

2. CRYOSCOPIE des solides de l'organisme.

Procédés et résultats; par M. Léon FREDERICQ, Correspondant.

§ 1. — HISTORIQUE.

De nombreux travaux ont été publiés dans ces dernières années sur la pression osmotique et la concentration moléculaire des liquides de l'organisme : ils ont déjà conduit à un ensemble de résultats du plus haut intérêt.

Par contre, l'étude de la concentration moléculaire des tissus solides de l'organisme a été à peine effleurée. Je ne trouve à citer à ce sujet que les recherches d'E. Cooke sur le muscle gastrocnémien de grenouille (1), de F. Bottazzi et P. Enriquez sur les glandes salivaires du poulpe (2), de L. Sabbatani sur différents organes du chien (3), enfin, les miennes sur les tissus de quelques animaux aquatiques (4).

E. Cooke, F. Bottazzi et P. Enriquez ont employé un procédé consistant à chercher par tâtonnement la concentration qu'il faut donner à une solution saline (solution de chlorure de sodium par exemple) pour qu'un fragment de tissu, suspendu dans cette solution pendant un temps suffisamment long, ne change pas de poids. E. Cooke avait constaté de cette façon que la solution de chlorure de sodium à 0.8 % représente la moyenne (valeurs extrêmes 0.75 à 0.85 ou même 0.9 %) de la concentration moléculaire du muscle gastrocnémien vivant de grenouille.

(1) ELISABETH COOKE, *Experiments upon the osmotic properties of the living frog's muscle*. (*The Journal of Physiology*, 1898-1899, XXIII, pp. 137-149.)

(2) F. BOTTAZZI et P. ENRIQUEZ, *Sulle proprietà osmotiche, etc.* (*Ricerche dedicate al Prof. Luigi Luctani*, Milano, 1900, p. 219.)

(3) L. SABBATANI, *Sulla pressione osmotica degli organi*. (*Ricerche di Biologia pubbl. per il XXV anniversario cattedratico di Pietro Albertoni dai suoi discepoli* 1901, pp. 385-362.) — *Détermination du point de congélation des organes animaux*. (*Journal de physiologie et de pathologie générale*, 1901, III, pp. 939-950.)

(4) LÉON FREDERICQ, *Sur la concentration moléculaire du sang et des tissus chez les animaux aquatiques*. (*Bull. de l'Acad. roy. de Belgique [Classe des sciences]* août 1901, n° 8, pp. 428-484.)

Bottazzi et Enriquez trouvèrent que les glandes salivaires d'Octopus sont en équilibre osmotique avec l'eau de mer dans laquelle les animaux avaient vécu.

J'ai légèrement modifié ce procédé pour l'appliquer aux tissus d'un certain nombre d'animaux marins. Au lieu de déterminer les variations de poids des organes suspendus dans des solutions de diverse concentration, je me suis attaché à rechercher par tâtonnement la concentration qu'il faut donner à une solution saline (eau de mer diluée ou concentrée) pour que les tissus n'y subissent pas de variations de *volume*.

J'ai fait moi-même la critique de ce procédé et j'en étais arrivé à la conclusion qu'il vaut mieux employer la méthode cryoscopique, qui consiste à juger de la concentration moléculaire d'un tissu d'après son point de congélation ou plutôt d'après le point de congélation des extraits aqueux du tissu, réduits par évaporation de manière à renfermer un poids d'eau égal à celui que contenait le tissu frais.

Presque en même temps paraissait le travail de Sabbatani. Sabbatani détermine directement le point de congélation des tissus du chien, en introduisant dans l'appareil de Beckman (modèle Friedenthal) un fragment de tissu, au centre duquel il glisse le réservoir du thermomètre. Sabbatani reconnaît que les valeurs directes trouvées ainsi ne sont qu'approximatives, même si l'on opère le refroidissement du tissu avec une grande lenteur.

Comme résumé de son travail, Sabbatani fixe de la manière suivante le point de congélation des différents organes du chien dans les conditions normales : sang, — 0°,57; cerveau, — 0°,65; muscle, — 0°,68; foie, — 0°,97; rein, — 0°,94; poumon, — 0°,65 (?); rate, — 0°,70.

« *Au cerveau et au muscle, dit-il, appartiennent des valeurs assez fixes et basses, voisines de celles du sang; au foie et au rein, au contraire, appartiennent des valeurs très variables et élevées, et cela manifestement en rapport avec leur fonction glandulaire.* »

De plus, Sabbatani constata que le point de congélation des tissus baisse fortement après la mort, d'une manière lente, mais continue, pendant plusieurs heures de suite. Cette variation reste suspendue dans l'organe congelé et reparait après dégel.

Le procédé de Sabbatani n'est pas très exact; celui qui consiste

à déterminer le point de congélation des extraits aqueux du tissu est long et compliqué. C'est ce qui m'a engagé à chercher à les perfectionner.

§ 2. — PROCÉDÉS PRATIQUES DE CRYSCOPIE DES TISSUS SOLIDES.

1° *Préparation d'un extrait aqueux correspondant au suc interstitiel du tissu.*

Trente à cinquante grammes du tissu frais (muscles de chien, de lapin, de grenouille, par exemple) sont grossièrement divisés au moyen de ciseaux (fragments de quelques millimètres de côté), puis introduits dans un certain nombre (quatre à huit) d'éprouvettes en verre épais (longueur : 15 centimètres ; largeur : 15 millimètres), de manière à former au fond de chaque éprouvette une colonne de 4 à 5 centimètres de hauteur environ. Les éprouvettes, solidement fermées au moyen de bouchons de caoutchouc, sont plongées pendant cinq minutes (1) dans l'eau bouillante, puis retirées et refroidies. Les tissus se rétractent par la cuisson et laissent suinter à leur surface une assez grande quantité d'un liquide peu coloré. On a soin de faire couler ce liquide à la surface intérieure du tube, afin d'avoir un mélange homogène, avant de déboucher le tube. C'est ce liquide que l'on recueille, en favorisant son expression, au moyen d'une baguette de verre dont l'extrémité a été écrasée (dans la flamme), de manière à constituer une espèce de piston, au moyen duquel on comprime les fragments de tissu cuit, au fond de chacune des éprouvettes.

L'extrait aqueux ainsi obtenu peut être examiné directement dans l'appareil de Beckman, mais il vaut mieux le filtrer au préalable, de manière à faire la détermination cryoscopique dans un liquide absolument clair.

Ce liquide représente le suc du tissu débarrassé de ses matières albuminoïdes. Il a sensiblement le même point de congélation que le tissu frais lui-même, comme me l'ont montré une série de déterminations comparatives.

(1) Cinq minutes conviennent très bien pour les muscles de chien, de lapin, de grenouille ; deux à trois minutes suffisent pour les muscles de poisson. Pour ceux des crustacés, il faut plus de cinq minutes.

Ce procédé s'applique très bien aux muscles du chien et d'un grand nombre d'animaux : les reins (parfois le pancréas) de chien cuits en vase clos donnent aussi une quantité de liquide suffisante pour la détermination cryoscopique au moyen du petit appareil de Beckman.

Il n'en est pas de même d'autres organes : le cerveau, le foie du chien, chauffés à 100°, ne fournissent presque pas de liquide, la rate en donne peu dans les mêmes conditions. Il faut ici recourir à d'autres procédés. On dessèche un poids connu du tissu, ce qui fournit sa teneur en eau. On épuise le résidu par l'eau bouillante; on réunit tous les extraits et on les dissout dans un poids d'eau égal à celui que contenait le tissu frais. C'est dans cet extrait que l'on détermine la valeur de Δ . Ce procédé est malheureusement fort long.

J'ai trouvé préférable de déterminer, à l'exemple de Sabbatani, la valeur de Δ directement, dans le tissu frais n'ayant subi aucune manipulation autre qu'une division mécanique.

2° Détermination directe de Δ dans les tissus réduits en bouillie.

Un fragment de tissu frais (cerveau, foie) est coupé en petits fragments ou réduit en bouillie. Cette bouillie est introduite dans l'éprouvette intérieure de l'appareil de Beckman (modèle Friedenthal).

L'éprouvette elle-même, munie de son thermomètre, est plongée dans un mélange réfrigérant (eau salée et glace marquant de -3° à -5° au plus). Lorsque la colonne thermométrique atteint le point 0° , on retire l'éprouvette du mélange réfrigérant et on l'introduit dans le bain d'air froid de la grande éprouvette, en continuant à surveiller la marche de la colonne thermométrique. Lorsque la température s'est abaissée d'un demi-degré au plus en dessous du point de congélation présumé, on amorce au moyen d'un petit morceau de glace que l'on projette à l'intérieur de l'éprouvette. La congélation du tissu commence immédiatement et la colonne thermométrique monte. On note le point le plus élevé qu'elle ait atteint, et auquel elle se maintient généralement pendant quelque temps. Pendant toute cette manipulation, on

peut brasser doucement la bouillie du tissu au moyen du réservoir du thermomètre, auquel on imprime un mouvement alternatif lent d'élévation et d'abaissement. On recommence plusieurs fois l'opération.

Résultats.

I. — Chez le chien, le lapin, la grenouille et les poissons osseux, tant d'eau douce que d'eau salée, les tissus ont une concentration moléculaire en général supérieure à celle du sang, concentration d'ailleurs assez variable, suivant les conditions physiologiques dans lesquelles ils se trouvaient au moment de la mort.

Voici quelques chiffres à titre d'exemples :

LAPINS tués par hémorragie. Muscles de la cuisse cuits immédiatement après la mort. *Suc musculaire* $\Delta = 0^{\circ},78; 0^{\circ},785; 0^{\circ},80; 0^{\circ},81; 0^{\circ},81; 0^{\circ},82$ et $0^{\circ},83$ (sept individus).

CHIENS. Muscles de la cuisse pris immédiatement après la mort chez des chiens ayant servi à des expériences de vivisection de longue durée. Plusieurs ont reçu des injections de propeptone : *Suc musculaire* $\Delta = 0^{\circ},78; 0^{\circ},78; 0^{\circ},81; 0^{\circ},82; 0^{\circ},83; 0^{\circ},83; 0^{\circ},84; 0^{\circ},88$. *Muscle cardiaque* (suc) $\Delta = 0^{\circ},80$. *Rein* (suc) $\Delta = 0^{\circ},72; 0^{\circ},79; 0^{\circ},82$. *Rein* (frais) $\Delta = 0^{\circ},69; 0^{\circ},72$. *Rate* (fraîche) $\Delta = 0^{\circ},77$. *Cerveau* (frais) $\Delta = 0^{\circ},72$.

Chiens n'ayant servi à aucune expérience, tués par saignée : *Muscles fémoraux* (suc) $\Delta = 0^{\circ},68; 0^{\circ},73; 0^{\circ},74; 0^{\circ},76; 0^{\circ},78$. *Cœur* (suc) $\Delta = 0^{\circ},73$. *Rein* (suc) $\Delta = 0^{\circ},71; 0^{\circ},73; 0^{\circ},86$. *Pancréas* (suc) $\Delta = 0^{\circ},67$. *Cerveau* (frais) $\Delta = 0^{\circ},64$. *Foie* (frais) $\Delta = 0^{\circ},64$.

GRENOUILLES VERTES d'hiver. *Muscles des pattes* (suc) $\Delta = 0^{\circ},52; 0^{\circ},53$. *Ovaires* (frais) $\Delta = 0^{\circ},42; 0^{\circ},47$. *Foie* (frais) $\Delta = 0^{\circ},57$; entre $0^{\circ},65$ et $0^{\circ},70$. *Oviductes* (frais) $\Delta = 0^{\circ},59$.

CARPES (*Cyprinus carpio*). *Sang* $\Delta = 0^{\circ},53$. *Muscles* (frais) $\Delta = 0^{\circ},67; 0^{\circ},69$. *Ovaires* (frais) $\Delta = 0^{\circ},48; 0^{\circ},56$. *Foie* (frais) $\Delta = 0^{\circ},66; 0^{\circ},79$.

CHEVAINE (*Leuciscus cephalus*). *Muscles* (frais) $\Delta = 0^{\circ},69$.

ANGUILLE (*Anguilla vulgaris*). *Muscles* (suc) $\Delta = 0^{\circ},83$.

TRIGLA HIRUNDO (poisson osseux marin), au moins vingt-quatre heures après la mort. *Sang* $\Delta = 0^{\circ},91$. *Muscles* (suc) $\Delta = 0^{\circ},95; 1^{\circ},04$. *Ovaires* $\Delta = 0^{\circ},96$. *Foie* $\Delta = 1^{\circ},34$.

II. — Comme l'a découvert Sabbatani, la concentration moléculaire augmente après la mort. J'en donnerai deux exemples :

CHIEN A. Muscles de la cuisse. Immédiatement après la mort :

Suc musculaire	$\Delta = 0^{\circ},78$	avec 4.98 %	de résidu solide à la dessiccation.
Après 24 heures	$\Delta = 0^{\circ},87$	» 5.00 %	» »
» 48	» $\Delta = 0^{\circ},88$	» 5.02 %	» »
» 72	» $\Delta = 0^{\circ},89$	» 5.08 %	» »

CHIEN B. Muscles de la cuisse. Immédiatement après la mort :

Suc musculaire	$\Delta = 0^{\circ},74$	avec 4.77 %	de résidu solide à la dessiccation.
Après 24 heures	$\Delta = 0^{\circ},90$	» 5.11 %	» »
» 48	» $\Delta = 0^{\circ},95$	» 5.00 %	» »
» 72	» $\Delta = 0^{\circ},93$	» 5.22 %	» »

La richesse du suc musculaire en résidu solide n'augmente guère après la mort. La concentration moléculaire de ce suc s'accroît donc, moins par adjonction de molécules nouvelles fournies par la partie insoluble du muscle, que par dédoublement de molécules déjà contenues primitivement dans ce suc.

III. — Chez les poissons sélagiens et chez beaucoup d'invertébrés marins, les muscles et plusieurs autres tissus ont approximativement la même concentration moléculaire que celle du sang. Ils sont par conséquent en équilibre moléculaire avec l'eau de mer extérieure, puisque le sang présente chez ces animaux l'isotonicité avec le milieu extérieur. Exemples :

RAIE (*Raja clavata*), morte depuis au moins vingt-quatre heures. *Muscles* (suc) $\Delta = - 1^{\circ},95$.

HOMARD (*Homarus vulgaris*). *Sang* $\Delta = - 1^{\circ},76$. *Muscles* (frais) $\Delta = - 1^{\circ},80$.
Hépatopancréas (frais) $\Delta = - 1^{\circ},88$.

LANGOUSTE (*Palinurus vulgaris*). *Sang* $\Delta = - 1^{\circ},84$. *Muscles* (suc) $\Delta = - 1^{\circ},88$.
Hépatopancréas (frais) $\Delta = 1^{\circ},98$.

MOULES (*Mytilus edulis*). *Eau* $\Delta = - 1^{\circ},75; 1^{\circ},69; 1^{\circ},77$. Bouillie des différents tissus mélangés $\Delta = - 1^{\circ},72; 1^{\circ},70; 1^{\circ},78$.

Chez l'écrevisse, le sang et les tissus sont notablement plus concentrés que le milieu liquide extérieur.

ÉCREVISSE (*Astacus fluviatilis*). *Sang* $\Delta = - 0^{\circ},78; 0^{\circ},80$. *Muscles* (suc) $\Delta = - 0^{\circ},74; 0^{\circ},80$. *Hépatopancréas* (frais) $\Delta = - 0^{\circ},82; 0^{\circ},85$.