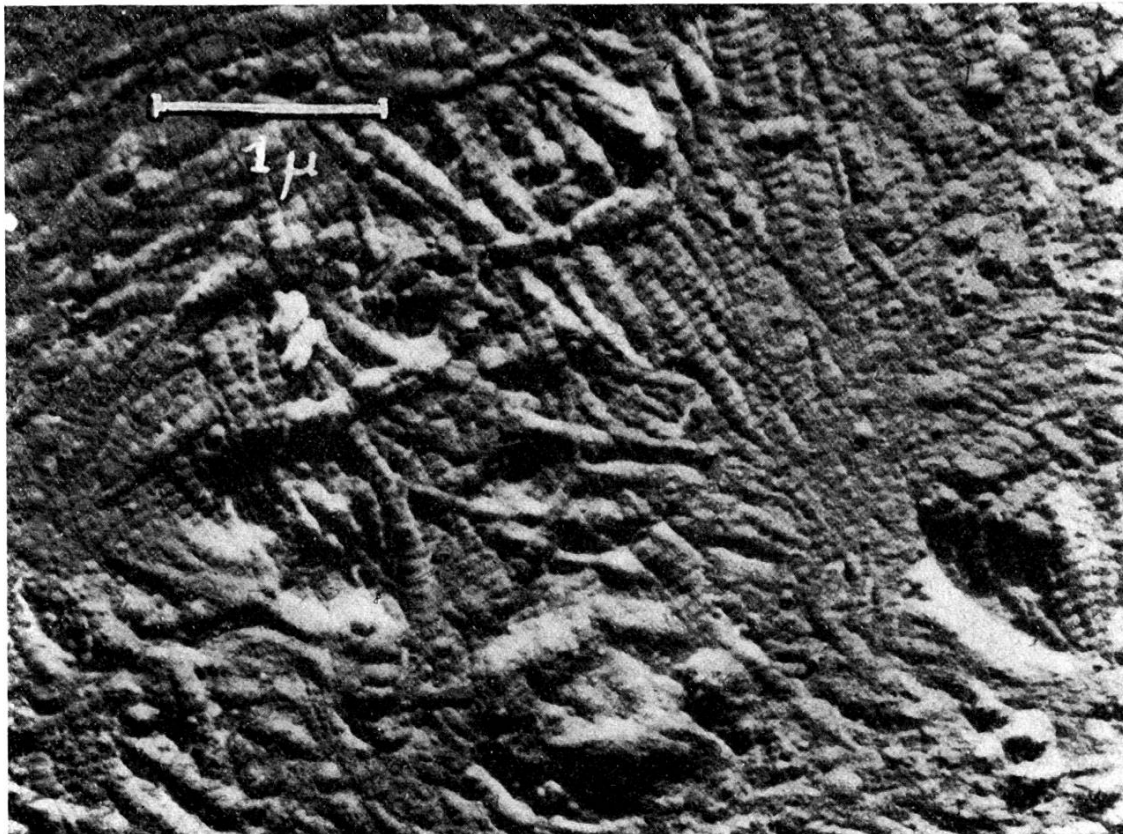


Fig. 4.

Fibrilles de collagène à structure périodique.  
(Grossissement 22.000 ×.)

de 640 Å en moyenne. Cette période correspond à celle indiquée par les auteurs américains [4, 5] pour les fibrilles de collagène. Ces fibrilles élémentaires sont parfois groupées en faisceaux mal délimités, à l'intérieur desquels la striation est concordante (fig. 3 et 4).

Nous n'avons pu distinguer des faisceaux grossiers à limites précises correspondant aux fibres que révèlent les méthodes histologiques habituelles.

Il est certain que nous avons affaire ici à une substance égale ou proche du collagène.

Hilwig et Menke, étudiant la dentine [7], ont trouvé une structure analogue, mais ils l'ont interprétée comme étant les prolongements des odontoblastes.

Quant aux *ondulations*, elles présentent une surface irrégulièrement bosselée, ne montrant pas la structure rythmique que nous venons de décrire. Cependant, ces ondulations sont interrompues transversalement par de minces faisceaux de fibrilles à structure périodique, reliant deux sillons. Ces interruptions peuvent être rapprochés des traits radiaires constatés à l'examen au contraste de phase.

Les cavités ostéocytaires sont représentées par des surélévations allongées, dans lesquelles nous n'avons pu relever des détails de structure.

Nous ne pouvons pas encore établir de relation entre nos travaux et ceux de Brandenberger et Schinz [8] sur la cristallisation de l'os, et ceux de Dallemagne et Melon [9] sur la biréfringence des systèmes ostéoniques.

Nos recherches ont été facilitées par une subvention accordée par la fondation fédérale pour l'encouragement des recherches scientifiques.

*Université de Genève.  
Institut d'Anatomie pathologique.  
Institut de Physique.*

#### BIBLIOGRAPHIE

1. KELLENBERGER, Ed., *Experientia*, IV/10, 449, 1948.
2. ——— *Experientia*, 4, 407, 1948.
3. WILLIAMS, R. C. and R. W. G. WYCKOFF, *J. applied Phys.*, 17, 23, 1946.
4. GROSS, J. and F. O. SCHMITT, *J. Exp. Med.*, 88, 555, 1948.
5. PORTER, Keith R. and Vanamee PARKER, *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*, 71, 513, 1949.
6. WYCKOFF, R. W. G., *Electron microscopy*, Interscience Publishers, N.Y. (1949).
7. HILWIG und MENKE, « Elektronenmikroskopie am Zellfortsätzen im menschlichen Zahnbein », *Die Naturwissenschaften*, 36, 281, 1949.
8. BRANDENBERGER, E. und H. R. SCHINZ, *Helv. Med. Act.*, Suppl. XVI, Beilage zu Vol. 12 (1945), fasc. 6, p. 1-63.
9. DALLEMAGNE et MÉLON, *Bull. Soc. Roy. Sc. Liège*, N° 7-8, 1943.

En fin de séance, M. BUFFLE présente un rapport sur *l'emploi des membranes filtrantes cellulosiques en microbiologie des eaux*. L'utilisation de ce nouveau dispositif permet de simplifier les techniques d'examen des eaux quant à leur teneur en micro-organismes. On peut en particulier déterminer facilement la concentration en E. Coli grâce à l'emploi de milieux sélectifs, comme le milieu d'Endo, sur lesquels on étend la membrane filtrante. Comme ces membranes permettent de filtrer un litre d'eau, et même davantage, la recherche et le dosage de E. Coli deviennent bien plus précis que par les anciennes méthodes d'enrichissement. L'étude et la mise au point du nouveau procédé se poursuivent.

---