



(Aus der internationalen Monatsschrift f. Anat. u. Phys. 1889. Bd. VI. Heft 4 u. 5.)

Sur l'origine et la direction des prolongations nerveuses de la couche moléculaire du cervelet

par

S. Ramón y Cajal,

Professeur d'Histologie à la Faculté de Médecine de Barcelone.

(Avec pl. XVIII et XIX.)

Comme l'a reconnu Kölliker¹⁾ il n'existe point de procédé qui permette d'observer plus nettement le parcours des expansions des cellules nerveuses que celui qui est désigné sous le nom de *coloration noire* de Golgi. Les cellules se teignent de noir de même que leurs expansions, ressortant avec une admirable netteté sur un fond jaunâtre.

Le seul désavantage de ce procédé est l'inconstance de ses résultats et le grand nombre d'essais qu'il faut réaliser pour obtenir des imprégnations complètes de diverses catégories d'éléments, surtout au point de vue de l'imprégnation du cylindre axon.

Pour surmonter ces difficultés et nous habituer à cette méthode de recherches, nous avons cru nécessaire de lui consacrer plus de deux années d'expériences et d'essais continus. Ce rude labeur nous a permis de confirmer en grand partie les brillantes découvertes de Golgi²⁾, Fusari³⁾ Tartuferi⁴⁾, Petrone⁵⁾, Magini⁶⁾ et en même temps de con-

¹⁾ Die Untersuchungen von Golgi über den feineren Bau des centralen Nervensystems. Anat. Anz. 1887. p. 481.

²⁾ Sulla fina Anatomia degli organi centrali del sistema nervoso. Milano. 1885.

³⁾ Untersuchungen über die feinere Anatomie des Gehirnes der Teleostier. Intern. Monatsschrift f. Anat. und Phys. 1887.

⁴⁾ Sull' anatomia della retina. Intern. Monatsschrift f. Anat. und Phys. 1887.

⁵⁾ Sur la structure des nerfs cérébro-rachidiens. Intern. Monatsschrift f. Anat. und Phys. 1888.

⁶⁾ Neuroglia e cellule nervose cerebrali nei feti. Atti del XII. Congresso medico. Pavia. 1888.

stater quelques faits nouveaux que déjà nous avons fait connaître en langue espagnole ¹⁾).

Dans la présent mémoire nous nous occuperons seulement de la disposition des fibres nerveuses de la couche moléculaire du cervelet, laissant à un autre travail l'étude de celles de la zone granuleuse.

Nous omettons la bibliographie qu'on trouvera, d'ailleurs, dans les ouvrages classiques de Hadlich, Obersteiner, Krause, Denissenko, Henle, Schwalbe, Golgi etc. Nous citerons seulement les opinions ayant un rapport direct avec le résultat de nos recherches à l'aide de la méthode de Golgi.

Nous devons faire remarquer d'avance que les faits que nous allons relater sont des plus faciles à vérifier en suivant la méthode de recherches que nous exposerons plus avant, et que nos figures loin d'exagérer la correction de l'image microscopique lui cèdent en clarté et en netteté.

Les fibres nerveuses (expansions de Deiters) de la couche moléculaire du cervelet sont de diverses espèces. Sous le point de vue de leur direction, on peut les classer en trois catégories: *longitudinales* ou parallèles à la direction des lamelles cérébelleuses, *transversales* ou perpendiculaires à cette direction, et *verticales* ou convergentes à l'axe de matière blanche ou conductrice.

1. *Fibres longitudinales.* Ces fibres se continuent avec le cylindre axe des grains ou des petites cellules de la couche granuleuse. Par cette raison nous dirons préalablement quelques mots de celles-ci.

Les grains sont, comme l'on sait bien, de petites cellules (de 0,005—0,007 mm) de figure sphérique ou polyédrique, munies d'un noyau relativement volumineux, et formant par leur association une zone serrée de couleur rougeâtre, appelée *couche des grains* ou *granuleuse*.

Nos connaissances sur les grains étaient très incomplètes avant la découverte de la méthode de Golgi; parce que les procédés usités (dissociation, coupes colorées au carmin) ne permettaient pas de mettre en lumière la nature de ces cellules.

Cependant Gerlach ²⁾ avait reconnu déjà les expansions des grains;

¹⁾ Sobre las fibras nerviosas de la capa molecular del cerebelo. Estructura de la retina de los aves. Revista trimestral de Histologia fasc. des mois Mai et Aout de 1888.

²⁾ Mikroskopische Studien. S. 9.

mais il se trompa en supposant qu'elles étaient anastomosées les unes avec les autres, formant un réseau compliqué. A cet avis se rattachèrent avec de légères modifications Rutkowsky, Schultze, Meynert. Henle ¹⁾, étudiant les grains à l'aide de la dissociation, les considérait comme des éléments nerveux fusiformes munis d'une prolongation nerveuse entourée de myéline. Denissenko ²⁾ nie sans motif suffisant les prolongements des grains (*Hämatocylinzellen*). Schwalbe ³⁾ accepte ou au moins incline à l'opinion de Henle. Golgi ⁴⁾ parlant de ces cellules qu'il a étudiées avec sa méthode de coloration noire, dit qu'elles sont des éléments nerveux possédant trois ou quatre prolongations protoplasmiques et une de nature nerveuse ou fonctionnelle. Les protoplasmiques se termineraient, suivant cet auteur, par un grumeau de matière granuleuse auquel concourraient les prolongements des cellules limitrophes, disposition un peu étrange et en contradiction avec tout ce que nous connaissons sur la manière de terminer des prolongements protoplasmiques des autres éléments nerveux.

Les fig. 1, 2 et 3 que nous avons rigoureusement reproduites d'après nature, prouvent que Golgi s'est trompé sur ce point, prenant pour une substance granuleuse une arborisation courte, formée de rameaux variqueux presque toujours bien isolés et distincts (comparez les grains de nos fig. 1, 2 et 3 avec ceux représentés par Golgi dans la planche X de son travail). Ces figures terminales des expansions des grains, rappellent celles des fibres nerveuses dans la plaque motrice des muscles striés. Le nombre des expansions varie entre 3 et 6. Leur direction est digergente en tous sens; néanmoins, celles des grains siégeant sur les limites de la substance blanche, rayonnent plus souvent vers la périphérie (fig. 1 g). Quelquefois, on voit l'arborisation se terminer par un anneau formé tout probablement par la superposition des bouts d'un arc de protoplasma. On peut aussi observer que certains de ces anneaux, plus ou moins complets, embrassent le corps d'un grain voisin.

Quant à la prolongation nerveuse, elle procède quelquefois du

¹⁾ Handbuch der Nervenlehre des Menschen. 2. Aufl. 1879. p. 265.

²⁾ Arch. f. mikros. Anat. Bd. XIV. Heft 2 u. 3.

³⁾ Lehrbuch der Neurologie. 1885.

⁴⁾ Loc. cit.

corps, mais plus communément d'un rameau protoplasmique et parfois de l'extrémité même de l'arborisation (Pl. XVIII. fig. 1 et 3*d*) constance singulière qu'on ne retrouve, que nous sachions du moins, que dans les grandes cellules bipolaires du lobe optique des oiseaux¹⁾. Une fois qu'il est né, le cylindre s'amincit, marche tortueusement au travers de la zone des grains, atteint la couche moléculaire, pénétrant par entre les cellules de Purkinje, et il se termine se bifurquant en forme de T, c'est à dire, donnant naissance à une fibrille dont la direction est perpendiculaire à celle du cylindre du grain et parallèle à celle de la lamelle ou circonvolution cérébelleuse. Nous désignerons ces fibrilles nouvelles, pour les distinguer du cylindre-axe et en raison de leur direction, *fibrilles longitudinales* ou *parallèles* (Voyez les fig. 1*e* et 3*e*).

Tout grain est représenté dans la zone moléculaire par une de ces fibres longitudinales, qui remplissent tous les interstices qui séparent les cellules de la couche moléculaire. Les cylindres des grains profondément placés ont leurs fibrilles longitudinales dans les étages plus basses de la couche mentionnée; tandis que ceux qui prennent naissance des corpuscules les plus élevés, se continuent avec les fibrilles les plus superficielles.

Le cours du cylindre-axe est toujours ascendant avec plus ou moins d'obliquités et d'inflexions dans la zone des grains; mais après qu'il a atteint la zone moléculaire, il s'élève d'une manière quasi droite et perpendiculaire au plan de la superficie cérébelleuse. Certaines fois nous avons remarqué que le cylindre, après d'aborder la couche des cellules de Purkinje, donne un autre petite branche, tantôt courte, tantôt se prolongeant dans le sens de la circonvolution cérébelleuse et présentant l'aspect d'une fibrille longitudinale ordinaire. Ce fait, d'ailleurs extrêmement rare en nos préparations, prouve que le nombre des fibres longitudinales peut être supérieur à celui des grains. (fig. 3*g*).

Les fibrilles longitudinales constituent un système de filaments très fins, variqueux, qui marchent parallèlement à la direction des lamelles cérébelleuses d'une façon régulière et absolument constante.

¹⁾ Structure du lobe optique des oiseaux. Revista trimest. de Histologia. No. 3. Nov. 1888.

Le diamètre de ces fils varie pour les mammifères entre 0,0002—0,0005 mm. Dans les oiseaux il nous a paru plus exigu. Toutefois l'épaisseur est un peu distincte pour quelques fibres longitudinales d'une même préparation. Leur marche est toujours rectiligne malgré quelques légères inflexions dues, vraisemblablement à la forme des expansions des prolongations protoplasmiques des éléments de Purkinje entre lesquelles se trouvent. Jamais elles ne se ramifient, ni changent de plan ou de situation, et après un parcours variable (de 0,2 à 0,8 mm) se terminent par des extrémités libres, ni gonflées ni arborisées.

Il est certain qu'on ne peut affirmer que ces extrémités soient la fin des fibrilles; il peut se faire qu'elles pourraient se prolonger plus en avant et que la réaction noire fût impuissante pour les révéler. En outre, l'extension dans laquelle on peut suivre les fibres longitudinales varie beaucoup suivant l'épaisseur des coupes et le degré de perfection de l'imprégnation.

Il arrive quelquefois que la fibrille *parallèle* ou longitudinale reçoit l'insertion d'une fibre verticale non en son trajet, mais à l'une de ses extrémités, formant un coude dont le côté vertical se prolonge souvent jusqu'au près de la couche de substance blanche. Il ne nous a pas été possible d'identifier ce filament avec les cylindres-axes des grains; car nous n'avons pas eu occasion de le voir se terminer dans ceux-ci, bien que certaines fois nous ayons pu le suivre jusqu'au près de la substance blanche (fig. 3*h*). Ce filament descendant représente-t-il la terminaison de la fibrille longitudinale qui par ce moyen se continuerait avec les tubes de la substance blanche? C'est là ce que nous ignorons. Ce que nous pouvons affirmer c'est que l'extension des fibrilles longitudinales doit être limitée; parce que leur nombre, au lieu d'augmenter du centre aux extrémités de chaque circonvolution du cervelet, semble diminuer proportionnellement à l'amincissement de la couche granuleuse, ce que n'aurait par lieu si ces fibres se prolongèrent indéfiniment jusqu'à rencontrer la substance blanche.

Le système de fibres longitudinales remplit tout l'épaisseur de la couche moléculaire du cervelet depuis la surface libre jusqu'aux grains entre les cellules de Purkinje. Sur les préparations dont l'imprégnation est complète, il semblerait que ces fibres constituent à elles seules l'élément unique de la zone moléculaire, tant elles sont abon-

dantes et serrées (voyez fig. 3f). Leur orientation parallèle aux lamelles cérébelleuses est si régulière et si constante que par la façon comme elles se montrent dans les préparations, on peut affirmer à coup sur de la direction des coupes. Les sections perpendiculaires aux lamelles montrent les fibres sous la forme d'un pointillé fin et épais (Voyer la fig. 1e); au contraire, les coupes longitudinales les présentent dans leur longueur et dans tous leurs détails (fig. 3e).

La description que nous venons de faire des cylindres-axes des grains diffère complètement de celle faite par Golgi. Suivant cet histologue ces cylindres se présentent de plusieurs manières; „certaines fois ils descendent verticalement pour remonter et former un arc de longueur variée, émettant dans leur trajet des filaments latéraux au dedans de la zone granuleuse; d'autres fois ils marchent horizontalement, donnant insertion à de nombreuses fibrilles ramifiées qui descendent verticalement au travers de la couche des grains.“ . . Et plus loin il ajoute: „l'extrême finesse de cette prolongation nerveuse rend difficile l'étude de sa marche; mais une fois j'ai pu la voir se continuant avec les fibres nerveuses qui traversent la zone granuleuse (celles qui proviennent de la substance blanche?)“

Nous croyons que Golgi n'a pas vu le véritable cylindre-axe des grains, et il s'est trompé, prenant pour prolongation nerveuse, un rameau protoplasmique, ou quelque fibrille de celles que croissent la zone des grains provenant des grandes cellules nerveuses qui siègent entre ceux-ci. En outre, nous pensons que les préparations de Golgi ne sont pas sur ce point suffisamment correctes; car malgré la description qu'il en donne dans son remarquable mémoire, les cylindres-axes dessinés par lui (pl. X.) sont très courts, ils naissent exclusivement du corps cellulaire (nous avons vu que cela est exceptionnel, sortant ordinairement d'un rameau protoplasmique) et ils ne montrent pas ni un cours ascendant, ni des ramifications dans leur trajet. Nous ferons observer plus loin que ces erreurs tiennent à la méthode employée. Il n'y a qu'un procédé de durcissement capable de produire de bons résultats, (fixation par trois jours dans la mélange osmio-bichromique, puis nitrate d'argent) et nous croyons que Golgi, inventeur du procédé n'a pas cru utile l'essayer, dans ce cas particulier.

2. *Fibres transversales.* Ces fibres ont été vues et dessinées en

partie par quelques auteurs, tels que Denissenko¹⁾, Meynert-Huguenin²⁾, Bellonci³⁾, Schwalbe⁴⁾; mais leur véritable nature et origine seulement Golgi et Fusari⁵⁾ ont réussi à les démontrer à l'aide de la méthode de coloration noire. Ces fibres sont tout simplement les cylindres-axes des petites cellules nerveuses de la couche moléculaire. A la description précise que ces derniers savants ont fait de ces fibres nous ajouterons quelques détails.

En premier lieu, l'orientation de ces cylindres-axes est transversale ou perpendiculaire à la direction de la lamelle cérébelleuse, de sorte qu'ils se croisent à angle droit ou presque droit avec les fibres parallèles (Voyer la fig. 4b). Par suite de cette direction les coupes transversales des circonvolutions du cervelet montrent ces fibres dans leur longueur, (fig. 5b) et on les peut suivre dans leur parcours jusqu'à de grandes distances; tandis que les coupes longitudinales aux lamelles les présentent sectionnées en travers. C'est précisément le contraire des fibrilles longitudinales. Quand les deux classes de fibres (longitudinales et transversales) se trouvent imprégnées, une coupe tangente aux circonvolutions les révèle clairement, formant une toile véritable, dont les fils plus gros (fibres transversales) croisent perpendiculairement aux plus fins (fibrilles longitudinales). La fig. 4 qui représente la coupe tangentielle d'une circonvolution du chat montre nettement cette disposition, laquelle est si constante que nous n'avons trouvé en plusieurs centaines de coupes une seule exception. Elle se présente, d'ailleurs, chez les oiseaux également que chez les mammifères et il faut l'estimer comme une loi structurelle invariable. Nous verrons bientôt qu'elle décide de la position et orientation de tous les éléments de la couche moléculaire du cervelet.

Signalons maintenant l'aspect distinct de ces deux sortes de fibres: Les longitudinales sont fines, rectilignes et variqueuses, changent à

¹⁾ Zur Frage über den Bau der Kleinhirnrinde bei verschiedenen Klassen von Wirbeltieren. Arch. f. mikroskopische Anat. Bd. 14. Hft. 2. 1877. p. 234.

²⁾ Anatomie des centres nerveux. 1879. p. 355.

³⁾ Contribuzione all'istologia del cervelletto. Atti dell'Accademia di Ferrara. Sed. 6 Mar. 1883.

⁴⁾ Lehrbuch der Neurologie. 1883.

⁵⁾ Sull'origine delle fibre nervose nello strato moleculare delle circonvoluzione cerebellari dell'uomo. Atti della R. Acc. delle Scienze di Torino. Vol. XIX. 1886.

peine de plan dans tout leur cours; alors que les transversales, beaucoup plus robustes et plus tortueuses, s'adoptent à la convexité générale des circonvolutions, varient souvent de plan, et offrent nombreuses ramifications très déliées, moniliformes et terminées ordinairement par un épaississement. Ces rameaux secondaires sortent presque toujours perpendiculairement; mais bientôt perdent leur orientation pour se décomposer à leur tour en quelques ramuscules (fig. 4 e). Jamais nous n'avons pu surprendre une anastomose entre les fibres transversales et les longitudinales; elles se touchent et s'entrelacent, mais conservant toujours leur indépendance.

L'orientation des fibres longitudinales et transversales fait que les cellules de la couche moléculaire, gardent une position et une direction spéciale et constante. Ainsi l'arborisation protoplasmique des éléments de Purkinje est aplatie, verticale, et le plan qui constitue est orienté dans le même sens que les fibres transversales (Voyez la fig. 1 a, la fig. 3 a et la fig. 4 a), c'est-à-dire perpendiculairement à la direction des circonvolutions du cervelet. Par cette raison, les coupes transversales montrent les cellules de Purkinje de front (fig. 1 a), et les longitudinales de profil (fig. 3 a). D'ailleurs, cette particularité si intéressante apparaît déjà mentionnée par Henle¹⁾ malgré l'imperfection des méthodes qu'il employa. Tout récemment elle a été figurée très exactement par Obersteiner²⁾ qui l'a observée sur des préparations de cervelet imprégnées au bichlorure de mercure (seconde méthode de Golgi). Nous avons confirmé plusieurs fois une telle disposition dans le cervelet des oiseaux et des mammifères l'étudiant surtout à l'aide des coupes tangentielles.

Quant aux cellules petites de la même couche, elles sont allongées et ont le plan de leur arborisation orienté dans le même sens que leurs cylindres-axes, c'est-à-dire perpendiculairement à la longueur des circonvolutions. Comparez les mêmes cellules des fig. 4 et 5.

3. *Fibres verticales.* Dans cette catégorie on peut d'abord classer les cylindres-axes des grains, depuis leur entrée dans la couche moléculaire jusqu'à leur insertion dans les fibrilles longitudinales. Mais de plus il faut ajouter à cette catégorie les fibres collatérales ascendantes

et descendantes des cylindres-axes des petites cellules de la couche moléculaire.

Les *rameaux ascendants* de ces cylindres ou fibres transversales sont très fins, variqueux; ils se ramifient dans leur trajet, et leurs derniers ramuscules arrivent souvent jusqu'àuprès de la surface du cervelet. Jamais s'anastomosent ces filaments entr'eux ou avec les autres fibres nerveuses (fig. 9 b y 5 f).

Les *rameaux descendants* sont plus grosses et nombreux que les ascendants et ils ont une direction plus constante. Ils sortent, le plus souvent, de certains angles ou inflexions que les fibres transversales présentent dans leur cours (fig. 9 et 5 c), descendent presque verticalement en grossissant, et se terminent en une touffe ou panache de ramuscules courts, épaisses, variqueux, placés autour et en dessous du corps des cellules de Purkinje auxquelles ils sont intimement appliqués (Voyez les fig. 5 e et d, fig. 6 c, fig. 7 b, fig. 8 b, fig. 9 d et e). Ces rameaux, que nous appellerons *houppes* ou *franges* des fibres transversales, sont absolument constantes tant chez les mammifères que chez les oiseaux, et quand l'imprégnation est parfaite, ils forment par leur association une rangée de pinceaux très serrés et très caractéristiques (fig. 5 et fig. 7 b). Nous avons étudié ces rameaux sur plusieurs préparations provenant de l'homme, le chat, le chien, le cobaye, le lapin, la poule, le moineau, avec le plus grand soin, et jamais nous avons vu aucun d'eux traverser la zone des grains et se continuer avec les tubes de la substance blanche. C'est pourquoi, malgré l'opinion très autorisée de Golgi, nous nions toute communication entre les cellules petites de la couche moléculaire et les fibres nerveuses, et nous inclinons à penser que ces pinceaux sont les véritables terminaisons des branches descendantes.

Quant à l'extrémité de la fibre transversale ou cylindre-axe des petites cellules de la couche moléculaire, elle se courbe toujours à une distance variable de son origine et se termine par un houppe plus grand que les autres (fig. 6 e).

Le vertex des pinceaux est formé toujours de filaments granuleux très fins, lesquels se colorent en café clair ou brique. Un pinceau se constitue par l'association de plusieurs branches descendantes ramifiées et provenant de diverses fibres transversales. Il est impossible de

¹⁾ Handbuch der Nervenlehre des Menschen. 2. Aufl. 1879. p. 265.

²⁾ Anleitung zum Studium des Baues der nervösen Central-Organen. 1888. p. 325.

dire s'il existe d'anastomoses entre cette multitude de ramifications qui forment le pinceau.

A la précédente description ajoutons un détail que de récentes études nous ont permis de constater. Le vertex ou pointe du pinceau entoure et se prolonge sur l'expansion nerveuse des cellules de Purkinje (fig. 7a et fig. 8d, f). Lorsque ces cylindres-axes ont une direction diagonale, les pinceaux le suivent s'inclinant dans la même direction. (fig. 8f). Ainsi quand les pinceaux sont coupés de travers, apparaissant sous la forme d'une demi-lune ou d'un anneau granuleux (fig. 8e) pericellulaire, on ne peut voir la prolongation nerveuse des éléments de Purkinje.

Cette intéressante connexion entre la pointe des pinceaux et les expansions nerveuses des éléments de Purkinje se reconnaît très nettement dans les coupes du cervelet des oiseaux traité par l'acide osmique ou par le mélange de Boveri. On y voit les pinceaux sous la forme d'une matière fibreuse, granuleuse, légèrement colorée en brun par l'osmie, laquelle se prolonge en cône en dessous des cellules de Purkinje (fig. 8b, d). En outre, la fibre nerveuse, qui perd la myéline précisément dans la pointe du pinceau, traverse ce dernier suivant son axe sous la forme d'un filament pâle. Une semblable disposition mais moins apparente à cause de la complication des fibres nerveuses et de la petitesse des pinceaux l'on observe aussi chez les mammifères.

Il est impossible de ne pas accorder certaine importance physiologique à cette rapport si intéressante entre le corps et le prolongement nerveux des cellules de Purkinje, d'une part, et les pinceaux des fibres transversales, d'une autre. Peut être il s'agit là d'un mode de connexion médiate ou par contact par laquelle pourrait se transmettre l'action nerveuse depuis les petites cellules de la couche moléculaire jusqu'aux éléments de Purkinje. Cette opinion semble d'autant plus probable qu'il est impossible, de reconnaître entre ces deux espèces de cellules ainsi que entre la première et les fibres de la substance blanche la moindre trace d'anastomosés directes ou indirectes.

Les fibres transversales les plus supérieures manquent souvent de rameaux descendants, et quand ces derniers se présentent ils sont très grêles et n'atteignent pas les corps des éléments de Purkinje, ni ne forment des houppes caractéristiques. Au moins, s'ils existent le

procédé de Golgi est impuissant à les imprégner. On peut en dire de même de l'extrémité de la fibre transversale: on la voit descendre se ramifiant, mais on ne parvient jamais à la suivre que sur une petite étendue (Fig. 5b).

Pour terminer, nous mentionnerons aussi l'existence de certaines fibres ascendantes plus ou moins obliques qui contribuent à compliquer l'embrouillement de la zone moléculaire. Elles proviennent de la zone granuleuse, pénètrent obliquement dans la moléculaire, suivent un trajet quasi vertical et, à un niveau variable, finissent par une arborisation variqueuse, divergente, ayant la forme d'une étoile irrégulière (Voy. les fig. 1f et 10). Ce que ces étoiles présentent de plus notable c'est qu'en plusieurs points elles apparaissent formées par deux fibres: une grosse continuée avec la tige; l'autre plus fine et faiblement imprégnée. L'origine de cette seconde fibre, qui parfois s'adosse parfaitement à la première et se ramifie avec elle, n'avons pu la démontrer; quelquefois (surtout chez les oiseaux où les étoiles se présentent très abondantes et moins compliquées que chez les mammifères), nous avons cru reconnaître qu'elle naît de la même tige principale ou de l'une de ses grosses branches.

L'origine de la tige est très incertain. Quelquefois nous avons pu la suivre jusqu'auprès de la substance blanche, circonstance par laquelle nous inclinons à considérer ces figures étoilées comme des appareils terminaux de certaines fibres nerveuses. Néanmoins il faut entreprendre de nouvelles recherches pour déterminer la vraie nature de ces appareils.

5. *Fibres de myéline.* Ces fibres ont été décrites par plusieurs auteurs, notamment par Henle¹⁾ qui les a reconnues à l'aide de la potasse. On peut aussi les mettre en évidence par la méthode de Exner, par celle de l'or de Freud, et surtout par celle de Weigert modifiée par Pal²⁾. Le trajet de ces fibres est très long, car elles partent de la substance blanche, passent entre les groupes de grains, forment un plexus très-serré en dessous des éléments de Purkinje, et finalement elles atteignent la partie plus basse de la couche moléculaire où elles changent de direction, devenant longitudinales ou

¹⁾ Handbuch der Nervenlehre des Menschen. Zweite Aufl. 1879.

²⁾ Neurol. Centralblatt. VI. 3. 1887. (citée et recommandée par Freud.)

parallèles à la longueur des circonvolutions cérébelleuses. On voit souvent, au niveau de la terminaison de la myéline, se continuer ces fibres avec un filament mince et très pâle dirigé vers le haut, et dont le cours ultérieur devient imperceptible.

Etudiant avec soin les fibres médullaires précitées on acquiert la conviction qu'elles n'appartiennent à aucune des trois catégories de fibres longitudinales, transversales et verticales ci avant mentionnées. Elles ne peuvent s'assimiler aux longitudinales parce qu'elles sont très grosses et se trouvent seulement dans la partie inférieure de la couche moléculaire, manquant de la division en T caractéristique des filaments nerveux du grains. Il est également impossible de les identifier avec les fibres transversales (bien que certains auteurs les confondent), parce qu'elles n'offrent ni le cours perpendiculaire aux circonvolutions, ni la disposition en arc, ni l'extrême abondance des cylindres-axes des petites cellules de la couche moléculaire. Nous inclinons à considérer ces fibres comme la portion recouverte de myéline de la tige des figures étoilées que nous venons de décrire; car à part le cours de ces tiges qui se ressemble beaucoup avec celui des fibres à myéline, elles sont les seules expansions nerveuses grosses venant de la substance blanche dont le procédé de Golgi permet de suivre le trajet jusqu'à la partie inférieure de la couche moléculaire. Cette interprétation n'est pas du reste, qu'une hypothèse qu'il mérite d'être confirmé par des recherches ultérieures.

Conclusions.

Les propositions suivantes résument les résultats de nos recherches:

1. Les fibres nerveuses (expansions nerveuses des cellules) de la couche moléculaire du cervelet, tant des mammifères que des oiseaux, sont indépendantes, non anastomosées et se distinguent par leur direction en trois classes: *longitudinales, transversales et verticales*. Les longitudinales sont représentées par le rameau terminal des cylindres-axes des grains; les transversales par les prolongements nerveux des petites cellules de la couche moléculaire, et les verticales par le cylindre-axe ascendant des grains et les fibres ascendantes et descendantes des transversales.

2. Au milieu de ce plexus de fils, et soutenues par eux, se trouvent les cellules de Purkinje, dont le plan d'arborisation protoplasmique est parallèle aux fibres transversales. Au même sens sont orientées les ramifications protoplasmiques des petites cellules de la couche moléculaire.

3. Les rameaux descendantes des fibres transversales après s'être grossies et ramifiées, se terminent par une arborisation ou houppe de fils courts, s'appliquant intimement aux corps des cellules de Purkinje; et se prolongeant en pointe de pinceau autour des expansions nerveuses de celles-ci. Cette disposition se trouve très-exagérée dans le cervelet des oiseaux (moineau par exemple) où on la peut reconnaître jusque dans les préparations obtenues par les procédés courantes (fixation et coloration à l'acide osmique, ou avec le liquide de Boveri etc.)

Indications techniques. La démonstration des fibres parallèles et des grains ne peut avoir bien convenablement que par une des méthodes d'induration indiquées par Golgi. Voici notre mode de procéder. Nous faisons, d'abord, macérer, durant trois jours, de petits fragments de cervelet frais dans un mélange d'une partie d'acide osmique à 1 pour 100, et 4 de bichromate de potasse à 3 pour 100; ensuite nous submergeons les pièces (qui doivent avoir une couleur très-foncée et une grande dureté) pendant 30 heures dans une solution de nitrate d'argent à 0,75 pour 100. Nous plaçons les pièces dans l'alcool à 40° pendant une heure, et nous exécutons les coupes à la main. Ces coupes sont lavées à l'alcool de 40° durant autre heure, clarifiées rapidement dans l'essence pure de girofles et déposées dans l'essence de térébenthine. Après y avoir séjourné quelques minutes, nous les montons sur un couvre-objet avec de la résine de Damar, mastic ou colophane dissoutes en benzine. Les couvre-objets se montent au découvert sur cartons ou bois perforés suivant les conseils de Golgi; mais nous trouvons plus simple d'employer les porte-objets ordinaires en verre perforés dans leur centre. Sur le contour de ce trou qui est rond nous plaçons la lamelle couvre-objet, le côté préparé en bas, et nous la fixons à l'aide de la tournette avec un enduit convenable.

Les coupes plus démonstratives sont les longitudinales. C'est seulement dans les couches superficielles, très-bien fixées des pièces, que les grains et leurs prolongements nerveux se montrent imprégnés. Lorsque

l'imprégnation est parfaite, il n'y a d'autres éléments visibles que les grains et leurs expansions, ce qui donne à la préparation la netteté d'un schème. Quelquefois, se noircissent aussi les petites cellules de la couche moléculaire, ainsi que leurs compliquées fibres nerveuses et pinceaux. Les plus belles préparations s'obtiennent dans le cervelet du cobaye, rat, chauve-souris et lapin; parce que les grains y sont un peu plus volumineux que sur les mammifères de grand taille. On peut aussi réussir très bien chez les oiseaux (canard, poule, moineau).

Les cylindres axes des grains se teignent de couleur brun-jaune ou café, et ils exigent pour les suivre avec facilité l'emploi d'objectifs un peu puissants (E de Zeiss par exemple).

Les animaux très jeunes, même nouveau-nés, conviennent spécialement pour l'étude des fibres des grains. En général, plus jeune est l'animal, plus rapidement se fait l'induration préliminaire. Ainsi nous avons obtenu de superbes préparations du cerveau, lobe optique, et moelle d'un fœtus de poule (14 jours d'incubation) en soumettant les pièces fraîches seulement à une durcissement de 24 heures¹⁾.

Il est extrêmement important pour le succès de l'opération de l'induration rapide, que les pièces de tissu nerveux soient très-fraîches et que la quantité du liquide osmio-bichromique soit en rapport avec le volume des pièces. Nous obtenons les meilleurs résultats plongeant dans 15 ou 25 ccm. de cette mélange deux ou trois pièces de 3 à 4 mm de côté.

Pour la démonstration des petites cellules de la couche moléculaire, ainsi que de leurs fibres transversales il faut employer la méthode mixte ou demi-lente de Golgi. On sait bien que cette méthode consiste en soumettre d'abord les pièces, pendant 5 ou plus jours à l'action du liquide de Müller, et ensuite à celle du mélange osmique-bichromique citée (durant 3 ou 5 jours). Les autres opérations sont les mêmes que dans la méthode rapide.

Nous conseillons à celui qui voudra réussir rapidement dans la préparation des fibres transversales, pinceaux et cellules petites de la

¹⁾ Nous publierons tout de suite dans notre Revue d'Histologie les résultats obtenus sur la structure du tissu nerveux embryonnaire par l'application de cette méthode rapide d'induration. Ces résultats confirment ceux publiés par Magini et mettent en lumière quelques faits de structure qui nous semblent nouveaux.

couche moléculaire, l'élection du cervelet des oiseaux, surtout ceux de petite taille (moineau, verdier). Après ce premier étude, il abordera mieux celui des fibres transversales des mammifères. Ce même procédé démontre le mieux les cellules de Purkinje et leur cylindre-axe.

Les méthodes ordinaires d'analyse (durcissement au bichromate et coloration au carmin ou par le procédé de Weigert, induration et coloration par l'acide osmique seul etc.) donnent des résultats peu démonstratifs. Il est impossible de découvrir avec ces moyens la moindre trace des fibrilles longitudinales ou des expansions protoplasmiques des grains. Néanmoins, les images des préparations durcies par l'acide osmique ou le liquide de Boveri confirment et même complètent en quelques points les enseignements de la méthode de Golgi. Ainsi le liquide de Boveri (macération des pièces durant 24 heures) teint avec une certaine intensité et d'une couleur café foncé les fibres longitudinales et les pinceaux des fibrilles verticales. Cette couleur ne se trouve pas sur l'arborisation protoplasmique des cellules de Purkinje laquelle ressort très-nettement sur le fond obscur des fibrilles longitudinales. La fig. 8 montre une coupe du cervelet du moineau dans laquelle l'acide osmique a imprégné légèrement les pinceaux et surtout la fibre médullaire qui sort des pointes. Il est très facile dans ces préparations de suivre cette prolongation nerveuse depuis le vertex des pinceaux jusqu'à l'épaisseur de la substance blanche. Chez les mammifères il est très difficile démontrer cette connexion.

Les fibres de myéline qui parcourent le plan inférieur de la couche moléculaire se démontrent très-bien dans le cervelet des mammifères traité par le procédé de coloration de Weigert. Tout récemment nous avons essayé avec les meilleurs résultats la méthode de Weigert modifiée par Pal, qui permet d'obtenir outre la coloration noire de la myéline, l'imprégnation ordinaire au carmin.

Explication des planches XVIII et XIX.

Planche XVIII.

Fig. 1. Coupe transversale d'une circonvolution du cervelet du cobaye. Imprégnation noire de Golgi. Induration rapide. Ob. C. Zeiss.

A couche moléculaire; *B* couche des grains; *C* couche de substance blanche; *a* corps d'une cellule de Purkinje; *b* grain; *c* arborisation protoplasmique du grain; *d* cylindre axe du grain; *e* pointillé correspondant à la coupe transversale des fibres longitudinales; *f* fibre spéciale terminée dans la couche moléculaire par une arborisation divergente; *g* grain placé sur la substance blanche.

Fig. 2. Deux grains du cervelet du cobaye plus amplifiés. On y voit une arborisation protoplasmique s'appliquer sur le corps d'un grain voisin.

Fig. 3. Coupe longitudinale d'une circonvolution du cervelet du cobaye.

A couche moléculaire; *B* couche des grains; *C* couche de substance blanche; *a* cellule de Purkinje vue de profil; *b* grain; *c* arborisation protoplasmique; *d* cylindre axe; *e* insertion d'un cylindre-axe sur une fibrille longitudinale; *f* fibrilles longitudinales telles comme elles apparaissent quand l'imprégnation est complète; *g* petite branche qui quelquefois donne la partie inférieure du cylindre du grain.

Fig. 4. Coupe tangentielle d'une circonvolution cérébelleuse du chat. Dans cette préparation se montraient imprégnées les fibrilles longitudinales, les petites cellules de la couche moléculaire et les fibres transversales.

a coupe ou section optique de l'arborisation protoplasmique des éléments de Purkinje; *b* une fibre transversale; *c* petite cellule de la couche moléculaire dont l'arborisation se présente de profil; *d* fibrilles longitudinales; *e* branches latérales des fibres transversales.

Fig. 5. Coupe transversale d'une circonvolution du cervelet du chat. On y a dessiné seulement quelques fibres transversales et leurs rameaux descendantes.

a cellule petite placée dans la partie supérieure de la couche moléculaire; *b* cylindres-axes ou fibres transversales; *c* rameaux descendants de ces fibres; *d* réunion des franges en pinceaux; *e* vide ou nid occupé par le corps d'une cellule de Purkinje.

Planche XIX.

Fig. 6. Deux petites cellules de la couche moléculaire du cervelet du moineau avec leurs expansions nerveuses.

a cellule; *b* fibres transversales; *c* association des houppes en pinceau; *d* rameaux fines et variqueux de la pointe du pinceau.

Fig. 7. Deux cellules de Purkinje du cervelet du moineau entourées par les pinceaux.

a prolongement nerveux de la cellule; *b* pinceau; *c* branches descendantes des fibres transversales.

Note: Cette figure est destinée à démontrer l'abondance des fibrilles des pinceaux sur les imprégnations complètes.

Fig. 8. Coupe transversale d'une circonvolution cérébelleuse du moineau. Acide osmique pendant 24 heures. Inclusion à la paraffine et coupes au microtome.

a corps des cellules de Purkinje; *b* pinceau visible sous la forme d'une masse brune et striée au long; *c* prolongement nerveux entouré de myéline; *d* point où disparaît la myéline pénétrant la fibre pâle dans l'intérieur du pinceau; *e* pinceau oblique coupé quasi transversalement; *f* un autre pinceau s'inclinant pour recevoir la prolongation nerveuse.

Fig. 9. Morceau d'une fibre transversale du cervelet du chat qui montre les détails des franges ou houppes des branches descendantes.

a cylindre-axe; *b* rameau variqueux ascendant; *c* rameau descendant; *d* houppe; *e* ramuscules granuleux et pâles formant la pointe de la frange.

Fig. 10. Fibre spéciale sortant des immédiateurs de la substance blanche et se terminant dans la couche moléculaire par une arborisation étoilée à double fil.

a tige marchant au travers les grains; *b* filament qui accompagne le rameau principale; *c* rameaux variqueux terminaux.



