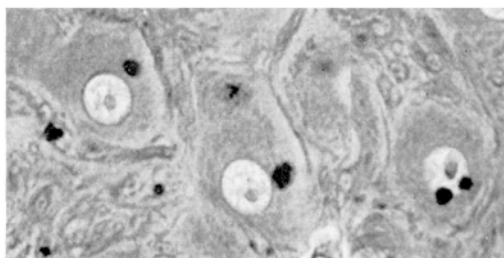


sympathiques et rachidiens, dans la moelle, le cortex cérébral et le cortex cérébelleux, nous avons décrit (Figure) un produit d'élaboration figuré d'origine nucléaire gagnant le péricaryon et les prolongements cellulaires; il représente sans doute non pas une entité structurale, mais plutôt l'apparence figurée, dans des conditions techniques déterminées, d'un complexe chimique lié au métabolisme des neurones considérés.

En effet, sans pouvoir entrer ici dans l'exposé de détails pourtant importants, une étude approfondie¹⁰ du point de vue histochimique et du point de vue des conditions de fixation (en ce qui concerne la nature du liquide fixateur) nous a appris que ce produit est un complexe lipoprotéique contenant des ribonucléoprotéines, une fraction glycogénique et des protéines soufrées. Après une fixation par immersion, une étude statistique dont les résultats seront publiés *in extenso* par ailleurs nous a montré¹⁰ qu'environ 25% des neurones du ganglion cervical supérieur, par exemple, contiennent ce complexe sous forme d'inclusions nucléaires ou cytoplasmiques. Or nous avons été frappé par les proportions très variables obtenues sur le matériel provenant d'animaux perfusés; nous avons alors pu montrer que ces variations sont directement liées à la quantité de sérum physiologique perfusé dans un premier temps, avant le fixateur. C'est ainsi: qu'après une perfusion préalable de 300 ml (ce qui représentait environ, en ml, 15% du poids de l'animal exprimé en grammes, alors que CAMMERMEYER³ fixe le taux optimum à 14%) nous n'avons retrouvé ce complexe chimique que dans 10% des cellules; après 800 ml de sérum physiologique cette proportion tombe à 1-2%. Ces énormes différences enregistrées en fonction du volume du perfusé sont vraisemblablement dues à une diffusion dans le sérum physiologique du complexe chimique considéré; or il faut remarquer qu'il représente non pas une substance de faible poids moléculaire facilement diffusible *a priori* mais sans aucun doute un édifice macromoléculaire.



Ganglion cervical supérieur. Helly. Noir Soudan. Inclusions intranucléaires et intracytoplasmiques fortement soudanophiles.

Ainsi la perfusion nous avait permis d'obtenir un matériel parfait du point de vue morphologique, mais il est par contre inadéquat du point de vue cytochimique et totalement inutilisable en ce qui concerne l'étude de variations quantitatives expérimentales. Il faut rappeler ici que RACADOT¹¹ a montré que la fixation par perfusion provoque une dégranulisation artificielle des cellules adénohypophysaires.

Il n'est évidemment nullement question de généraliser nos résultats, obtenus dans un cas particulier, à n'importe lequel des constituants cellulaires, mais simplement d'apporter un élément quantitatif de réponse au problème posé. C'est un truisme que de dire avec de nombreux auteurs (WOLMAN¹²) qu'aucune formule de fixateur ne peut prétendre être parfaite, aussi bien du point de vue morphologique que cytochimique; mais les résultats préliminaires que nous rapportons tendent à appuyer en outre la notion moins habituellement reconnue semble-t-il, selon laquelle aucun des deux procédés de fixation (perfusion ou immersion) ne peut être considéré comme parfait. Dans l'ignorance où nous sommes souvent quant au comportement de tel ou tel constituant cellulaire vis-à-vis du mode de fixation, il paraît prudent, non pas de choisir exclusivement l'un ou l'autre de ces procédés, mais bien de les confronter en les utilisant parallèlement de façon systématique dans toute recherche morphologique et histochimique.

Summary. It has been extensively demonstrated that perfusion is the best fixation procedure for providing good morphological evidence of structures, especially in the case of nervous tissue. But it might be questioned if it should also be preferred when cytochemical data have to be obtained or compared.

As a preliminary attempt to answer this question, lipoprotein inclusions in nerve cells of vegetative ganglia of adult cat have been considered. These occur in about 25% of cells after immersion in fixative, whereas if perfusion is used, a relation appears between the amount of saline perfused before the fixative fluid and the percentage of cells containing inclusions: this falls to 10% after 300 ml saline, to 1% after 800 ml. In conclusion, though structural artefacts have been avoided and fixation appears excellent, perfusion is significantly responsible for a definite cytochemical alteration.

R. SEÏTE

Laboratoire d'Histologie, Faculté de Médecine, Marseille (France), le 9 octobre 1962.

¹⁰ R. SEÏTE, en préparation.

¹¹ J. RACADOT, C. R. Ass. Anat. 79, 383 (1953).

¹² M. WOLMAN, Int. Rev. Cytol. 4, 79 (1955).

Mounting Hard Tissues for Microradiography¹

The simple and rugged apparatus for contact microradiography described by COMBIE and RECOURT² has seen extensive use in our laboratory. However, the procedure which these authors prescribe for mounting sections on celloidin or formvar films has been found awkward and hazardous. The following simple technique has then been developed:

Embedding and Cutting. (1) Tissues of low mineral content embedded in nitrocellulose (BOYD³) are cut at 10 to

12 μ . (2) Highly mineralized tissues are cut with a band saw in pieces of not more than 10 mm thickness. They are fixed in neutral formaldehyde, dehydrated in graded ethanol, cleared in amyl acetate and transferred to unpolym-

¹ With financial assistance from the Medical Research Council of Canada.

² B. COMBIE and A. RECOURT, Philips Technical Rev. 19, 221 (1957-58).

³ G. A. BOYD, *Autoradiography in Biology and Medicine* (Academic Press, New York 1955).

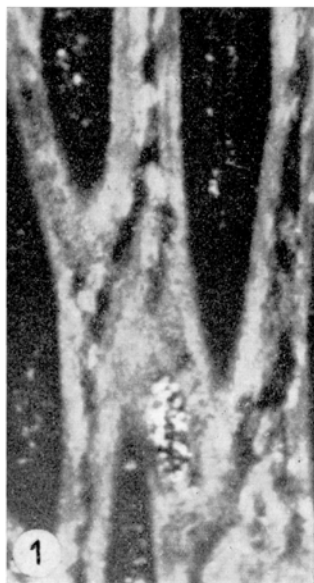


Fig. 1. Diaphyseal trabeculae of the tibia from a 3 weeks old rachitic chick, treated with vitamin D and parathormone. Notice mid-trabecular low density resorption streak and extra-trabecular high density crystals. Microradiograph of a 12 μ celloidin section, $\times 110$.

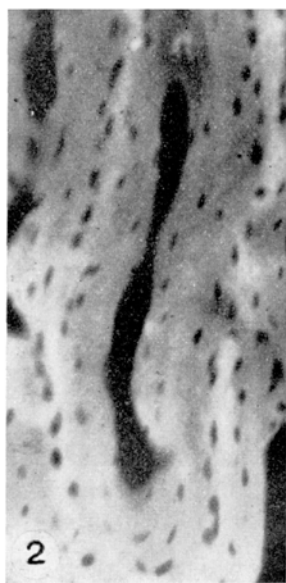


Fig. 2. Trabecular bone from the tibia of a young dog. Microradiograph of 12 μ acrylic resin preparation, $\times 110$.

merized acrylic resin (Tensol Cement No. 7, Imperial Chemical Industries, Herts, England). At this stage, a vacuum of 15 mm Hg is applied for a few minutes 2 or 3 times in order to obtain better infiltration. The tissue is then embedded in a piece of round acrylic tubing (diameter 12 mm) in polymerized resin. On the following day, the plastic tubing and its contents are trimmed with the band saw and cemented on a thin plate of similar material fitting the cutting table of the GILLINGS⁴ diamond-wheel cutting machine. Sections of 40–50 μ are obtained. These sections are then ground to ca. 10–12 μ between two plates of ground glass.

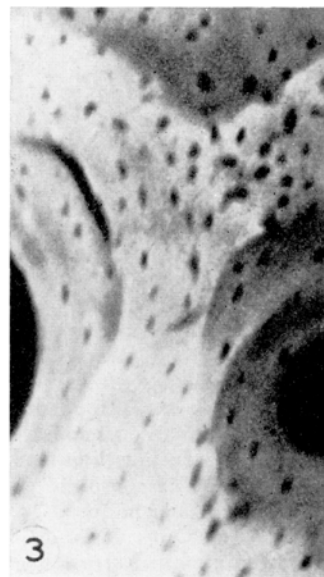


Fig. 3. Compact bone from the tibia of an older dog. Microradiograph of a 12 μ acrylic resin preparation, $\times 110$.

Mounting. The celloidin or acrylic-embedded sections are then mounted on cellulose adhesive tape of 19 mm ($\frac{3}{4}$ ") width and 12 μ thickness. The section and its support is then covered with a thin coat of nitrocellulose as for autoradiography (BÉLANGER and LEBLOND⁵). Circular portions of the mounted specimen are then obtained with the film cutter provided with the Philips Microradiographic apparatus (Philips Scientific Equipment type 11990/08).

Microradiography. The above specimens will evidently match the cut sections of films (E.K., type 649-0 or GH) recommended by ENGSTRÖM et al.⁶ and the two objects will easily be introduced in the cassette of the Philips Microradiographic machine, the mounted section of tissue evidently uppermost and facing the emulsion.

Storage. The specimens can be used for any number of exposures and they can be kept flat in a piece of folded fine filter paper bearing proper identification and placed between two 1" $\times$ 3" glass plates, which allow filing in standard slide boxes.

Résumé. Des coupes minces en provenance de tissus minéralisés enrobés dans la celloidine ou la résine acrylique, sont montées sur ruban gommé et recouvertes d'une mince couche de celloidine pour être taillées avec l'appareil qui sert à couper les films. Ces préparations sont faciles à manipuler et à classer. Elles peuvent être soumises à de multiples expositions aux rayons X.

L. F. BÉLANGER, J. ROBICHON, and CÉCILE BÉLANGER

Department of Histology and Embryology, Faculty of Medicine, University of Ottawa (Canada), November 23, 1962.

⁴ B. GILLINGS and M. BUONOCORE, J. dent. Res. 38, 1156 (1959).

⁵ L. F. BÉLANGER and C. P. LEBLOND, Endocrinology 39, 8 (1946).

⁶ A. ENGSTRÖM, R. C. GREULICH, B. L. HENKE, and B. LUNDBERG, in *X Ray Microscopy and Microradiography* (ed. V. E. COSSLETT, A. ENGSTRÖM, and H. H. PATTEE, Academic Press, New York 1957).