

Extrait!

INSTITUTO  
CAJAL

Cajal  
Despacho  
7A-4029

# Archives Suisses de Neurologie et de Psychiatrie

Organe officiel de la Société suisse de Neurologie  
et de la Société suisse de Psychiatrie.

Volume XIII

Volume commémoratif pour  
Constantin de Monakow

Quelques méthodes simples pour la  
coloration de la Névrogie.

Par

S. RAMON CAJAL.



## Les Archives Suisses de Neurologie et de Psychiatrie

paraissent 4 fois par an, en fascicules de 10 feuilles dont 2 forment un volume.

Prix de l'abonnement pour le volume de 2 fascicules 35 fr., Abonnement postal 20 cts. de surtaxe (pour les membres de la Société suisse de Neurologie et de la Société suisse de Psychiatrie 28 fr., si la commande est adressée directement aux éditeurs). Les fascicules se vendent séparément au prix de 20 fr.

Zurich 1923

Imprimeurs-Éditeurs: Art. Institut Orell Füssli

Ne se vend pas séparément!

## 11. Quelques méthodes simples pour la coloration de la Névroglie.

Par S. RAMON CAJAL, Madrid.



La névroglie des centres nerveux étant considérée actuellement par beaucoup de savants non seulement comme une trame de soutien, d'après l'ancienne conception de *Weigert*, mais aussi comme une glande vasculaire sanguine intercalée entre les névrone et les fibres nerveuses, divers auteurs ont imaginé, pour la teindre, de très intéressantes méthodes tendant à en présenter la morphologie réelle et surtout les altérations pathologiques. La plupart de ces méthodes (exception faite de celle de *Golgi*), sans en exclure celle de *Weigert* et ses variantes, présentent le très grand inconvénient de ne teindre que la glia fibreuse et de ne pas révéler avec assez de clarté le soma névroglie.

Limité au cadre restreint de cette note, je ne ferai point ici l'histoire des nombreux essais réalisés pour colorer la glia de la substance blanche et celle de la substance grise. Les travaux de *Weigert*, *Nissl*, *Golgi*, *Held*, *Alzheimer*, *Anglade*, *Fisath*, *Fieandt*, *Da Fano*, *Perusini*, *Cerletti*, *Achúcarro*, nous-même, *Ranke*, *Tello*, *Río-Hortega*, etc. étant très connus, il serait superflu d'en donner ici un résumé bibliographique que l'on trouvera d'ailleurs dans les monographies respectives.

Notre intention, dans cette note succincte, est d'attirer l'attention des névrologistes sur quelques procédés simples d'imprégnation déjà publiés, il est vrai, mais dont les avantages pour la coloration de la substance grise — la grande difficulté des anciennes méthodes — n'ont pas été, à notre avis, suffisamment appréciés. La bibliographie récente démontre cette prétention due, peut-être, en grande partie, à l'ignorance presque générale de la langue espagnole dans les laboratoires de l'étranger. Les importantes techniques d'*Achúcarro* et de *Río-Hortega* sont un peu plus connues, raison pour laquelle nous nous abstenons d'en faire la description dans ce travail<sup>1)</sup>.

<sup>1)</sup> La bibliographie espagnole sur la névroglie est très considérable. Le lecteur désirant la connaître à fond doit consulter les nombreux articles parus dans *Trabajos del Laboratorio de Investigaciones biológicas* (surtout les 10 derniers volumes), le *Boletín de la Sociedad de Biología* (8 volumes), et les *Archivos de Neurobiología* (3 volumes). Tous les Instituts biologiques n'ayant pas ces collections pourront les acquérir en échange de leurs publications.

**I. Méthode de l'or sublimé.** Après bien des essais de notre part et de la part de nos disciples, et tout spécialement de *Castro*, voici la formule que nous avons fini par adopter:

1° Fixage des pièces, aussi fraîches que possible, dans la solution suivante:

Formol neutre . . . . .	15
Eau . . . . .	85
Bromure d'ammonium . . . . .	2

Si l'on désire imprégner la glie de la substance grise, ce fixateur doit agir de 2 à 15, ou de 20 jours au plus. Après ce temps, il ne colore plus que les astrocytes de la substance blanche, fait qui démontre que le formol agit en altérant progressivement les matières attirant dans la glie de la substance grise les dépôts métalliques.

2° Coupes par congélation; celles-ci doivent être grosses, de 25 à 30 microns d'épaisseur. Une telle épaisseur, outre qu'elle favorise la réaction, a encore l'avantage de montrer plus complètement les expansions des astrocytes.

3° Après un lavage rapide à l'eau distillée pour en extraire le formol, ces coupes sont mises à tremper dans le liquide suivant:

Eau distillée . . . . .	35 cc.
Solution de chlorure d'or brun (Merck) à 1% . . . . .	6 cc.
Sublimé cristallisé en aiguilles . . . . .	0,5 à 0,8 gr.

La dissolution du sublimé dans le liquide d'or devra se faire à chaud; avant d'y mettre les coupes, il convient de la filtrer alors qu'elle est encore tiède. Cependant, nous avons obtenu souvent de bons résultats avec la dissolution à froid. Le nombre de coupes ne doit pas dépasser de 4 à 7 (si elles ont une surface de 3 à 4 centimètres carrés) pour un bain de 35 cc. A cet effet, il est avantageux et commode de se servir de cristallisoirs de 6 à 7 centimètres de diamètres, dans lesquels le liquide forme une couche de 0,6 à 1 centimètre d'épaisseur environ. Il est aussi convenable d'aplanir les sections avec un pinceau (en y apportant un soin extrême) sur le fond du cristallisoir, afin que le réactif agisse principalement en-dessus. Enfin, on conservera les cristallisoirs à l'obscurité, en évitant de les agiter.

4° Au bout de 4 à 6 heures (pour des températures moyennes de 18 à 20°), les coupes apparaîtront teintées en ton pourpre intense. On les transporte alors (les manipulant avec des agitateurs en verre) à un vase contenant de l'eau distillée en abondance, et on les y laisse pendant quelques minutes. Puis on les fait passer au fixateur suivant:

Hyposulfite de soude à 5% . . . . .	40 cc.
Alcool ordinaire . . . . .	10 cc.

où on les maintiendra de 6 à 10 minutes.

5° Lavage pendant quelques minutes dans de l'eau alcoolique (eau distillée contenant un 30 à 40 pour cent d'alcool ordinaire); montage sur des porte-objets d'où l'on extraira le liquide avec du papier buvard; enfin, alcool absolu, essence d'origan ou carbol-xyloïl, xyloïl et baume.

*Observations utiles pour le succès de l'imprégnation névroglique avec la formule à l'or sublimé:*

1° *Pureté des réactifs employés et fraîcheur des bains.* Pour opérer avec succès l'imprégnation névroglique il importe beaucoup de se servir de chlorure d'or pur, c'est à dire du *perchlorure d'or brun*, exempt d'acide chlorhydrique libre, et de réaction légèrement acide. Nous employons le chlorure d'or brun pur de Merck. Il est vrai que l'on peut aussi obtenir d'excellents résultats avec le chlorure jaune du commerce, à condition de laisser plus longtemps les pièces dans le bain. — Nous ne conseillons pas toutefois d'employer habituellement ce genre de chlorure d'or, à cause des impuretés qu'il contient généralement, et pour éviter, par conséquent, les risques d'insuccès.

**I. Méthode de l'or sublimé.** Après bien des essais de notre part et de la part de nos disciples, et tout spécialement de *Castro*, voici la formule que nous avons fini par adopter:

1° Fixage des pièces, aussi fraîches que possible, dans la solution suivante:

Formol neutre . . . . .	15
Eau . . . . .	85
Bromure d'ammonium . . . . .	2

Si l'on désire imprégner la glie de la substance grise, ce fixateur doit agir de 2 à 15, ou de 20 jours au plus. Après ce temps, il ne colore plus que les astrocytes de la substance blanche, fait qui démontre que le formol agit en altérant progressivement les matières attirant dans la glie de la substance grise les dépôts métalliques.

2° Coupes par congélation; celles-ci doivent être grosses, de 25 à 30 microns d'épaisseur. Une telle épaisseur, outre qu'elle favorise la réaction, a encore l'avantage de montrer plus complètement les expansions des astrocytes.

3° Après un lavage rapide à l'eau distillée pour en extraire le formol, ces coupes sont mises à tremper dans le liquide suivant:

Eau distillée . . . . .	35 cc.
Solution de chlorure d'or brun (Merck) à 1% . . . . .	6 cc.
Sublimé cristallisé en aiguilles . . . . .	0,5 à 0,8 gr.

La dissolution du sublimé dans le liquide d'or devra se faire à chaud; avant d'y mettre les coupes, il convient de la filtrer alors qu'elle est encore tiède. Cependant, nous avons obtenu souvent de bons résultats avec la dissolution à froid. Le nombre de coupes ne doit pas dépasser de 4 à 7 (si elles ont une surface de 3 à 4 centimètres carrés) pour un bain de 35 cc. A cet effet, il est avantageux et commode de se servir de cristallisoirs de 6 à 7 centimètres de diamètres, dans lesquels le liquide forme une couche de 0,6 à 1 centimètre d'épaisseur environ. Il est aussi convenable d'aplanir les sections avec un pinceau (en y apportant un soin extrême) sur le fond du cristallisoir, afin que le réactif agisse principalement en-dessus. Enfin, on conservera les cristallisoirs à l'obscurité, en évitant de les agiter.

4° Au bout de 4 à 6 heures (pour des températures moyennes de 18 à 20°), les coupes apparaîtront teintées en ton pourpre intense. On les transporte alors (les manipulant avec des agitateurs en verre) à un vase contenant de l'eau distillée en abondance, et on les y laisse pendant quelques minutes. Puis on les fait passer au fixateur suivant:

Hyposulfite de soude à 5% . . . . .	40 cc.
Alcool ordinaire . . . . .	10 cc.

où on les maintiendra de 6 à 10 minutes.

5° Lavage pendant quelques minutes dans de l'eau alcoolique (eau distillée contenant un 30 à 40 pour cent d'alcool ordinaire); montage sur des porte-objets d'où l'on extraira le liquide avec du papier buvard; enfin, alcool absolu, essence d'origan ou carbol-xylol, xylol et baume.

*Observations utiles pour le succès de l'imprégnation névroglique avec la formule à l'or sublimé:*

1° *Pureté des réactifs employés et fraîcheur des bains.* Pour opérer avec succès l'imprégnation névroglique il importe beaucoup de se servir de chlorure d'or pur, c'est à dire du *perchlorure d'or brun*, exempt d'acide chlorhydrique libre, et de réaction légèrement acide. Nous employons le chlorure d'or brun pur de Merck. Il est vrai que l'on peut aussi obtenir d'excellents résultats avec le chlorure jaune du commerce, à condition de laisser plus longtemps les pièces dans le bain. — Nous ne conseillons pas toutefois d'employer habituellement ce genre de chlorure d'or, à cause des impuretés qu'il contient généralement, et pour éviter, par conséquent, les risques d'insuccès.

En général, cette coloration s'obtient très facilement et assez régulièrement chez l'homme et les mammifères pour qu'on puisse l'utiliser dans les recherches de l'anatomie pathologique de l'encéphale.

Les intéressants travaux d'*Achúcarro*, *Gayarre*, *Lajoro*, nous-même, *Schafer*, *Ziveri*, *E. Rossi*, *Marinesco* et *Minea*, *Havel*, *Río-Hortega*, *Fañandés*, *Fernando de Castro*, etc., en sont de bons témoignages. La méthode de l'or sublimé est non seulement applicable à l'homme et aux mammifères, mais aussi à tous les vertébrés (*Achúcarro* et *Castro*). Chez les reptiles et les batraciens on obtient de magnifiques résultats.

La solution de chlorure d'or brun gardée dans l'obscurité peut se conserver en bon état pendant des mois; il n'en est pas de même quand on la mélange avec le sublimé qui s'altère rapidement. C'est pourquoi ce mélange ne doit agir qu'au moment de s'en servir. Au lieu du sublimé en poudre, généralement impur, il est préférable d'employer le *sublimé cristallisé en aiguilles* des meilleures marques. Enfin, la proportion de sublimé ajoutée à la solution d'or ne laisse pas d'avoir une certaine importance. En général, l'augmentation des proportions de sublimé, dans de certaines limites (en quantité double ou triple de cette solution), accélère la réaction, mais elle enlève de la beauté, en augmentant les dimensions du grain du précipité.

**2° Température.** La question de la température est bien loin d'être indifférente au bon succès de la réaction. Disons tout d'abord que lorsque le thermomètre marque moins de 12°, il est fort rare d'obtenir une bonne coloration de la névroglie protoplasmique. La réaction sélective énergique est, dans de certaines limites, une fonction de la chaleur. Ainsi, *pour le cerveau humain* (coupes submergées dans le bain d'or-sublimé), celle-ci devra être de 18° à 20°, tout au plus de 22° et la coloration s'obtient dans un délai de 3 à 6 heures. Une température plus élevée diminue le contraste de la coloration.

Le cervelet, le bulbe rachidien et la moëlle épinière exigent des températures supérieures à celles nécessaires pour le cerveau (de 22° à 26°). Quant au degré de chaleur que doit avoir le bain d'or au moment de l'opération, il nous a semblé qu'elle doit être, lorsqu'il s'agit d'animaux de petite taille, de 24° à 26°, la coloration de la névroglie s'obtenant ainsi au bout de 2 ou 3 heures. Mais quand il s'agit de vertébrés très éloignés de l'homme (oiseaux, reptiles, batraciens et poissons), le réactif sublimé-or devra agir à des températures plus élevées (de 25° à 30°).

**3° Influence de la durée du fixage et de la fraîcheur des pièces.** Comme le formol détruit à la longue la matière aurofile, il faut chercher à produire la réaction le plus tôt possible. Il y a cependant une limite pratique représentée par la faculté indurante du formaldéhyde. Le temps d'induration préféré est de trois jours. D'ordinaire, cette période utile se prolonge jusqu'à 15 et 20 jours.

En général, la capacité que présente la névroglie protoplasmique à se teindre, cesse ou s'affaiblit assez rapidement, alors que l'aptitude de la glia fibreuse pour attirer l'or se conserve bien plus longtemps (parfois des années).

L'un des défauts de la méthode à l'or consiste en ce qu'elle ne colore point ou n'imprègne qu'avec pâleur la couche moléculaire et celle des petites pyramides. Il faut en attribuer surtout la cause à l'excès d'action formolique des couches superficielles des pièces. Pour atténuer cet ennuyeux inconvénient, nous recommandons de maintenir la *pie-mère* du cerveau pour que, aux effets de la coloration, la couche moléculaire des anfractuosités cérébrales se trouve dans de mêmes conditions que les couches profondes.

Chez les vertébrés inférieurs (comme l'ont observé *Achúcarro* et *Castro*) dont les centres nerveux excessivement petits sont pénétrés presque totalement par le fixateur en peu d'heures, on ne remarque aucune différence entre l'imprégnation des couches superficielles et celle des couches profondes.

Enfin, pour arriver à obtenir de bonnes préparations, il convient aussi de se servir d'encéphales très frais. Les meilleures préparations que nous possédons du cerveau humain proviennent d'autopsies faites deux ou six heures après la mort.

On obtient cependant, en hiver, des préparations assez bonnes chez des cadavres de 12 et même de 24 heures. Il est nécessaire de rappeler que la névroglie protoplasmique se désorganise rapidement par autolyse, contrairement à ce qui a lieu chez les astrocytes de la substance blanche qui présentent une résistance énergique au processus autolytiques.

**II. Méthode de l'oxyde d'argent ammoniacal ou combinaison avec le fixage dans du formol-bromure.** Cette méthode représente l'une de tant d'autres modifications de celle de *Bielschowsky* conseillées pour l'imprégnation de la névroglie.<sup>1)</sup> (*Perusini, Montesano, Achúcarro, Ranke, Tello, Rio-Hortega*, etc.) Fondée sur l'énergique affinité pour l'argent communiqué à la glia par le bromure d'ammonium, cette méthode a sur ses pareilles les avantages de la simplicité, de l'énergie de la coloration et d'une constance parfaite. En ce qui a trait à l'imprégnation des astrocytes de la substance blanche, aucune des formules connues ne saurait dépasser en valeur celle de cette méthode; et quant à la présentation de la glia protoplasmique, elle ne cède qu'à la méthode de Por sublimé. Cependant, quand on en domine bien les divers moments techniques, on peut également obtenir de magnifiques colorations de cette dernière variété névroglie. En voici la formule:

1° On soumet de minces morceaux de centres nerveux frais, durant une période de 3 à 15 jours, à l'action du fixateur connu:

Eau distillée . . . . .	85 cc.
Formaldéhyde . . . . .	15 cc.
Bromure d'ammonium . . . . .	2 gr.

2° Des coupes par congélation, dont l'épaisseur pourra osciller entre 15 et 25 microns, sont recueillies dans le même liquide fixateur.

3° Celles destinées à l'imprégnation subiront, pendant 4 ou 6 heures, dans une étuve à 30° ou 38°, ou pendant 8 ou 10 heures à la température du laboratoire, l'action du mordant suivant:

Formaldéhyde . . . . .	6 cc.
Bromure d'ammonium . . . . .	3 gr.
Eau . . . . .	50 cc.

4° En les sortant du mordant, on les lave pendant quelques secondes dans deux cristallisoirs contenant de l'eau distillée.

5° On les introduit ensuite dans une solution d'oxyde d'argent ammoniacal préparé d'après les méthodes de *Bielschowsky*, *Achúcarro* ou *Rio-Hortega*.<sup>2)</sup> Mais au lieu de la simple solution d'oxyde argentique nous nous servons du mélange suivant:

Eau distillée . . . . .	10 à 15 cc.
Bain d'oxyde d'argent ammoniacal	5 cc.
Piridine pure . . . . .	4 à 5 gouttes.

6° Le liquide contenant les coupes ayant été mis dans une capsule en porcelaine ou dans un cristallisoir, on chauffera à la lampe jusqu'à ce que celles-ci prennent une couleur de tabac. On veillera à ce que la chaleur ne soit pas excessive, et à cet effet, on tiendra la flamme un peu à distance de la capsule, et de temps

<sup>1)</sup> *Cajal*: Una modificación del método de *Bielschowsky*, etc. *Trab. del Lab.* Tomo XVIII (1920).

<sup>2)</sup> N'importe quelle formule d'oxyde d'argent ammoniacal peut servir. Ce réactif, comme on le sait, se conserve mal; c'est pourquoi nous ne le préparons qu'en petites quantités. A 10 cc. de nitrate d'argent à 10% nous ajoutons 12 gouttes d'une solution de soude caustique à 40%. Après avoir agité, nous lavons, comme d'habitude, six ou sept fois dans de l'eau distillée pour purifier l'oxyde, et enfin nous ajoutons l'ammoniac, en ayant soin d'éviter qu'il soit en excès. Pour nous rendre compte de ne nous être pas excédé dans l'addition de l'alcali, nous avons l'habitude de laisser comme témoin une faible quantité d'oxyde argentique non dissous. Avant d'ajouter l'ammoniac, nous diluons le mélange avec 60 ou 70 cc. d'eau distillée. Il faut conserver à l'obscurité le flacon contenant le réactif.

en temps on laissera celle-ci se refroidir, en l'écartant pour quelques secondes du foyer calorifique.

7° On procédera ensuite à un lavage rapide des coupes, les passant une à une dans un cristalliseur contenant de l'eau distillée. Cette opération, qui a pour but d'éliminer l'excès d'oxyde d'argent ammoniacal, ne devra pas se prolonger au-delà de 3 à 5 secondes.

8° Réduction dans du formol à 5% pendant 2 ou 3 minutes.

9° On peut déjà procéder au montage des coupes en vue de l'examen, celles-ci devant acquérir un ton marron obscur; mais l'imprégnation devient plus belle et plus transparente au moyen d'un virage dans une solution de chlorure d'or jaune à 1 pour 500. Ce virage est absolument nécessaire pour les grosses coupes dont l'opacité est excessive. Grâce au chlorure d'or, il se forme dans les régions superficielles une couche de chlorure d'argent facilement soluble, comme on sait, dans l'hyposulfite de soude ou la thiosinamine à 5% qui agiront pendant 5 minutes.

10° Lavage, déshydratation sur porte-objets avec du papier buvard ou de filtré et de l'alcool, éclaircissement dans du carbol-xylol, de l'essence d'orégan, etc., puis montage en baume ou damar.

Bien que la méthode précédente soit d'une constance absolue dans tous les centres nerveux des vertébrés, ainsi que nous l'avons démontré nous-même, *Castro*, *Manuela Serra*, *Ramon Vinos* et *Lorente de Nó*, etc., il peut se présenter des échecs surtout en ce qui concerne la coloration de la glia de la substance grise. Ces insuccès ou demi-succès doivent être attribués:

- a) A l'emploi de pièces peu fraîches.
- b) A l'usage de matériel qui ait été conservé plus de 10 jours dans le bain fixateur, cas dans lequel la glia fibreuse seule se colore d'ordinaire. (Remarquons que cette névroglie se teint bien même dans des pièces fixées pendant un an.)
- c) A la dilution excessive du bain d'oxyde d'argent.<sup>1)</sup>
- d) A l'extraction excessive du bromure d'ammonium contenu dans les coupes pendant le lavage qui précède l'immersion dans le bain d'argent.

La méthode dont nous traitons ne colore pas seulement la glia; elle fournit en outre de magnifiques colorations du *tissus connectif périvasculaire*, des *grumeaux de Nissl* (surtout quand le bain d'argent se trouve très dilué) et de toutes les variétés de *tissus réticulaire* et *conjunctif* des divers organes extra-cerveaux, sans en exclure les néoplasies où *Ramon Vinos* a obtenu des imprégnations qui n'ont pu être surpassées par aucune autre formule. Cette coloration du *tissu réticulaire* est absolument constante.

En diminuant la quantité de piridine ajoutée au bain (1 à 3 gouttes) on obtient aussi assez souvent la coloration des leucocytes ou *mésoglie* des centres nerveux (cellules interstitielles d'*Achúcarro*, microglia de *Rio-Hortega*). Cependant, par rapport à ces cellules de type amiboïde, la formule du carbonate ammoniacal de *Rio-Hortega* est plus constante.

III. Méthode de l'urano-formol. Cette méthode, imaginée spécialement pour la présentation de l'appareil réticulaire interne de Golgi, a été employée à cet effet par grand nombre d'auteurs espagnols et étrangers. Après avoir fait l'essai des modifications proposées par *Rio-Hortega* (acétate d'urane) et par *Da Fano* (nitrate de cobalt), nous avons acquis la conviction de ce que les meilleures préparations de l'appareil ci-devant mentionné s'obtiennent toujours avec le nitrate d'urane, et qu'il faut en attribuer les insuccès soit à l'excessive épaisseur des pièces, soit à des négligences dans la durée du fixage.

<sup>1)</sup> Quand le bain d'oxyde est vieux et riche en précipités, on peut faire abstraction de l'eau ajoutée au liquide colorant.

Mais notre intention n'est pas de nous arrêter ici aux résultats de la méthode dans l'imprégnation de l'appareil réticulaire, mais d'insister sur la propriété, quelque peu dédaignée par les névrologistes, que possède cette formule d'imprégner la *glia* protoplasmique et fibreuse, nous fournissant par conséquent une nouvelle ressource pour contrôler les résultats des méthodes classiques de coloration névrologique. Cependant, le principal avantage de ce procédé ne consiste pas dans la présentation de la morphologie de la *glia*, mais dans la propriété qu'elle a de colorer avec une constance absolue et d'une manière très intense deux facteurs constitutifs du protoplasme névrologique: les *gliosomes* et les *inclusions* de type lipéide. Du reste, le formol-urane imprègne aussi d'une façon constante, les inclusions (*lipochrome*?) de toutes les névrone.

La formule est trop connue pour que nous la reproduisons ici en détail. En voici le résumé:

1° Des morceaux de tissus nerveux frais, ne dépassant pas de 3 ou 4 millimètres d'épaisseur, se fixent, pendant 24 heures ou davantage (au mieux pendant 2 jours) dans le liquide suivant:

Nitrate d'urane . . . . .	1 gr.
Formol neutre . . . . .	15 gr.
Eau . . . . .	85 gr.

2° Après un lavage rapide, les pièces sont submergées dans le nitrate d'argent à 1,5% où elles devront séjourner pendant 2 ou plusieurs jours à la température ordinaire.

3° Après un rinçage de quelques secondes dans de l'eau distillée pour en éliminer le nitrate superficiel, on effectue la réduction dans le bain suivant:

Hydroquinone . . . . .	1 gr.
Formol . . . . .	10 cc.
Sulfite de soude (quantité minimale suffisante pour faire prendre au liquide un ton jaunâtre).	

4° Au bout de 24 heures, on les retire du réducteur, puis, après les avoir lavées, déshydratées, les pièces sont incluses en céloïdine.

Si au lieu de laisser les pièces pendant plus de 24 heures dans le fixateur, on ne les y laissait que de 10 à 12 heures, c'est le réticule de *Golgi* qui apparaîtrait au lieu de la névroglie.

Cette méthode est applicable à presque tous les vertébrés, et donne les meilleurs résultats chez les jeunes mammifères (chat, chien etc.).

Etant donné que la réaction pénètre peu à fond dans l'épaisseur des pièces, nous devons utiliser surtout les coupes superficielles. Quelquefois il arrive cependant que les *gliosomes* et les *inclusions* apparaissent jusque dans des zones relativement profondes, quoique le protoplasme névrologique n'ait point attiré le dépôt métallique.

Il est certain que ce défaut de pénétration de la réaction est un grave obstacle pour l'investigation systématique des pièces pathologiques. Cependant, quand il ne s'agit pas de l'étude sérieuse d'une lésion, mais d'observer les altérations soit de l'appareil de *Golgi*, soit des *gliosomes*, soit enfin des inclusions lipéides de quelques coupes, on obtiendra des résultats très satisfaisants qui pourront être complétés par l'analyse structurale et morphologique de la *glia* faite avec d'autres techniques. Une coloration du fond et des noyaux pourra s'obtenir avec les anilines basiques, surtout celles à nuance bleue ou violacée.

## Conclusions.

L'espace nous manque pour exposer minutieusement les dispositions histologiques mises en relief par les méthodes dont nous venons de



nous occuper. Nous nous bornerons à établir ici quelques propositions faciles à confirmer.

1° La névroglie de la substance grise est complètement différente de celle de la substance blanche; en réalité elle représente un type histologique spécifique. On en est persuadé par sa structure spongieuse, la présence de gliosomes intraprotoplasmiques, l'aspect dentelé des expansions jamais très longues, et l'existence dans le spongioplasme d'une matière spéciale qui se détruit ou dénature rapidement dans le formol, etc. Ces attributs font défaut dans la névroglie de la substance blanche.

2° Les expansions de toute sorte d'astrocytes névrogliaux se terminent librement. La théorie du réseau névroglial est une conception purement subjective, résultat de l'interprétation de préparations colorées par des méthodes insuffisantes.

3° Tout corpuscule glial possède un ou plusieurs pieds périvasculaires qui se résolvent en un pinceau de filaments appuyés sur la couche adventive.

4° Les centres nerveux renferment, outre la glia de la substance grise et celle de la substance blanche, ainsi que l'a indiqué *Achúcarro* et que *Rio-Hortega* et nous-même l'avons démontré par des méthodes différentes, un corpuscule amiboïde vraisemblablement de nature leucocytaire. Ce corpuscule, de très petite grosseur et à noyau ovale ou bilobulé ne possède que de rares expansions, manque de gliosomes et n'émet jamais de prolongements implantés dans les vaisseaux.

5° Quelques-uns de ces petits corpuscules, ainsi que les astrocytes de la substance grise, forment quelquefois des nids autour des névrone (cellules satellites microgliales de *Rio-Hortega* et cellules névrogliales pericellulaires.)

6° Il existe en outre, autour les névrone et singulièrement vers leur base, un élément spécial à noyau excessivement petit et sphérique, caractérisé par sa pauvreté protoplasmique son absence d'expansions, et son indifférence envers toutes les méthodes de coloration de la glia. Nous l'avons désigné, à défaut d'un autre mot plus expressif, sous le nom de *troisième élément*, qu'il ne faut point confondre ni avec la *microglie* ou *mésoglie*, ni avec les véritables cellules névrogliales. Ce corpuscule se rencontre parfois avec des caractères un peu différents, dans la substance blanche et dans certains endroits de la substance grise.

