

PRO LABORATORIO

Dispositif pour l'examen microscopique aux basses températures

Depuis RÉAUMUR qui, en 1736, avait étudié la congélation d'insectes divers, les biologistes se sont toujours intéressés aux différents problèmes liés à l'action du froid sur les organismes vivants. Depuis peu, ces études ont pris un très grand intérêt d'ordre pratique puisqu'elles permettent d'envisager l'établissement de « banques de tissus conservés » utilisables en chirurgie. Les tissus ainsi congelés ont leur activité physiologique suspendue et peuvent conserver leur viabilité pendant de très longues périodes. Les travaux de BECQUEREL¹ ont montré cette suspension de la vie aux confins du zéro absolu dans le cas d'organismes très simples comme des bactéries, des spores préalablement desséchées. Le problème est plus délicat pour les tissus de mammifères. Supportant en effet très mal la dessiccation, leur résistance au froid est faible et, pour éviter de trop fortes altérations, il a fallu chercher soit dans la vitesse de congélation (LUYET²) soit dans les milieux de congélation (PARKES, SMITH, LOVELOCK, POLGE³) des techniques permettant la survie des tissus congelés. L'un des principaux problèmes consiste alors à connaître si les altérations se produisent au cours de la congélation proprement dite, pendant le séjour aux basses températures, ou bien lors du dégel et du retour aux températures normales.

Seul l'examen microscopique des tissus au cours du processus de congélation et de dégel peut permettre de suivre les processus d'altération dans leur intégrité et aucune méthode indirecte ne peut apporter une sécurité d'interprétation suffisante.

Divers appareils ont été réalisés dans ce but, mais aucun ne permet de dépasser -120°C et tous n'assurent qu'un refroidissement très lent (20 min à 1 h) et difficilement réglable (CHAMBERS et HALE⁴; microscope en chambre froide; HOCART et MONIER⁵; dispositif métallique refroidi par un courant d'air froid; SMITH et SMILES⁶; microscope avec platine spéciale de HARMER⁷, refroidie par conduction métallique). C'est pourquoi, afin de réaliser des recherches très variées dans le domaine de la congélation, nous avons construit un dispositif spécial, voisin d'ailleurs comme conception du microscope utilisé par le Dr CECIL TAYLOR⁸ du Rockefeller Institute de New-York. Notre appareil permet en effet de refroidir lentement ou brutalement les préparations examinées, de les observer, une fois congelées, par tous les procédés optiques classiques tout en maintenant la

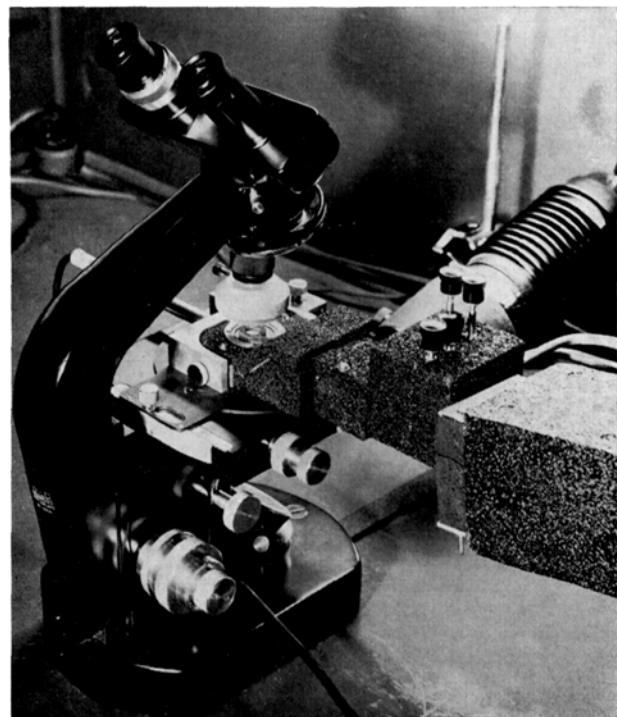


Fig. 1.

basse température constante, et d'opérer ensuite le dégel à la vitesse désirée (Fig. 2).

L'objet à examiner est porté par la glace supérieure *G 1* d'une cellule d'examen métallique (*Cell*) fermée à la partie inférieure par une deuxième glace optique en quartz (Fig. 2). Deux enceintes étanches *D 1* et *D 2* contenant du desséchant empêchent tout givrage au cours de l'observation. Tout l'ensemble de l'appareillage est soigneusement calorifugé par un coffrage en Klegecell (Résine synthétique de Kleber-Colombes, France). Pour l'obtention des températures extrêmes, le refroidissement est assuré par une circulation de propane liquide (*L*) contenu dans deux cuves identiques. Le propane refroidi par un bain périphérique (*B R*) d'azote liquide circule sous pression d'hydrogène alternativement d'une cuve à l'autre de façon automatique, par un ensemble de canalisations *T 1*, *T 2*. Pour obtenir une congélation très brutale, l'ensemble des conduites est d'abord refroidi en ouvrant les robinets *R 1*, *R 2*, et *R 7*, et en fermant *R 5* et *R 6*. Une spirale chauffante *Ch* empêche que, pendant ce temps-là, la cellule d'examen ne se refroidisse par simple conduction thermique le long des conduites. Quand la température *Th 2* est devenue stable (environ -160°C), on ferme *R 7* et on ouvre *R 5* et *R 6* en coupant le chauffage *Ch*. Le liquide passe brutalement dans la cellule d'examen où le refroidissement est instantané. On peut atteindre -140°C en moins d'une seconde, en *Th 1*. Le faible volume de la cellule (2 cm^3) et la forte quantité de propane qui circule par minute (800 cm^3) assurent une parfaite stabilité de la température en *Th 1* pendant de très longues périodes d'observation. Le réchauffement peut être effectué à volonté en fermant les robinets *R 1* et *R 2* et en envoyant de l'isopentane à la température voulue par les robinets *R 3* et *R 4*. Si l'on désire atteindre des températures moins basses, on peut obtenir tous les types de refroidissement en faisant varier le liquide circulant (isopentane, essence, alcool, acétone) et la température du bain réfrigérant (mélange

¹ P. BECQUEREL, C. R. Acad. Sci. 231, 261 (1950).

² B. J. LUYET et P. M. GEHENIO, *Life and Death at Low Temperatures* (Biodynamica ed. Normandy, Missouri, 1940), p. 1.

³ C. POLGE, A. U. SMITH et A. S. PARKES, Nature 166, 666 (1949).

⁴ A. U. SMITH et A. S. PARKES, in *Preservation and Transplantation of Normal Tissues*, Ciba Foundation Symposium (Churchill, London 1954), p. 76. — ⁵ J. E. LOVELOCK, in *Preservation and Transplantation of Normal Tissues*, Ciba Foundation Symposium (Churchill, London 1954), p. 131.

⁶ R. CHAMBERS et H. P. HALE, Proc. Roy. Soc. 110, 336 (1932).

⁷ R. HARMER, J. Roy. Micr. Soc. 73, 128 (1953). — ⁸ A. C. TAYLOR, Non publié, communication personnelle (1956).

⁹ A. U. SMITH et J. SMILES, J. Roy. Micr. Soc. 73, 134 (1953).

¹⁰ J. R. HARMER, J. Roy. Micr. Soc. 73, 128 (1953).

¹¹ A. U. SMITH et J. SMILES, J. Roy. Micr. Soc. 73, 134 (1953).

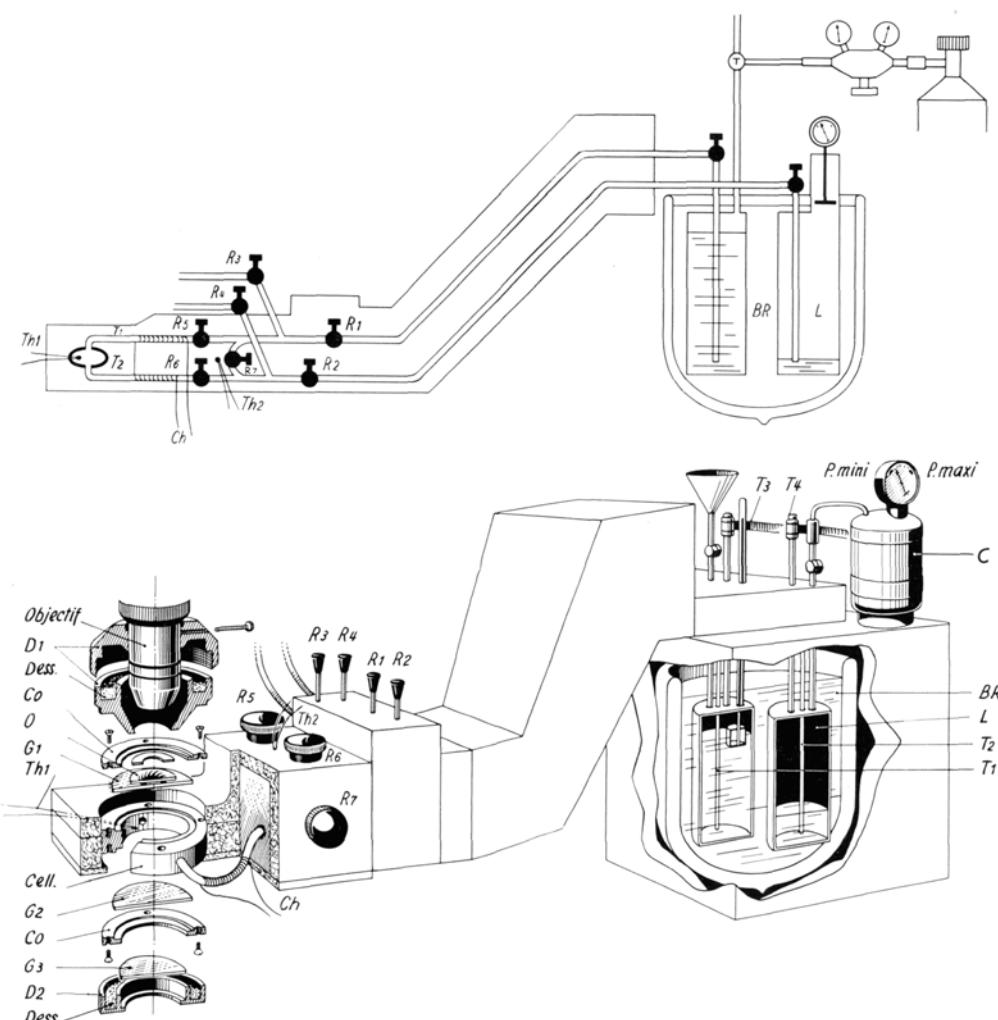


Fig. 2. Principe de fonctionnement et dessin schématique du dispositif utilisé pour la congélation rapide: *L* liquide de circulation - *BR* bain réfrigérant - *C* réservoir de compensation - *T* robinet d'arrivée de gaz et de mise en décompression sur l'atmosphère - *T₁*, *T₂* tubulures de circulation du liquide réfrigérant - *T₃*, *T₄* tubulures d'arrivée de gaz - *R₁*, *R₂* robinets de commande du liquide réfrigérant - *R₃*, *R₄* robinets de commande du liquide de réchauffement - *R₅*, *R₆* robinets de commande de la cellule d'examen - *R₇* robinet de commande du court-circuit - *Th₁* thermocouple de la cellule d'examen - *Th₂* thermocouple contrôlant l'ensemble des conduites - *Cell.* cellule d'examen - *Ch* spirale chauffante - *D₁*, *D₂* cencinctes étanches de dessiccation (Dess., desséchant) - *G₁*, *G₂*, *G₃* glaces optiques en quartz mince - *C_o* couvercles maintenant les glaces en place - *O* objet à examiner.

alcool-glace carbonique). On peut enfin opérer une réfrigération lente en faisant circuler de l'hydrogène refroidi par passage dans l'azote liquide. Un contrôle thermostatique en *Th₁* règle alors le débit d'hydrogène en fonction de la température à atteindre et du temps désiré pour y parvenir. En dessous de -100°C il est nécessaire de poursuivre la réfrigération par une circulation de propane liquide. Il est alors possible d'atteindre -180°C en *Th₁*.

De nombreux travaux sont actuellement en cours avec cet appareillage et nous pensons pouvoir donner prochainement une première série de résultats sur les divers phénomènes se produisant lors de la congélation de tissus animaux maintenus en culture.

L. R. REY

Ecole Normale Supérieure, Laboratoire de Zoologie, Université de Paris, le 19 décembre 1956.

Summary

In order to improve the studies of the different phenomena occurring during the deep-freezing of living

animal tissues, the author has built a microscopic device with which it is possible to examine fragments of tissues during freezing and thawing. This apparatus gives different rates of cooling and re-warming, fast and slow, both controlled with accuracy. Temperatures as low as -180°C are easily reached.

PRO LABORATORIO

Bariumtitanat-Druckgeber für Dekompressionsversuche

Für die Registrierung von Explosionsdruckwellen während des Durchgangs durch den Körper wurde von CLEMEDSON¹ sowie CLEMEDSON und PETTERSSON²

¹ C.-J. CLEMEDSON, Acta physiol. scand. 37, 204 (1956).

² C.-J. CLEMEDSON und H.J. PETTERSSON, Amer. J. Physiol. 184, 119 (1956).