

LA CYTOGÉNÉTIQUE HUMAINE EST NÉE IL Y A 80 ANS A LIÈGE (de WINIWARTER, 1912)

L. Koulischer(1), R. Bassleer(2)

AVANT-PROPOS

Le projet de rédaction de la présente note a débuté en mai 1992. Nous voulions rappeler le très important travail de Winiwarter sur les chromosomes humains, publié à Liège il y a exactement 80 ans. Le Professeur E. Schoffeniels, mis au courant, nous avait fait l'honneur et le plaisir de s'y intéresser, et nous avait incités à présenter une communication préliminaire à ce sujet au 4^e Congrès de l'Association des Cercles francophones d'Histoire et d'Archéologie de Belgique (Section Histoire des Sciences et des Techniques), qui a eu lieu au Sart Tilman du 20 au 23 août 1992. Son attachement à l'Université était bien connu : il pensait au cadre plus large du 175^e anniversaire. Nous dédions cet article à la mémoire de notre éminent collègue disparu.

INTRODUCTION

L'essor considérable de la cytogénétique humaine depuis 35 ans est bien connu : l'analyse des chromosomes est devenue indispensable tant en clinique qu'en recherche. Le nombre de publications concernant les chromosomes normaux ou pathologiques augmente de façon pratiquement exponentielle depuis des années. Bien entendu, c'est la parfaite connaissance du caryotype normal qui permet de déterminer l'existence d'une anomalie éventuelle, ou, qui facilite, à l'aide de la biologie moléculaire, la localisation d'une séquence d'ADN normale ou mutée au niveau d'un chromosome particulier. Pour de nombreux auteurs de traités de génétique ou de cytogénétique humaines, un point semble indiscutable : c'est à de Winiwarter (1912) que l'on doit la première étude des chromosomes normaux qui peut être considérée comme le point de départ de la cytogénétique humaine moderne : « un article classique » (Hamerton, 1971), « un article historique » (Makino, 1975), « un article se distinguant parmi les premières recherches consacrées à ce sujet » (Vogel et Motulsky, 1986). Sandberg (1990) apporte en outre quelques précisions : « le Belge Winiwarter, travaillant à Liège ». Il nous a paru intéressant, à l'occasion du 175^e anniversaire de la fondation de l'Université, de rappeler par l'analyse des travaux de Winiwarter, comment la cytogénétique humaine est née à la Faculté de Médecine de Liège, il y a exactement 80 ans.

Ainsi que le rappelle Chèvremont, Hans de Winiwarter est né à Vienne le 29 mai 1875. Son père, Alexandre von Winiwarter, fut nommé professeur de chirurgie à l'Université de Liège et vint habiter la ville alors que son fils avait 3 ans. Diplômé en 1899, c'est cette même année que Hans de Winiwarter publie un travail concernant le nombre de chromosomes chez le lapin (von Winiwarter, 1899). Il signale dans son introduction que « les observations qui vont suivre sont terminées depuis novembre 1897 » : son intérêt pour les chromosomes remonte apparemment bien avant la fin de ses études. En 1900, paraît un important mémoire sur l'ovogenèse chez la lapine et la femme. Dans ce mémoire sont proposés pour la première fois les termes qui sont encore utilisés de nos jours et désignent les divers stades de la méiose : leptotène, pachytène, synapsis. C'est donc un chercheur chevronné qui aborde l'étude des chromosomes humains dans le cadre plus général des tumeurs malignes. Suivant ses propres termes,

(1) Professeur, Université de Liège, Service de Génétique, CHU Sart Tilman, (2) Professeur, Université de Liège, Histologie-Cytologie, Institut Swaen.

de Winiwarter précise en 1912 : « Je me suis bientôt rendu compte de la nécessité de connaître le nombre de chromosomes dans l'espèce humaine. Seule la détermination de ce chiffre permet d'apprécier les variations éventuelles survenant dans les tissus pathologiques, et dans quel sens, vers l'hyper- ou l'hypochromaticité, elles se produisent. A cet égard, la littérature ne m'était d'aucun secours ». En effet, de nombreux chiffres entre 18 et 40 avaient été proposés (Makino, 1975). De Winiwarter justifie son entreprise par ces mots : « je reste convaincu que cette étude mérite d'être reprise par un cytologiste habitué à déchiffrer les structures nucléaires normales et surtout les images compliquées que nous offre l'évolution des produits sexuels ».

Fig. 2. Cr
warter. Il
photograp

MATERIEL ET METHODES EN 1912

C'est l'expérience personnelle qui permet à de Winiwarter tout à la fois de s'adresser au matériel le plus adéquat à l'époque, le testicule d'adulte humain, d'effectuer une fixation correcte dès le moment du prélèvement, de faire des coupes de 7,5 microns qu'il aurait cependant pu porter à 10 ou 12 « pour ne pas répartir une même figure sur plusieurs coupes » et enfin d'utiliser la coloration qu'il juge la meilleure, notamment pour l'étude des hétérochromosomes (chromosomes X) qui venaient d'être découverts. Il se procure des fragments de testicules sains lors d'interventions chirurgicales chez 4 hommes de 21, 23, 25 et 41 ans. Les images de division mitotique (spermatogonies) et de réduction méiotique (spermatocytes I et II) sont très nombreuses et permettent une analyse statistique, déjà utilisée par de Winiwarter chez le lapin. A nos yeux toutefois, le plus difficile paraît être l'observation. En effet, si nous pouvons compter si facilement les chromosomes à l'heure actuelle, c'est parce que d'une part, nous disposons des techniques de culture de tissus ou d'incubation à court terme et d'autre part, du choc hypotonique et du séchage à l'air, qui ramènent les chromosomes dans un même plan. On peut alors les photographier, et tous sont au point sur un même cliché qui est dès lors analysé. Sur coupe fixée, c'est tout à fait différent. Même si les divisions sont suffisamment nombreuses, comme c'est le cas au niveau du testicule (ce qui permet de se passer d'un temps de culture) il n'y a pas eu de choc hypotonique. Les chromosomes risquent donc d'être rassemblés et de se toucher d'une façon telle qu'il devient très difficile de décider s'il y en a un ou plusieurs. De plus, la coupe ayant une certaine épaisseur, les chromosomes ne sont pas tous dans le même plan. Il faut alors les dessiner à la main en chambre claire et le produit fini nous paraît aujourd'hui pour le moins peu précis. Un exemple des figures analysées par de Winiwarter se trouve reproduit à la figure 1, tirée de son mémoire. L'auteur précise que « sur 32 plaques, je compte 47 chromosomes 29 fois, 46 chromosomes 2 fois et 49 chromosomes 1 fois ». On ne peut qu'admirer qu'avec son matériel il ait approché de si près le nombre exact. Il signale en outre qu'il a vu chaque chromosome pourvu d'une fente longitudinale, mais ce détail a été omis intentionnellement pour faciliter la numération. Nous pouvons illustrer ces difficultés de numération par un autre article de Winiwarter et Oguma paru en 1930. L'Américain Evans a envoyé à Liège une lame sur laquelle sont repérées deux mitoses de carcinome de la lèvre, accompagnées des croquis reproduits à la figure 2 et concluant à l'existence de 48 chromosomes. De Winiwarter les examine et envoie le matériel à Oguma à Sapporo qui redessine également les mitoses (figure 3). Les deux auteurs concluent à l'absence « par un oubli que nous nous

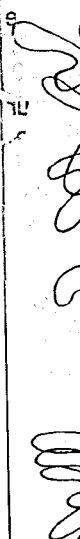


Fig. 2. Croquis d'Evans, envoyés à de Winiwarter. Il s'agit de l'équivalent de nos microphotographies actuelles.

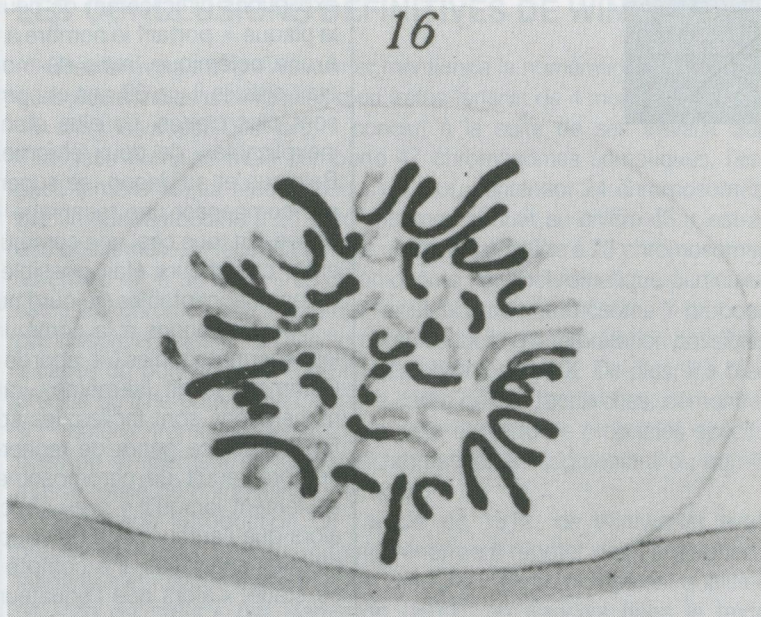
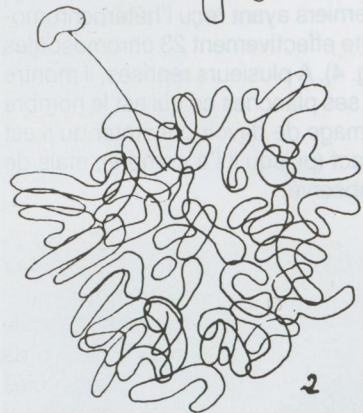
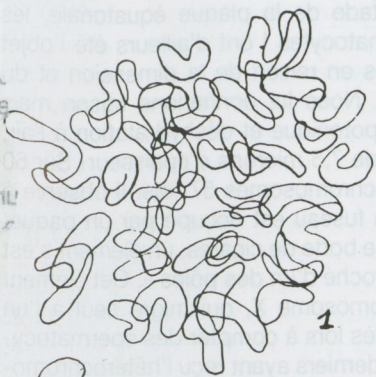


Fig. 1. Voici la légende proposée par de Winiwarter : « spermatogonie; plaque pré-équatoriale renfermant 47 chromosomes. La division longitudinale très nette de tous les chromosomes n'a pas été représentée ». A noter les dégradés de noir, rappelant l'épaisseur de la coupe.

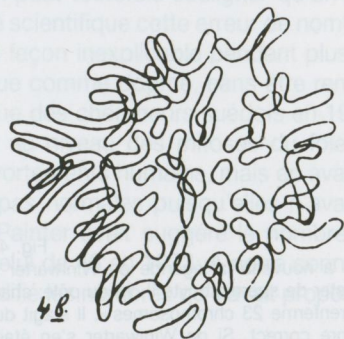
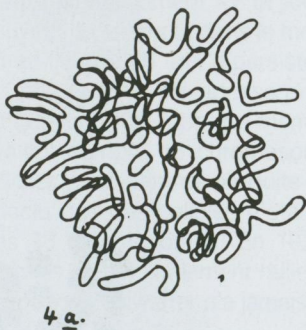
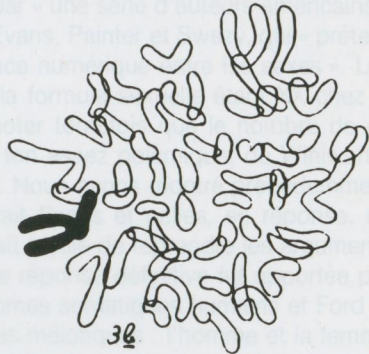
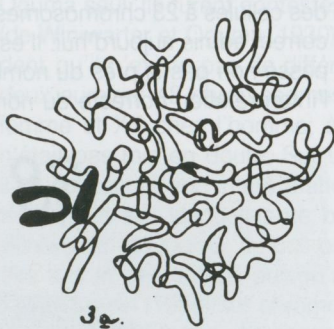


Fig. 3. Dessins des mêmes métaphases que celles d'Evans, à gauche par de Winiwarter, à droite par Oguma. Les chromosomes en noir sont ceux « oubliés de façon inexplicable » par Evans et repérés par les deux auteurs. Les croquis des mêmes métaphases sont indéniablement ressemblants entre eux, qu'ils aient été dessinés par Evans aux USA, de Winiwarter en Belgique ou Oguma à Sapporo. L'analyse fine est cependant impossible.

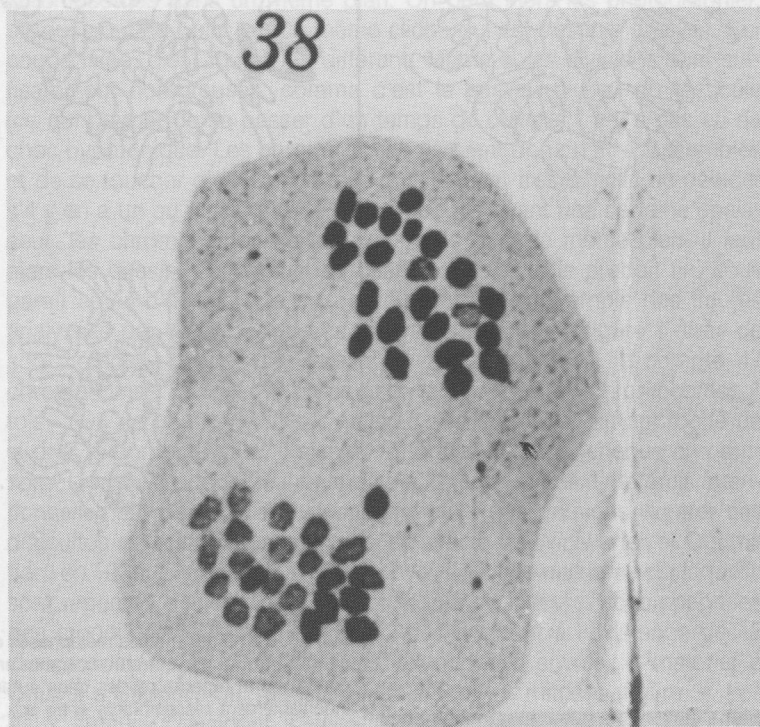
expliquons difficilement de deux éléments teintés en noir à gauche de la plaque », portant le nombre à 50. Notre propos n'est pas de participer à une polémique, mais de montrer combien l'analyse cytogénétique était difficile il y a 60 ans et combien nos microphotographies actuelles sont plus claires. Le plus étonnant, c'est que mis à part cet « oubli inexplicable » de deux chromosomes, les dessins faits aux USA, en Belgique et au Japon, se superposent assez bien. L'expérience peut-elle compenser une technique insuffisante? La question mérite d'être posée. En tous cas, une communication et une discussion des résultats entre chercheurs était possible avec des techniques qui nous paraîtraient inacceptables aujourd'hui.

Mais revenons à la communication de Winiwarter en 1912. Après les spermatogonies, il aborde les numérations des spermatocytes. Comme il le dit lui-même, « au stade de la plaque équatoriale, les numérations sont faciles; les spermatocytes I ont d'ailleurs été l'objet favori pour ce genre de recherches en raison de la dimension et du nombre réduit de chromosomes ». Nous lui donnerions raison mais seulement lorsqu'il y a eu choc hypotonique et déshydratation à l'air, alors que l'auteur parle de coupes de 7,5 microns d'épaisseur! Sur 60 plaques analysées, il a compté 24 chromosomes 57 fois. Il observe à ce stade, « alors que l'équateur du fuseau est occupé par un paquet de chromosomes comparables à une botte de cigares, un élément s'est détaché de l'ensemble et s'est approché d'un des pôles ». Cet élément serait l'hétérochromosome ou chromosome X, qui migre seul à l'un des pôles. De Winiwarter s'attend dès lors à compter des spermatocytes II à 23 et 24 chromosomes, ces derniers ayant reçu l'hétérochromosome. Suivant ses prévisions, il compte effectivement 23 chromosomes 10 fois et 24 chromosomes 15 fois (fig. 4). A plusieurs reprises, il montre des cellules à 23 chromosomes dans ses planches ce qui est le nombre correct admis aujourd'hui. Il est dommage de devoir constater qu'il est passé non pas si près du nombre exact (puisqu'il l'a compté), mais de l'interprétation correcte du nombre observé.



Fig. 4.

Voici à nouveau la légende de Winiwarter : « diaster de spermatocyte II, vu du pôle; chacun renferme 23 chromosomes ». Il s'agit du nombre correct. Si de Winiwarter s'en était tenu à ces images, il en aurait conclu que l'Homme a 46 chromosomes.



LES CONCLUSIONS DEFINITIVES DE WINIWARTER

Très brièvement, de Winiwarter mentionne la numération de trois plaques équatoriales d'ovogonies d'un fœtus féminin de 4 mois : il a compté 48 chromosomes. Dès lors, il conclut à la suite de ses travaux que « l'espèce humaine mâle comporte 47 chromosomes somatiques, l'espèce femelle 48. La fécondation d'un œuf, contenant 24 chromosomes, par un spermatozoïde à 24 chromosomes aboutit au chiffre 48, c'est-à-dire une femelle, la fécondation par un spermatozoïde à 23 chromosomes au chiffre 47, à un mâle ». Le chromosome hétérochromatique particulier est le sex chromosome. Il a réfuté l'existence du chromosome Y proposé par Wilson, en faisant état des nombreux écueils d'interprétation possibles à cause du polymorphisme de l'hétérochromosome X. De plus, il a bien précisé qu'il ne pouvait pas, dans le cadre de ses recherches, démontrer si l'« hétérochromatine détermine le sexe en vertu de propriétés spécifiques ou simplement en tant que chromatine, en augmentant ou non la masse totale de chromatine d'un noyau ».

Dans son introduction de l'article de 1912, de Winiwarter avait précisé qu'il avait « perdu un temps énorme à répéter des numérations fatigantes et j'avoue aussi très fastidieuses ». Cette phrase est qualifiée de « cri du cœur » par Hamerton (1971), en français dans le texte anglais. Il a eu la conviction, justifiée, d'avoir effectué une recherche importante ayant amené de nouvelles connaissances. Et il s'en est tenu par la suite à ce qu'il avait écrit en 1912 : l'homme a 47 chromosomes et une formule sexuelle XO; la femme a 48 chromosomes et une formule sexuelle XX. Ces résultats furent confirmés par les Japonais Oguma et Kihara, puis par Oguma en collaboration avec de Winiwarter et enfin Oguma seul. Ils furent contestés par « une série d'auteurs américains » (de Winiwarter et Oguma, 1930), Evans, Painter et Swezy, qui « prétendent qu'il n'existe pas de différence numérique entre les sexes ». Les deux auraient 48 chromosomes, la formule sexuelle étant XX chez la femme et XY chez l'homme; à noter toutefois que le nombre de 48 n'était pas mis en doute. Sur un ton assez polémique, de Winiwarter s'en est tenu à son interprétation. Nous avons montré précédemment les figures sur lesquelles se basait Evans et celles, en réponse, de Winiwarter et Oguma. Il nous paraît inutile de reprendre les arguments des uns et des autres, puisqu'une réponse définitive fut apportée par Tjio et Levan (1956) sur chromosomes somatiques humains et Ford et Hamerton (1956) sur chromosomes méiotiques : l'homme et la femme ont tous deux 46 chromosomes, la formule chromosomique sexuelle étant respectivement XY et XX. On peut toutefois souligner qu'on cite souvent en exemple dans le monde scientifique cette erreur de nombre, 48 au lieu de 46, qui a persisté de façon inexplicable pendant plus de 40 ans, et qui a été admise presque comme dogme, sans être remise en question. On rapporte même que des chercheurs suédois en 1952, avaient compté 46 chromosomes au niveau des mitoses du foie de cellules provenant de produits d'avortements humains, mais en avaient conclu que ces cellules n'étaient pas normales puisqu'elles n'avaient pas 48 chromosomes! En 1921, Painter avait suggéré le nombre de 46 mais s'était finalement rallié à celui de 48 en 1923. A notre connaissance, de Winiwarter n'a jamais modifié les nombres qu'il avait proposés.

LA PETITE HISTOIRE D'UNE GRANDE DECOUVERTE

En marge de la grande découverte concernant le nombre de chromosomes dans notre espèce, quelques faits humains paraissent intéressants

à souligner dans le cadre du travail de Winiwarter, notamment d'une part les polémiques qu'il engendra apparemment jusqu'au sein de son propre service, et d'autre part sa collaboration tout à fait remarquable pour l'époque avec des chercheurs japonais.

a) *L'opposition locale aux idées de Winiwarter.* — Comme souvent au début du siècle, un article purement scientifique est rédigé à la première personne, et truffé de remarques ou d'opinions personnelles concernant d'autres travaux. Ce qui frappe chez de Winiwarter, c'est une agressivité certaine mais qui semble répondre à des critiques dont il aurait été l'objet. Il utilisait manifestement son mémoire pour se justifier. Par exemple, après une discussion assez longue et à première vue sans intérêt sur le mode de fixation qu'il a utilisé, il conclut dans le texte : « je n'ai donc pas lieu de douter de mes préparations antérieures et je ne vois pas pourquoi, le monopole des préparations correctes serait l'apanage de certains à l'exclusion de tous les autres. L'idée n'est pas exprimée en termes aussi crus, mais la manière dont ils formulent leurs critiques équivaut en somme à pareille affirmation ». Un nouveau « cri du cœur » qui sera compris encore aujourd'hui par tous ceux qui ont été ou sont critiqués dans leur travail ou leurs recherches et qui ont ressenti ces critiques comme injustes. Au total, nul ne détient la vérité absolue. Dans une note en bas de page, il écrit encore : « Ceux qui prétendent ou enseignent que je nie l'existence des mitochondries n'ont évidemment lu aucun de mes travaux car je n'ai nulle part exprimé semblable opinion ». De Winiwarter se croyait-il persécuté? De façon inattendue, nous pouvons démontrer que ce n'était pas une supposition mais un fait et que les critiques émanaient de son entourage immédiat. En effet, dans le volume des Archives de Biologie de 1912, conservé à l'Institut d'Anatomie, son article est annoté. Des remarques sont écrites au crayon. Elles sont devenues assez pâles, mais restent parfaitement lisibles et sont toutes de la même écriture. En voici deux exemples. À un certain endroit, de Winiwarter réfute des objections émises par d'autres concernant sa théorie de la méiose et de l'appariement (synapsis) des chromosomes. Mais son ton sérieux change brusquement : « Je puis citer une anecdote plus savoureuse. Un adversaire irréductible du synapsis (et de toutes mes idées d'ailleurs) m'obligea, il y a quelques années, d'examiner une de ses préparations, une coupe d'un Tunicier quelconque ». La suite se trouve en figure 5. On peut voir

ETUDES SUR LA SPERMATOGENÈSE HUMAINE. 161

m'obligea, il y a quelques années, d'examiner une de ses préparations, une coupe d'un Tunicier quelconque. Par hasard, le champ du microscope contenait une portion du testicule où l'on pouvait voir les plus beaux synapsis et les plus manifestes centrotaxies. J'en fis la remarque. L'ahurissement de mon contradicteur me prouva que ces figures lui avaient échappé. Il s'empara du microscope, puis conclut qu'il admettait le synapsis chez les Ascidies, mais non chez les Mammifères. Je fus édifié : évidemment si le synapsis existe chez les Tuniciers, il doit faire défaut chez les Mammifères !

!!! ?
quelle effronterie

Fig. 5.

On distingue dans le texte le mot « obligea » surmonté d'un point d'interrogation, et dans la marge trois points d'exclamation, un d'interrogation et les mots : « quelle effronterie ». La qualité de la reproduction n'est pas excellente, mais ces mots ont été écrits au crayon il y a 80 ans, sur un papier qui a lui-même jauni.

de façon évidente que le mot « obligea » est surmonté d'un point d'interrogation et les mots : « quelle effronterie ! » dans la marge. Quelques pages plus loin, on note d'autres notes désobligeantes de la même écriture telles que : « retournez-vous, de grâce ! » et « quel charabia » (sic). Ces remarques surprendront certainement tous les médecins et chercheurs en activité aujourd'hui à la Faculté de Médecine. De nos

jours, tout le monde le sait, ils sont entourés de l'admiration et de l'affection générale de leurs collègues. Il y a 80 ans, ce n'était apparemment pas le cas et les communications scientifiques étaient l'occasion de justifications qui n'avaient pas toujours la sérénité, ou en tout cas le ton impersonnel que nous connaissons aujourd'hui.

b) *La collaboration avec des chercheurs japonais.* — En 1922-1923, un chercheur japonais, K. Oguma, séjourna à Liège dans le laboratoire de Winiwarter pour étudier les chromosomes humains. Ce qui peut sembler normal à notre époque de communications rapides était exceptionnel il y a 70 ans. Mais la réputation de Winiwarter était telle qu'un scientifique japonais n'a pas hésité à faire le voyage jusqu'à Liège et à y séjourner. En fait Oguma avait également compté 47 chromosomes sur un testicule humain et avait obtenu une bourse du Ministère japonais de l'Education de 1922 à 1925 pour poursuivre ses recherches en Belgique (Yoshida, communication personnelle, 1992). Il fit par la suite une brillante carrière à Sapporo, qu'il termina comme fondateur et directeur de l'Institut national de Génétique à Mirishima : « nous sommes très fiers du Pr. Oguma, le grand précurseur de notre laboratoire » (Yoshida, Hokkaido, 1992). Dans un article consacré à l'histoire de la cytogénétique au Japon qui nous a été aimablement communiqué, l'éminent cytogénéticien Makino (1979) cite le travail d'Oguma de 1922 comme fondamental, l'un de ceux à la base de l'essor de la cytogénétique humaine. Il est intéressant de noter que dans cet article de 1979, ont été rassemblées les photographies des cytogénéticiens japonais les plus connus. Le seul européen à figurer est de Winiwarter, en compagnie d'Oguma, et dans le texte, le nom de Liège est bien mentionné. Une collaboration entre la Faculté de Médecine de l'Université de Liège et une université japonaise a donc eu lieu il y a 70 ans; nous ne savons pas s'il y en a eu de plus anciennes ou s'il s'agit de la première en Belgique.

Nous apprenons (Chèvremont) que de Winiwarter lisait le japonais et avait une collection d'estampes japonaises tout à fait remarquable. Ceci nous montre ce qu'on appelle l'humanisme d'un chercheur qui en outre était un excellent musicien. Oguma fut le plus ardent supporter de Winiwarter, et publia seul ou en collaboration, un certain nombre de résultats montrant que l'homme avait bien 47 chromosomes et la femme 48 : comme son maître, il niait l'existence du chromosome Y. Oguma a continué sa carrière à l'Université de Sapporo.

En conclusion, on peut affirmer que la cytogénétique humaine moderne est née à la Faculté de Médecine de Liège, et cette naissance a été matérialisée il y a exactement 80 ans par la publication de Winiwarter. On peut préciser qu'il s'agit ici d'un rappel et non d'une redécouverte comme le furent en 1900 les lois de Mendel. Le nom de Winiwarter est bien connu des spécialistes en cytogénétique humaine et son article de 1912 est toujours cité lorsqu'une introduction historique est présente. Mais peu de personnes, y compris en Belgique, savent que de Winiwarter était professeur à la Faculté de Médecine de l'Université de Liège, où il a effectué tous ses travaux. Il est l'un des nombreux chercheurs ayant rendu illustre cette Université dont on fête le 175^e anniversaire.

BIBLIOGRAPHIE

1. FORD, C. E., HAMERTON, J. L. — The chromosomes of man. *Nature*, 1956, **178**, 1010-1023.
2. HAMERTON, J. L. — *Human Cytogenetics*, vol. 1, p. 7. Academic Press, New York and London, 1971.

3. MAKINO, S. — *Human chromosomes*. North-Holland Publishing Company, Amsterdam, 1975.
4. MAKINO, S. — A historical sketch on the birth of animal cytogenetics in Japan. *La Kromosomo*, 1979, II, 379-389.
5. SANDBERG, A. A. — *The chromosomes in human cancer and leukemia* (2^e ed.). Elsevier, Amsterdam, 1990, 2.
6. TJIO, J. H., LEVAN, A. — The chromosome number of man. *Hereditas*, 1956, **42**, 1-6.
7. VOGEL, F., MOTULSKY, A. G. — *Human genetics*, 2^e ed., Springer Verlag, Berlin, 1986.
8. WINIWARTER, H. VON. — Le corpuscule intermédiaire et le nombre de chromosomes du lapin. *Arch. Biol.*, 1899, **16**, 685-707.
9. WINIWARTER, H. VON. — Etudes sur la spermatogenèse humaine (I. Cellule de Sertoli. II. Hétérochromosome et mitoses de l'épithélium séminal). *Arch. Biol.*, 1912, **27**, 91-189.
10. WINIWARTER, H. DE, OGUMA, K. — La formule chromosomiale humaine. *Arch. Biol.*, 1930, **40**, 541-553.
11. YOSHIDA, M. C. — Communication personnelle (1992).