

EDITORIAL

HOMMAGE A GOLGI, UN "EXTRAORDINARIUS" EN HISTOLOGIE OU COMMENT GOLGI DEVINT « LE GOLGI »

Anna BENCSIK et Nathalie ACCART

Qui dans le domaine de l'Histologie n'a jamais entendu parler de Golgi ?

La première idée qui me vient à l'esprit est **l'appareil de Golgi**. Cette organelle des cellules eucaryotes est une accumulation de citernes (dictyosomes) alternées de canalicules. La plupart des molécules intracellulaires transitent par cet appareil de Golgi, en charge de la synthèse des glycoprotéines et des sphingolipides. Cet organe intracellulaire est orienté avec un côté *cis* pour l'entrée de substances par les vésicules arrivant du réticulum endoplasmique, et une face *trans* pour le relargage de vésicules de sécrétion ou exocytose de molécules produites dans les saccules du Golgi. Il est responsable de modifier les protéines par sulfatation ou glycosylation. Cet appareil peut être mis en évidence histologiquement par le tétr oxyde d'osmium qui colore les saccules *cis*, la dinucléoside diphosphatase qui colore les saccules *trans* et la phosphatase acide qui permet la mise en évidence du réseau transgolgien. Mais sa mise en évidence originelle date de 1898, lorsque Camillo Golgi, par l'utilisation d'une variante de son protocole d'imprégnation argentique dans lequel il diminue le temps de coloration, met en évidence cet appareil réticulaire intracellulaire, que l'on connaît depuis sous le nom d'appareil de Golgi [1]. Longtemps l'existence de cet appareil de Golgi a été contesté, les scientifiques penchant plus vers la description d'artéfacts, et ce n'est qu'avec le développement de la microscopie électronique dans les années 50, que la polémique put définitivement être balayée.

Derrière ce nom de Golgi, se trouve un homme, Camillo Golgi, né en 1843 à Corteno en Lombardie et mort en 1926 à Pavie. C'est son contact avec le célèbre psychiatre Cesare Lombroso, père de l'anthropologie criminelle, qui le mène à s'intéresser aux maladies neuropsychiatriques et au cerveau. Ses différentes rencontres tout au long de sa vie de chercheur et l'avènement du microscope (L'Annuel Illustré de Microscopie. 1^{ère} édition – 1898) mène ce médecin pathologiste à un poste de professeur d'histologie à l'Université de Pavie dès 1875. Il publiera des études histologiques visant à prouver la théorie neuroanatomique du tissu nerveux. Il est considéré comme le pilier des neurosciences modernes, fondées sur la neurohistologie et la neuroanatomie.



Golgi, grâce à sa coloration qu'il appelle "*reazione nera*" (réaction noire) décrite dans sa publication originale de 1873 dans la *Gazzeta Medica*¹ – à base d'une imprégnation au nitrate d'argent, révolutionne l'étude du système nerveux. A ce titre il fut le précurseur de la notion de cellules au sein du système nerveux. En effet avant ses travaux, il n'existait qu'une théorie réticulaire pour expliquer l'organisation du système nerveux, considéré comme un syncytium, présentant un réseau de ramifications protoplasmiques donnant entre autres les fibres nerveuses et auquel Golgi a d'ailleurs adhéré.

La première théorie sur la cellule fut donnée par Matthias Jakob Schleiden et Theodor Schwann en 1838-1839, puis poursuivie par Robert Remak et Rudolf Virchow les années suivantes ; mais dans un premier temps, cette théorie ne fut

pas clairement appliquée au système nerveux. Seul le concept de glie fut introduit par Virchow en 1858 et le terme astrocyte n'apparut qu'en 1893, avec les observations de Michael von Lehossek. Le concept de cellule nerveuse comme unité structurelle de base du système nerveux apparaît en 1891, grâce à la découverte des cellules de Golgi, postulat formulé par Wilhelm von Waldeyer-Hartz (1836-1921). De façon majeure, c'est en affinant la technique de coloration argentique mise au point par Golgi que Santiago Ramón y Cajal (1852-1934), médecin et neuroscientifique espagnol, contribua de façon décisive à la théorie neuronale, établie en 1888, en opposition avec la théorie réticulaire, soutenue par Golgi. Ramón y Cajal montra en effet que les neurones étaient des entités cellulaires séparées par de fins espaces, les synapses, et n'étaient pas un ensemble de fibres d'un réseau ininterrompu. Puis en 1901, Jan Evangelista Purkinje donna la description des prolongements dendritiques des neurones, et la description des neurones GABAergiques du cortex cérébelleux qui portent depuis son nom.

LA TEINTURE DE GOLGI

L'imprégnation métallique de Golgi est basée sur la réaction du nitrate d'argent avec le dichromate de potassium qui sert à la fixation des blocs de tissu nerveux, et qui induit une précipitation préférentielle des sels métalliques au niveau de certaines structures, pour des raisons encore récemment mal connues. Cependant une étude a montré que des coupes de cerveau de rat fixés en paraformaldéhyde, incubées dans des solutions de dichromate, phosphate, chlorure ou nitrate de potassium à pH 6 ou 7, puis immergées dans des solutions de nitrate d'argent, donnent des résultats variables. A pH 6, les solutions de dichromate donnent bien une imprégnation typique, dense et homogène du cytoplasme neuronal. Les autres solutions aux deux pH 6 ou 7 résultent en une imprégnation atypique, confirmant la dépendance de l'imprégnation au pH ainsi qu'à la présence d'anions, et suggèrent que les anions monovalents hydrogénés sont les garants de l'imprégnation sélective des neurones [2]. Cet outil révolutionnaire a permis l'avancement du travail d'autres neuroscientifiques comme Santiago Ramón y Cajal (1852-1934). Ce dernier, s'opposant à la théorie de Golgi, a lui-même développé de nombreuses méthodes de travail en neurohistologie [3]. Notamment Ramón y Cajal modifia la technique de la coloration de Golgi qui ne colore qu'une cellule sur cent, marque

bien de façon uniforme les corps cellulaires et les prolongements, ce qui a permis de prouver que chaque cellule est une entité indépendante, mais qui est inefficace lorsque les fibres nerveuses sont entourées de myéline. L'astuce de Ramón y Cajal a été d'utiliser la coloration de Golgi sur des tissus plus jeunes que ceux utilisés par Golgi, lui permettant d'observer distinctement les neurones et leurs prolongements. De façon remarquable, le nitrate d'argent est encore aujourd'hui utilisé dans les laboratoires d'histologie pour la coloration des tissus conjonctifs et substance intercellulaire des épithéliums, l'ADN et les protéines comme le collagène de type III et les fibres de réticuline [4]. Par exemple la coloration de Grocott permet de mettre en évidence les champignons tissulaires comme *Histoplasma* [5] ou encore le pathogène responsable de sévères pneumonies *Pneumocystis jirovecii* [6].

Il existe une coloration histologique alternative à l'imprégnation argentique de Golgi. Cette coloration histologique fut introduite par Franz Nissl en 1885 et est basée sur l'utilisation de colorants alcalins comme la thionine, le bleu de toluidine ou encore le crésyl violet à forte affinité pour les composants cellulaires basophiles, comme les acides ribonucléiques (ARN). Alors que cette coloration permet de voir les corps cellulaires et les neuropiles, il ne permet pas de mettre en évidence les ramifications dans toute leur longueur. Cette coloration a été actualisée pour la coloration de cerveaux entiers et l'analyse récente des structures en 3D par la microscopie en feuille de lumière [7].

Il ne faut pas pour autant oublier la coloration de Mann, utilisée par l'étudiant de Golgi, Adelchi Negri pour la mise en évidence des corps du même nom qui apparaissent comme inclusions intraneuronales lors d'infection rabique [8; 9; 10].

LES AUTRES CONTRIBUTIONS DE GOLGI

En 1876, Golgi mit en évidence deux sortes de corpuscules tendineux sensitifs. Les **organes tendineux de Golgi** (proprioceptifs) situés dans la jonction musculo-tendineuse (musculo-aponévrotique), corpuscules encapsulés qui contiennent des fibres de collagène en série avec 15-20 fibres musculaires (Barker 1974). Quand les fibres musculaires se contractent, la jonction musculo-tendineuse s'allonge avec un rapprochement des fibres de collagène dans l'organe tendineux de Golgi, ce qui comprime les terminaisons nerveuses et provoque la stimulation des fibres

afférentes de type 1b. Les **corpuscules de Golgi-Mazzoni** transducteurs de stimuli de pression (mécano-récepteurs) sont localisés dans le derme.

En 1887, Golgi abandonne ses études du système nerveux et entame des études sur le cycle de la malaria chez l'homme. Il décrit le cycle intra-érythrocytaire du *plasmodium* responsable de la fièvre tertiaire et quaternaire, aussi appelé **cycle de Golgi**. Il découvre aussi la relation entre les bouts fébriles et la segmentation du microbe, appelée la **loi de Golgi**, définissant ainsi le moment optimal du cycle qui permette d'accroître l'efficacité du traitement à la quinine. En parallèle, il s'investit dans d'importantes études histologiques dans de nombreux organes comme le rein, les glandes gastriques, etc. ... sur lesquels il fit d'importantes observations. C'est en 1898 qu'il décrira les réseaux périneuronaux observés dans la matrice extracellulaire du cerveau (voir couverture).

En 1906, Camillo Golgi reçut le premier Prix Nobel de Médecine (Neurophysiologie) en reconnaissance de son travail sur le système nerveux, Prix qu'il a partagé avec Santiago Ramón y Cajal (1852-1934), son rival dans la théorie neuronale. La récompense prestigieuse partagée reflète l'aboutissement de leurs travaux respectifs largement basés sur la coloration argentique de Golgi, qui ont conduit à de nombreux résultats révolutionnaires comme la preuve que chaque cellule nerveuse est une entité indépendante et que les synapses nerveuses transfèrent les impulsions nerveuses d'une cellule à une autre.

Récemment le travail de Camillo Golgi a été remis à l'honneur avec une publication parue en 2019 que nous vous invitons à feuilleter. Cet article rappelle que bien que la plupart des préparations histologiques originales de Golgi soit perdue, certaines préparations originales issues du laboratoire de Camillo Golgi sont encore visibles au Museum qui porte le même nom et au Musée Historique de l'Université de Pavie [11; 12; 13]. L'article illustre des planches et des clichés originaux non sans créer une certaine émotion. L'épaisseur des préparations (150 µm) nécessite une constante mise au point lors de l'observation et plonge l'observateur d'aujourd'hui, dans la complexité déroutante des composants nerveux marqués de la sorte. Nous renvoyant ainsi aux premières observations microscopiques effectuées par Golgi lui-même, elles suscitent aujourd'hui encore l'émotion que Golgi a dû ressentir en regardant ses précieuses préparations.

LE PRIX CAMILLO GOLGI

Depuis 1986, ce Prix annuel créé par l'Association européenne pour l'étude du diabète (EASD) est attribué pour les contributions exceptionnelles dans le domaine de l'histopathologie, la pathogenèse, la prévention et le traitement des complications du diabète sucré. Ainsi au-delà de ses travaux, sa personnalité extraordinaire est associée à un prix récompensant des travaux histologiques remarquables.

Au final, en parcourant brièvement les nombreux apports de Camillo Golgi, nous pouvons reconnaître ses grandes qualités et son génie en histologie ; partant de très peu de moyens, transformant une cuisine en laboratoire d'histologie, son caractère rigoureux, précis, ingénieux, méthodique, lui ont permis de faire des avancées majeures. Camillo Golgi a été capable de théoriser des explications à partir des observations des nombreuses préparations qu'il a réalisées lui-même. Conscient des possibles artéfacts, toute sa vie durant il prit soin de ne pas surinterpréter ses observations. Ainsi il n'a probablement pas osé décrire les épines dendritiques pourtant parfaitement visibles après imprégnations argentiques, craignant l'observation d'un phénomène non spécifique ; ce qui n'a pas été le cas de Ramon Y Cajal qui les a parfaitement rapportées à partir d'observations sur le même type de préparations.

A l'heure où les techniques d'histologie continuent leur évolution comme l'indique notre nouveau numéro de la Revue avec un article sur la zymographie *in situ* ou encore l'apport des études spectroscopiques, le développement de marquages multiples par exemple, il nous a paru légitime de rendre hommage à ce grand histologiste fondateur pour notre discipline.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. DROSCHER A (1998) The history of the Golgi apparatus in neurones from its discovery in 1898 to electron microscopy. *Brain Res Bull* **47**:199-203
2. STEFANOVIC BD, RISTANOVIC D, TRPINAC D, DORDEVIC-CAMBA V, LACKOVIC V, BUMBASIREVIC V, OBRADOVIC M, BASIC R, CETKOVIC M (1998) The acidophilic nature of neuronal Golgi impregnation. *Acta Histochem* **100**:217-227

3. DEFELIPE J, JONES EG (1992) Santiago Ramon y Cajal and methods in neurohistology. *Trends Neurosci* **15**:237-246
4. NAOUMENKO J, FEIGIN I (1974) A simple silver solution for staining reticulin. *Stain Technol* **49**:153-155
5. LOPEZ JF, GROCCOTT RG (1968) Demonstration of *Histoplasma capsulatum* in peripheral blood by the use of methenamine-silver nitrate stain (Grocott's). *Am J Clin Pathol* **50**:692-694
6. GONZALEZ AA, HAMELE-BENA D, WOOD T, VALLADARES-SILVA S, WASSERMAN PG (2017) Pneumocystis jirovecii immunostain versus Gomori/Grocott methenamine silver stain of bronchoalveolar lavage in cell blocks: an institutional experience. *J Am Soc Cytopathol* **6**:242-247
7. LAZUTKIN AA, KOMISSAROVA NV, TOPTUNOV DM, ANOKHIN KV (2013) Brain morphology imaging by 3D microscopy and fluorescent Nissl staining. *Bull Exp Biol Med* **155**:399-402
8. DERAKHSHAN I (1975) Is the Negri body specific for rabies? A light and electron microscopical study. *Arch Neurol* **32**:75-79
9. KRISTENSSON K, DASTUR DK, MANGHANI DK, TSIANG H, BENTIVOGLIO M (1996) Rabies: interactions between neurons and viruses. A review of the history of Negri inclusion bodies. *Neuropathol Appl Neurobiol* **22**:179-187
10. MACKIE FP (1913) An Improved Method for Staining "Negri Bodies". *Ind Med Gaz* **48**:20
11. BENTIVOGLIO M, COTRUFO T, FERRARI S, TESORIERO C, MARIOTTO S, BERTINI G, BERZERO A, MAZZARELLO P (2019) The Original Histological Slides of Camillo Golgi and His Discoveries on Neuronal Structure. *Front Neuroanat* **13**:3
12. MAZZARELLO P, BENTIVOGLIO M (1998) The centenarian Golgi apparatus. *Nature* **392**:543-544
13. MAZZARELLO P, GARBARINO C, CALLIGARO A (2009) How Camillo Golgi became "the Golgi". *FEBS Lett* **583**:3732-3737