Zeitschrift: Bulletin de la Société Vaudoise des Sciences Naturelles
Herausgeber: Société Vaudoise des Sciences Naturelles
Band: 62 (1942-1945)
Heft: 259

Artikel: Sur l'emploi du nitrate d'argent en histologie du tissu nerveux
Autor: Landau, E.
DOI: https://doi.org/10.5169/seals-273238

Nutzungsbedingungen
Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

Conditions d'utilisation
L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

Terms of use
The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

Download PDF: 12.07.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, https://www.e-periodica.ch

Sur l'emploi du nitrate d'argent en histologie du tissu nerveux

PAR

E. LANDAU

(Séance du 2 décembre 1942.)

Le nitrate d'argent a joué un grand rôle non seulement dans les recherches sur la structure du système nerveux, mais aussi dans celles sur l'innervation périphérique des organes. Il n'est pas étonnant que la technique de l'imprégnation du tissu nerveux par le nitrate d'argent continue jusqu'à nos jours à intéresser des spécialistes.

La méthode classique de Golgi (1873), qui a valu à l'auteur le prix Nobel, est considérée actuellement par certains comme une méthode démodée et par d'autres, comme une méthode pleine d'erreurs et donnant lieu à des formations artificielles. Le célèbre savant espagnol Ramon-y-Cajal, qui a beaucoup travaillé avec la méthode de Golgi, y a, le premier, introduit beaucoup d'améliorations et est peu à peu arrivé aux nouveaux procédés qui ont fait passer la méthode de Golgi au second plan. La critique scientifique a remercié cet auteur pour ses nouvelles recherches également par le prix Nobel. Le troisième auteur qui a rendu son nom célèbre par d'importantes améliorations ultérieures de la technique argentique est Bielschowsky. Comme nous allons le voir, cet auteur ne se contentait pas d'utiliser du simple nitrate d'argent; il intercalait entre le nitrate d'argent et le réducteur l'argent ammoniacal, autrement dit l'argent sensibilisé. On peut dire sans exagération que toutes nos connaissances actuelles sur la structure fine du système nerveux central, ainsi que toutes les doctrines sur l'innervation périphérique et la synapse, se basent sur la technique de Bielschowsky. Malheureusement, c'est là une technique très capricieuse et, même entre les mains de spécialistes expérimentés, elle ne donne pas toujours les résultats désirés. Nous connaissons d'innombrables variantes de cette technique, par lesquelles on essaie de réduire autant que possible les échecs.

Nous devons nommer ici les modifications proposées par Gros sur coupe à la congélation et celles proposées par Agduhr sur blocs. Les deux méthodes sont bonnes. En cas de réussite, il n'y a naturellement aucune différence entre imprégnation sur coupe ou sur bloc. Il serait tout à fait illogique de supposer que les neurofibrilles obtenues sur coupe donnent des images artificielles tandis que sur bloc les mêmes neurofibrilles présenteraient des images réelles.

Après ces quelques mots d'introduction, essayons de faire une analyse des trois méthodes classiques, c'est-à-dire celles de Golgi, Cajal et Bielschowsky.

Le procédé de Golgi est très simple: le tissu nerveux fixé dans le liquide de Müller ou dans une solution de bichromate de potassium à 3 % - 4 % - 5 % (avec ou sans acide osmique) est ensuite transporté pour quelques jours dans une solution de nitrate d'argent à 0,75 % à la température de 35° C. Les coupes sont ensuite confectionnées soit à la congélation, soit directement sans inclusion entre deux morceaux de foie durci dans un fixateur; mais on peut aussi enrober les pièces dans la paraffine.

Les méthodes de Cajal sont un peu plus compliquées: le tissu nerveux est fixé soit dans l'alcool, soit dans l'alcool ammoniacal ou bien dans le formol. Après fixation, les pièces sont transportées dans une solution de nitrate d'argent à 0,75 % - 1 % - 2 % à la température de 35° C, où elles restent pendant quelques jours. Après un rinçage rapide à l'eau distillée, l'argent est réduit par les méthodes employées en photographie, c'est-à-dire par une solution d'hydrochinone ou d'acide pyrogallique, plus un peu de formol.

Le procédé de Bielschowsky est le plus compliqué. Le tissu nerveux est fixé au formol à 10 % - 12 % - 50 %. La pièce est soumise ensuite à l'action de la pyridine pure. Après un rinçage plus ou moins long à l'eau distillée, la pièce est transportée dans une solution de nitrate d'argent à 3 %, où elle reste pendant quelques jours. Ensuite, le nitrate d'argent est remplacé par du nitrate d'argent sensibilisé. Cet argent peut être obtenu soit seulement à l'aide d'ammoniaque, soit par la soude caustique suivie d'ammoniaque, et cela jusqu'à ce que la solution devienne de nouveau limpide. La réduction de l'argent se fait à l'aide d'une solution forte de formol ou par un mélange de formol et de sucre interverti.

Par la méthode de Golgi, nous obtenons, en cas de succès, l'imprégnation externe de la cellule nerveuse avec plus ou moins tous ses prolongements, c'est-à-dire du « neurone ». La

cellule elle-même est noire; sa structure fine n'est pas visible. Par les méthodes de Cajal, nous voyons, en cas de succès, les neurofibrilles intracellulaires et extracellulaires et nous voyons encore des neurofibrilles de différentes épaisseurs. La valeur de la méthode de Bielschowsky consiste en ceci, qu'en cas de réussite l'on obtient l'imprégnation la plus élective et la plus fine.

Par le procédé de Golgi, nous obtenons des réactions très rapides et fortes parce que le tissu est avant tout imbibé du réducteur, — l'imprégnation sera ici la plus grossière. Dans les procédés de Cajal, l'imprégnation et la réduction sont plus fines déjà, plus spécifiques. Le maximum de spécificité envers les neurofibrilles est obtenu par la méthode de Bielschowsky. On obtient, en cas de succès, des images neurofibrillaires aussi fines et quelquefois même plus fines que par la méthode de coloration vitale au bleu de méthylène d'Ehrlich-Dogiel.

En parlant de différentes méthodes, je n'ai pas répété sans raison que telle méthode donne un tel résultat, mais seulement en cas de réussite, car on peut avoir des échecs aussi bien avec la coloration vitale d'Ehrlich qu'avec les méthodes de Golgi, de Cajal ou de Bielschowsky. On doit se familiariser avec le fait désagréable que pour l'imprégnation de neurofibrilles et avant tout du réseau sympathique, il faut avoir beaucoup plus de patience, plus d'expérience et peut-être plus de chance que pour la coloration par n'importe quelle autre méthode. On ne possède pas encore une méthode absolument sûre pour l'imprégnation du système sympathique, mais nous ne pouvons pourtant pas déclarer produits artificiels toutes les imprégnations fines obtenues par un chercheur expérimenté, si nous n'avons pas eu l'occasion d'observer ces finesses sur nos propres coupes. Voilà un exemple personnel: j'ai appris la coloration au bleu de méthylène au laboratoire du professeur Dogiel lui-même et je peux dire que depuis cette époque, mes pièces étaient quelquefois aussi belles que celles de mon maître. Mais jamais je ne suis arrivé à conserver ces coupes — raison pour laquelle j'ai abandonné cette merveilleuse méthode — ... et pourtant je n'ose pas dire que la conservation soit toujours impossible, vu que Dogiel et Bethe y sont arrivés. Bref, la méthode de Bielschowsky est sans doute la meilleure des méthodes proposées pour l'imprégnation des neurofibrilles. Aussi les imprégnations de Boeke sont-elles pour le moment les plus fines, et les résultats de cet auteur les plus beaux obtenus par cette méthode. Les découvertes de Stöhr junior et ses élèves, mais avant tout celles de Boeke et de son école,

ont entièrement bouleversé les anciennes doctrines sur le système nerveux périphérique. Certains chercheurs, qui n'ont pas réussi à retrouver sur leurs propres coupes les nouvelles découvertes, passent à une critique injuste et déclarent que ces découvertes splendides sont des produits artificiels et sans valeur. D'autres chercheurs espèrent toujours encore pouvoir améliorer les excellentes méthodes de Bielschowsky, non par l'application de nouveaux principes chimiques ou physiques, mais par de petites modifications de caractère bien secondaire. Les découvertes de Boeke, Stöhr junior, Lawrentjew, Ottaviani, de notre propre laboratoire et d'autres ont déjà éclairci quelques questions importantes, en toute harmonie avec les constatations nouvelles des physiologistes. C'est ainsi que nous avons pu prouver, par exemple, que l'innervation périphérique des vaisseaux capillaires ne se fait pas seulement par des fibrilles du réseau sympathique, mais qu'à cette innervation périphérique participe encore un système syncitial de cellules périphériques de caractère nerveux. Boeke est arrivé au même point de vue pour des cellules nerveuses qui participent à l'action périphérique dans les terminaisons nerveuses motrices. Après avoir également essayé d'élaborer dans ces techniques quelque chose de nouveau, nous y avons renoncé depuis que nous avons réussi à obtenir par la méthode Bielschowsky-Agduhr les mêmes finesses histologiques qu'ont décrites Boeke, Stöhr junior, Lawrentjew, Ottaviani, Schimmert, Ackeringa et autres.

Mais une question d'un autre domaine nous a intéressé: par quelle réflexion, comment, par quelles méditations, ces maîtres, Golgi, Cajal et Bielschowsky sont-ils arrivés à l'élaboration de leurs méthodes?

Pour la méthode de Golgi, il est aisé de reconstruire les étapes. Golgi a découvert sa méthode à une époque où le fixateur habituel, dans tous les laboratoires, était la solution de Müller (bichromate de potassium, 2,5 gr., sulfate de soude, 1,0 gr., et eau distillée 100,0 gr.). D'autre part, l'utilisation du nitrate d'argent comme fixateur date déjà de l'année 1840, où Krause a, pour la première fois, recommandé ce produit pour la technique histologique. Recklingshausen et ses élèves, ainsi que Ranvier, employaient déjà le nitrate d'argent pour l'étude du système nerveux. Les deux produits, le bichromate de potassium et le nitrate d'argent, étaient sûrement présents au laboratoire de Golgi. Une intuition fulgurante: transporter une pièce déjà fixée au bichromate de potassium dans un deuxième fixateur: le nitrate d'argent, et l'heureuse découverte était faite. Naturellement, un observateur médiocre n'aurait

pas saisi l'effet de cette combinaison, mais un homme de talent avait immédiatement compris l'importance de ce qu'il découvrit sous le microscope. D'après une autre version, la découverte de la « reazione nera » serait un pur hasard. Au lieu de mettre une pièce imbibée de bichromate de potassium dans l'eau, Golgi aurait transporté la pièce *par erreur* dans une solution de nitrate d'argent. La réaction à peine apparue, l'esprit analytique du chercheur est entré en jeu et la célèbre méthode a été finalement trouvée. Newton n'attendit pas que cent kilogrammes de pommes fussent tombées sur sa tête pour trouver la loi de la gravitation!

Pour les méthodes de Cajal, on peut aussi deviner la suite des idées du maître. A ce propos, nous lisons chez J. Bertrand (Techniques histologiques de neuropathologie, 1930, p. 151): « En 1900, L. Simarro décrivit un procédé d'imprégnation neurofibrillaire à l'aide de sels photographiques d'argent. Cette méthode aujourd'hui abandonnée a été le point de départ des brillantes découvertes de Cajal. » Le principe des procédés dits « à l'argent réduit » dont Cajal a publié près de trente variantes est toujours le même: un fragment fixé à l'alcool ou à l'alcool ammoniacal, ou même au formol, est imprégné d'une solution de nitrate d'argent à 0,75 % - 2 % pendant quelques jours. La réduction de cet argent est ensuite pratiquée à l'aide de produits photographiques comme, par exemple, l'hydroquinone ou le pyrogallol. Les découvertes faites par Cajal et ses élèves à l'aide de ces méthodes sont nombreuses et d'une importance énorme; et pourtant, lisons-nous chez le physiologiste bien connu A. Bethe (Enzykl. d. mikr. Techn. vol. 1. IIe Ed., 1910, p. 295), les remarques suivantes: « Für Unterrichtszwecke und für das Studium der gröberen Fibrillenverhältnisse stellen die Methoden Cajals sicherlich eine wesentliche Bereicherung der Technik dar. Für feinere Details des Fibrillenverlaufs... eignen sie sich dagegen wenig, weil im centralen und noch mehr im peripheren Nervensystem durch erhebliche Schrumpfungen und Verklebungen eine Reihe offensichtlicher Kunstprodukte entsteht. » Ces dernières remarques de Bethe justifient entièrement le grand intérêt que les histologistes ont porté à la méthode de Bielschowsky qui est sans doute supérieure à celle de Cajal. Nous l'avons déjà mentionné: fixation au formol, ensuite pyridine; lavage à l'eau courante et distillée. Imprégnation par deux solutions différentes de nitrate d'argent, à savoir par une première solution habituelle à 2 % - 3 % pendant quelques jours, et ensuite par une solution de nitrate d'argent sensibilisée par l'ammoniaque seulement

ou par la soude caustique, et ensuite rendue limpide par l'ammoniaque. Court lavage et alors seulement la réduction de l'argent, mais non pas cependant par le pyrogallol ou l'hydroquinone — réducteurs trop dynamiques — mais par le formol simple ou mélangé de sucre interverti.

Comment Bielschowsky est-il arrivé à la technique nouvelle à l'argent ammoniacal? Si c'est la photographie qui a inspiré Simarro et Cajal, quelle industrie a donc pu donner à Bielschowsky l'idée d'utiliser l'argent ammoniacal? Une fois cette question posée, j'ai commencé de chercher les applications chimiques et industrielles du nitrate d'argent. La réponse était trouvée: c'est la miroiterie. Une visite dans une miroiterie de notre ville nous a définitivement persuadé de la justesse de notre supposition. Quelques citations d'un livre sur la fabrication des miroirs vous permettront de vérifier jusqu'où mes suppositions sont fondées.

Voici, par exemple, le procédé de Common pour la préparation des miroirs. Je laisse naturellement de côté la question du nettoyage et lavage du verre; je m'occupe seulement de la préparation argentique. On sait qu'il y a à peu près un demi-siècle qu'on a remplacé en miroiterie le mercure par le nitrate d'argent. Common ajoute à une solution de nitrate d'argent à 10 % assez d'ammoniaque pour que le précipité qui se forme soit de nouveau dissous; ensuite, on ajoute la moitié de cette quantité d'une solution de lessive de potasse ou de soude; ensuite, de nouveau de l'ammoniaque, juste autant qu'il en faut pour que la solution devienne limpide. La réduction de cette solution s'opère par un mélange qui contient 10 % de sucre, 10 % d'alcool et 0,5 % d'acide nitrique. On verse ensuite le mélange de ces deux solutions sur le verre préparé. Après 25 à 30 minutes, la couche du miroir est formée.

D'après Izarn, dans un procédé proposé par Lumière, on emploie comme réducteur le formol. Le réducteur de Benrath contient du sucre et de l'acide tartrique. Krippendorf enfin prépare son réducteur sur la base du sel de Seignette. Winkler et Ernst reproduisent dans leur livre: « Die Spiegelfabrikation » 1936, un tableau emprunté aux « Transactions of the American Ceramic Society », où l'on voit que les miroitiers ont fait des essais avec les réducteurs suivants: sel de Seignette, formaldéhyde, acétaldéhyde, acide tartrique, acide citrique, dextrine, lactose, glucose, etc. Il y a dans la miroiterie des procédés où l'on fait la réduction de l'argent sensibilisé à froid, il y en a d'autres où la réduction se fait à chaud. Mais tandis qu'en miroiterie on a beaucoup de procédés

pour la réduction de l'argent, la solution argentique employée est toujours la même: une solution plus instable que le simple nitrate d'argent, une solution plus facilement réductible, l'argent ammoniacal.

Reprenons la méthode de Bielschowsky. L'argent sensibilisé est préparé par le même moyen que dans la miroiterie, c'est-à-dire qu'à une certaine quantité de solution aqueuse de nitrate d'argent on ajoute de l'ammoniaque jusqu'à ce que le précipité qui se forme après les premières gouttes d'ammoniaque disparaisse de nouveau. Dans la méthode de Gros, l'on se sert d'un pareil argent sensibilisé. Bielschowsky obtient son argent sensibilisé en ajoutant avant tout au nitrate d'argent une certaine quantité de soude caustique. Le précipité ainsi obtenu est ensuite dissous par l'ammoniaque. Comme nous l'avons vu, le miroitier se sert également de NaOH ou de KOH pour obtenir le précipité. La réduction de l'argent sensibilisé dans les méthodes fines de Bielschowsky par le formol ou par un mélange de glucose, sel de Seignette et formol, est faite exactement par les mêmes substances dont on se sert aussi en miroiterie.

Tout ce que je viens d'exposer ne diminue aucunement le mérite de Bielschowsky, mais nous montre par quelle voie un homme de talent peut arriver aux découvertes. Parmi les méthodes d'imprégnation neurofibrillaires, celle de Bielschowsky reste la meilleure. Grâce aux conseils trouvés dans la littérature sur la miroiterie, j'ai mieux compris les principes scientifiques de cette technique et sans avoir la moindre idée de proposer — *sit venia verbo* — une spécialité de notre maison, car il y en a assez, je peux pourtant affirmer qu'en appliquant différentes combinaisons des produits chimiques mentionnés, mais cependant combinés autrement que ne le proposait Bielschowsky, je suis arrivé à un résultat semblable.

Résumé.

Selon nos propres expériences, faites pendant des années, nous devons dire que toutes les trois méthodes ont leur valeur et leur application.

Si, par exemple, nous avons eu la chance de trouver dans le cervelet un nouveau type de cellules d'association : la cellule synarmotique, nous devons cette découverte entièrement à la méthode de Golgi. Mais, après sa découverte par la méthode de Golgi, cette cellule a été retrouvée dans le laboratoire du professeur Matthey par Mlle Loewenberg sur une coupe colorée au bleu de toluidine. Dans tous les cas, quand on veut

élargir ses connaissances de la cytoarchitectonique obtenue par la méthode de Nissl, c'est la méthode de Golgi qui peut rendre les meilleurs services.

Les méthodes de Cajal ont l'avantage d'être plus rapides et moins compliquées que celles de Bielschowsky. Pour l'étude histopathologique du système nerveux, les méthodes de Cajal sont quelquefois les meilleures. Le Dr Senn vient de terminer dans notre laboratoire une intéressante étude sur la pathologie du neurone de Purkinje dans le cervelet et il a travaillé avant tout avec la méthode de Cajal.

Enfin, pour les recherches très fines, qui sont presque à la limite du visible, la méthode de Bielschowsky sera la plus recommandable. C'est avec cette méthode que nous sommes arrivés avec nos collaborateurs (Mlle le Dr Pidoux, M. Fattorusso, M. le Dr Racine), aux finesses de l'innervation de la peau, du muscle lisse, du muscle cardiaque, des glandes, de l'oreille interne, des vaisseaux sanguins (v. Fig. 1). Et tandis que par la méthode de Golgi c'est seulement le tissu nerveux qui est bien visible, ce qui est également le cas pour les méthodes de Cajal, par contre, la méthode de Bielschowsky donne des préparations excellentes pour tous les tissus. C'est ainsi que nous avons pu trouver par cette méthode la présence de vaisseaux sanguins dans l'épithélium de la *macula acustica* de l'oreille interne (v. Fig. 2). C'est grâce à cette méthode, et naturellement grâce à son don d'excellent observateur, que le professeur Boeke a pu devenir une autorité mondiale dans les questions concernant le système nerveux périphérique.

Cependant, nous aimerions terminer cet exposé par une pensée exprimée par nous-même dans une autre publication: l'avenir, sans doute, enrichira la science de nouvelles méthodes de recherche, beaucoup plus subtiles que les nôtres et, a priori, il est très difficile de prévoir lesquels de nos procédés et lesquelles de nos découvertes seront les plus appréciés par les savants futurs.

C'est justement pour cela que, dans un laboratoire scientifique, il ne faut pas construire le travail exclusivement sur la base des méthodes modernes. Il faut au contraire, en utilisant les procédés les plus modernes, ne pas ignorer les moyens plus anciens.

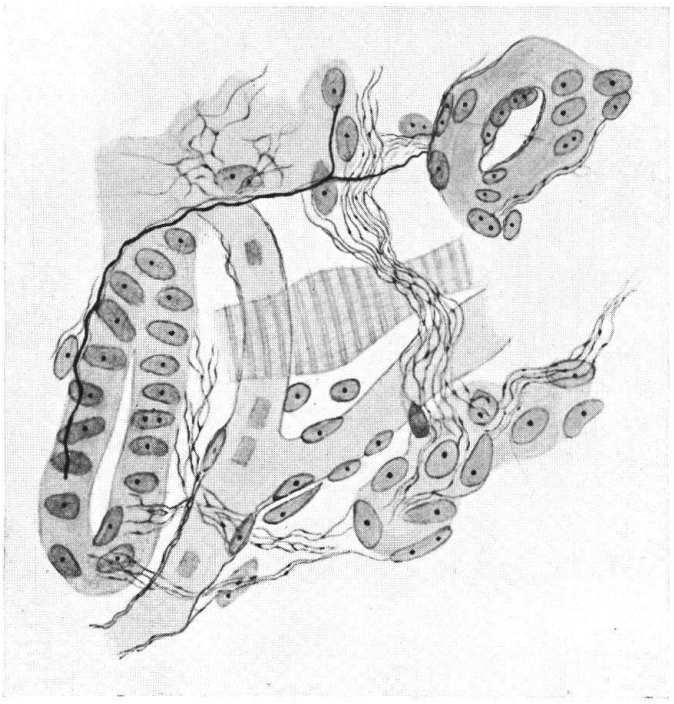

FIG. 1. — La langue d'un chat nouveau-né. Quelques petits vaisseaux sanguins. Dans la partie gauche du dessin on voit une petite artériole coupée obliquement; à droite de cette artériole: un vaisseau capillaire en forme de Y. Le coin droit supérieur du dessin est occupé par un vaisseau capillaire en forme d'anneau. Le coin droit inférieur enfin est occupé par le plexus sympathique fondamental qui envoie d'ici ses neurofibrilles fines et accompagnées de noyaux de Schwann vers le vaisseau en forme d'anneau, à travers le muscle strié de la langue et vers l'artériole, en traversant le vaisseau en Y. L'artériole reçoit encore une neurofibrille plus épaisse, une fibrille spinale. Méthode Bielschowsky-Agduhr. Grossissement 1200.

E. Landau

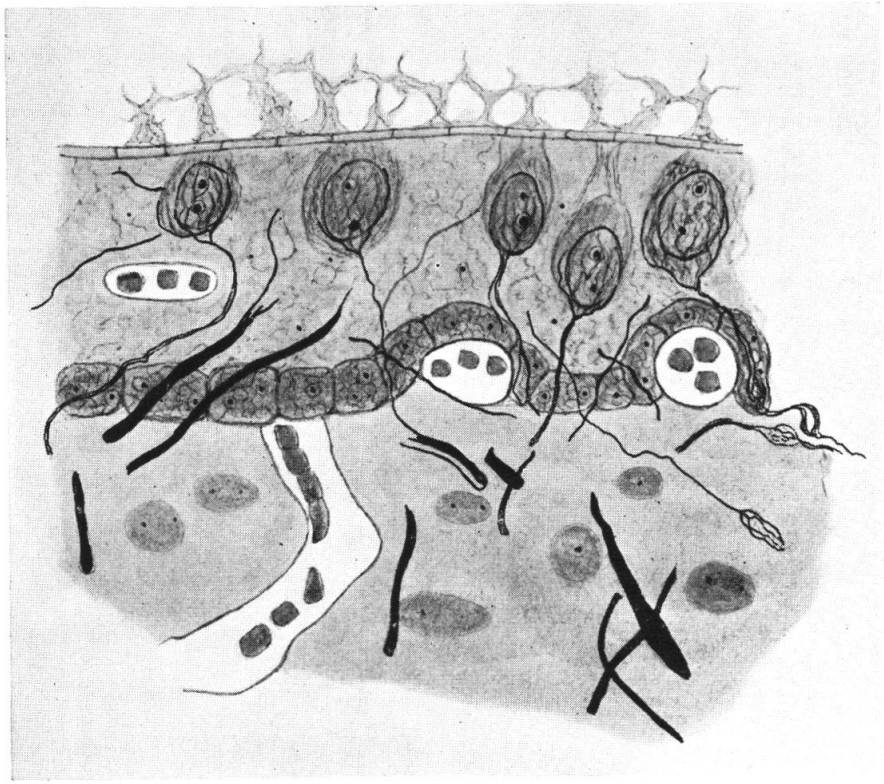

Fig. 2. — L'oreille interne d'un cobaye. *Macula acustica.* L'on voit non seulement les neurofibrilles très fines qui se dirigent vers les cellules épithéliales spécifiques de l'organe, mais aussi l'histologie fine de cet appareil avec ses cellules de soutien. Les vaisseaux sanguins avec les hématies sont également bien visibles et c'est sur cette coupe que nous avons pu constater pour la première fois la présence de vaisseaux sanguins dans l'épithélium de la *macula*: une constatation qui a été jusqu'à maintenant considérée comme caractéristique exclusive de la *stria vascularis*. Méthode Bielschowsky-Agduhr. Grossissement 1200.

E. Landau

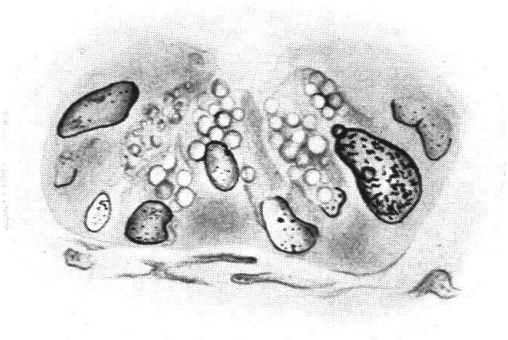

Fig. 1.

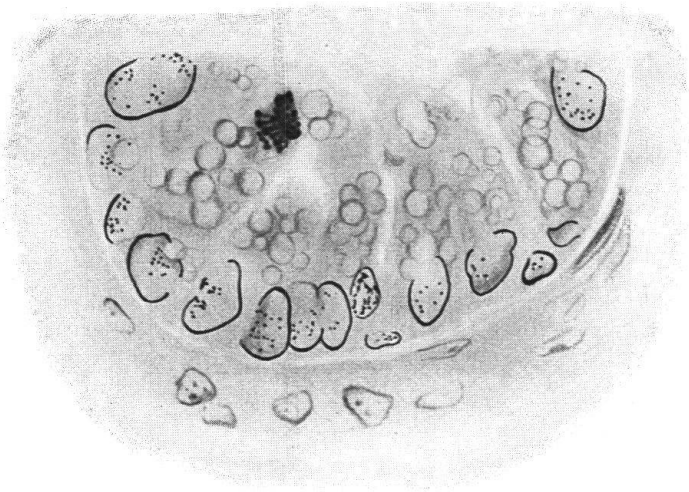

Fig. 2.

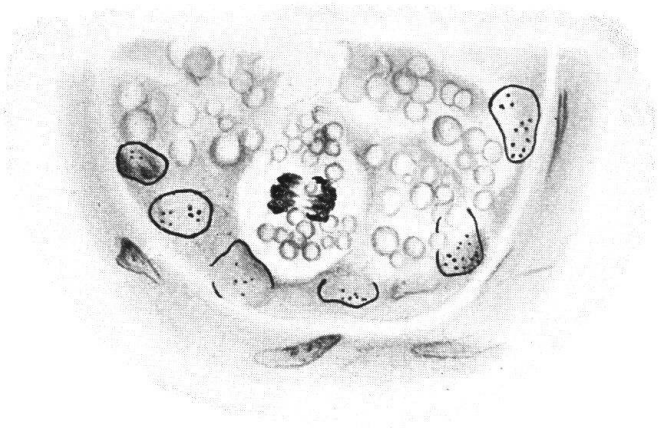

Fig. 3.

E. Gallico