

50376  
1965  
43

50376  
1965  
43

FACULTE DES SCIENCES DE LILLE

-----

DIPLOME D'ETUDES SUPERIEURES  
( Sciences Naturelles )

DESTRES INTRODUITE



QUELQUES ASPECTS HISTOLOGIQUES ET HISTOCHIMIQUES DU TRACTUS  
DIGESTIF ET DES GONADES D'ASTERIAS RUBENS LINNE

Présenté le : 25 Juin 1965 à 15h30  
devant la commission d'examen.

Jury d'examen : M. DURCHON Président

M. HEIM de BALSAC

M. DEFRETIN

Examineurs

Travail effectué à l'Institut de Biologie Maritime  
et Régionale de WIMEREUX - (Directeur R. DEFRETIN)

SCD LILLE 1



D 030 272164 4







## A B R E V I A T I O N S

Canal	:	Canalicules
Cell. amœb.	:	Cellules amœboïdes
Cell. granul.	:	Cellules granuleuses
Cell. muq. cal.:		Cellules muqueuses caliciformes
Cell. typ.	:	Cellules typiques
Cell. spec.	:	Cellules spécialisées
Chond.	:	Chondriome
Cil.	:	Ciliature
C. conj.	:	Couche conjonctive
C. muscul.	:	Couche musculaire
Cytopl.	:	Cytoplasme
Ep. gland.	:	Epithélium glandulaire
Ep. per.	:	Epithélium péritonéal
Fib. intracell.:		Fibrille intracellulaire
Gr. bas.	:	Grain basal
Gr. ép.	:	Granules épars
Gr. sudan	:	Granules sudanophiles
Musc. circ.	:	Muscles circulaires
Musc. long.	:	Muscles longitudinaux
Noy.	:	Noyau
Nucl.	:	Nucléole
Ovo.	:	Ovocyte
Reticul.	:	Réticulum

## I N T R O D U C T I O N

Le but du présent travail est une étude histologique, cytologique et histochimique du tractus digestif et des gonades. En outre, nous avons également à rechercher les modifications du tractus digestif et des gonades au cours du cycle annuel de reproduction.

Nous rappelons, dès à présent, que des recherches histologiques ont été déjà effectuées chez de nombreux Echinodermes et qu'en particulier, en doit à Anderson, Chadwick, Cuenot et Delavaut, de nombreuses observations sur les Asterides.

## I - MATERIEL ET TECHNIQUES

Notre travail a porté sur des *Asterias rubens* récoltées en face du Laboratoire de Wimereux, au niveau de la zone intercotidale où elles se trouvent en très grande abondance, en raison de la proximité des parcs à moules.

Ces récoltes ont été effectuées à deux périodes différentes de l'année :

- aux grandes marées d'Août - Septembre 1963
- aux grandes marées de Février 1964 -

Nous avons fixé immédiatement au laboratoire, des fragments de cœcums digestifs, d'estomac, de gonades.

Ces fragments ont été prélevés sur des individus de petite taille et sur des individus de taille normale : la taille de l'individu a été évaluée par le grand rayon, mesuré du centre de la bouche à l'extrémité du bras.

### 1°) Fixation :

Les différents fixateurs utilisés furent :

#### a) pour l'étude anatomique et histologique :

le mélange de Bouin-Hollande ou piroformol, le Zenker-formol ou Helly avec une post chromisation de 36 à 40 h dans le bichromate de potassium à saturation à 36 °.

#### b) pour les recherches histochimiques :

le mélange de Bensley utilisé en vue de la mise en évidence des polysides, le mélange de Carnoy, le formol salé, utilisé en vue de la mise en évidence des lipides.

### 2°) Coupes :

Les examens ont été faits sur coupes, après inclusions dans la paraffine. Ces coupes sont d'une épaisseur constante de 5 µ.

En plus, pour l'étude des lipides, nous avons exécuté des coupes à congélation.

### 3°) Coloration

#### a) Techniques histologiques :

- Sur les coupes fixées au Bouin-Hollande, nous avons pratiqué la méthode trichromique de Cleveland-Wolf.
- Sur les coupes fixées au Zenker, nous avons utilisé la

technique de Volkovsky pour les recherches cytologiques et pour la mise en évidence du chondriome.

b) Techniques histochimiques :

- La recherche des polysides a été effectuée sur des pièces fixées au Bensley par la méthode de Hochkiss Mac Manus (PAS, periodic acid Schiff).

Toutefois, la réaction positive au PAS n'étant pas spécifique, des polysaccharides, nous avons pratiqué des contrôles :

- Blanchage des groupements hydroxyles des polysaccharides par acétylation, puis coloration normale : Il n'y a pas de coloration par le Schiff pour les polysaccharides.
- un deuxième contrôle consiste à libérer les groupements hydroxyles préalablement acétylés par passage dans une solution de potasse à N/10, puis nous procédons à une coloration normale de Hochkiss Mac Manus.
- un autre contrôle a été fait par action de l'amylase salivaire.

Après cette méthode générale de Hochkiss Mac Manus, nous avons essayé de détecter les mucopolysaccharides acides par la technique du bleu Alcian, par la technique mucicarmin de Meyer, par la technique de metachromasie de Pearse.

Parmi ces mucopolysaccharides acides, nous avons essayé de détecter l'un des plus simples, l'acide hyaluronique par la technique de Kulonen. Cette méthode utilise l'hyaluronidase enzyme dépolymérisant, l'acide hyaluronique. Les produits réducteurs résultant de cette dépolymérisation sont mis en évidence par le nitrate d'argent ammoniacal (précipité noir).

- La recherche des lipides a été faite sur coupes à congélation, après coloration par le noir Soudan B.
- La recherche des protides a été faite sur coupes fixées au Bouin ou au Bensley, par les techniques :
  - Metachromasie de Pearse qui permet de mettre en évidence les groupements SS par une coloration rose,
  - La technique de Chevromont et Fredericq qui met en évidence les groupement SH par une coloration bleu de Prusse.



Figure n° 1

Coupe d'estomac cardia et d'estomac pylorique.

(Bouin Hollande - Cleveland Wolff)

Grossissement : X 78

L'estomac cardia (en haut) se distingue nettement de la zone pylorique (en dessous).

Figure n° 2

Coupe d'oesophage.

(Bouin Hollande - Cleveland Wolff)

Grossissement : X 78

La paroi de l'oesophage apparait souvent très plissée.



## II - ETUDE DU TUBE DIGESTIF D'ASTERIAS RUBENS - COECUMS DIGESTIFS ET ESTOMAC

### Généralités

*Asterias rubens* possède comme toutes les *Asteries* un appareil digestif volumineux remplissant une grande partie du disque et des bras.

Connu depuis longtemps, dans ses grandes lignes, (travaux de Tiedemann 1816, de Müller et Troschel 1842), il a été également décrit par Cuenot (1887), Chadwick (1923), Anderson J.M. (1954-1960), chez des espèces voisines : *Asterias forbesi*, *Henricia*.

De la bouche, part un court oesophage qui se dilate rapidement en une cavité à parois minces, à nombreuses circonvolutions, le sac stomacal. Cet organe remplit pratiquement totalement la cavité du disque ; il est dévaginable et rétractile.

Chadwick (1923) divise ce sac stomacal en deux parties :

- la première portion, ou cardia, à parois minces, volumineuse ; se poursuivant par un court oesophage à parois plissées,
- un sac beaucoup plus petit, du côté aboral, le sac pylorique, séparé du cardia par une petite constriction.

Ces deux parties présentent quelques différences histologiques (Planche I, figures 1 et 2)

- De l'estomac pylorique partent 5 paires de coecums glandulaires, les coecums radiaux (une paire par bras).
- En plus, il existe 5 petits coecums, les coecums rectaux à fonction inconnue.

### Matériel et Méthodes

Les fragments de coecums radiaux et d'estomac ont été fixés au Bouin-Hollande, et pour leur étude histologique, colorés par la méthode de Cleveland-Wolf.

Fixés au Zenker-formol, ils ont été colorés par le Wolkomsky pour les recherches cytologiques.

En vue de l'étude histochimique, diverses réactions citées précédemment ont été réalisées sur coupes fixées au Bensley, Bouin-Hollande, formol salé.

## I - HISTOLOGIE

La paroi du tube digestif présente dans ses grandes lignes une structure homogène : elle comprend, de l'extérieur vers l'intérieur quatre couches :

- un épithélium péritonéal,
- une couche musculaire,
- une couche conjonctive,
- un épithélium interne glandulaire.

Nous décrivons d'abord la paroi de l'estomac et ses différentes couches pour ne fournir ensuite que les caractères particuliers propres aux autres parties du tube digestif.

### 1) L'estomac, portion cardia (portion orale) :

L'histologie de la paroi stomacale a été bien décrite sur des espèces voisines par Hamann (1885), Cuenot (1887), Chadwick (1923), Anderson (1954).

La paroi comprend 4 couches citées précédemment. Notre description concerne la paroi stomacale d'un individu male adulte (R = 10,4 cms), réolté en Août. (Tissus fixés au Bouin-Hollande, colorés au Cleveland-Wolf).

Nous pouvons distinguer, (Planche II, figures 1 et 2);

#### - La couche la plus externe ou épithélium péritonéal :

Cet épithélium péritonéal revêt tous les organes et notamment le tube digestif.

Cet épithélium, facilement identifiable, est formé de cellules cubiques renfermant un gros noyau, irrégulier, coloré en brun par l'hématoxyline de ~~Croft~~ (Fig. 1). Le nucléole bien distinct, apparaît comme un point foncé, généralement au centre du noyau.

- A la couche péritonéale fait suite une couche musculaire, colorée en rose par l'erythrosine, mince, au niveau du sac stomacal. Nous pouvons y distinguer 2 couches : une couche externe de fibres longitudinales qui apparaissent sur nos coupes transversales en sections circulaires de faible diamètre,

une couche interne de fibres circulaires, plus importantes, qui apparaissent quelquefois en fibres assez longues (Planche II, figure 2).

Les fibres musculaires sont lisses, homogènes ; les myofibrilles y sont à peine décelables. Les noyaux apparaissent logés dans une échancrure de

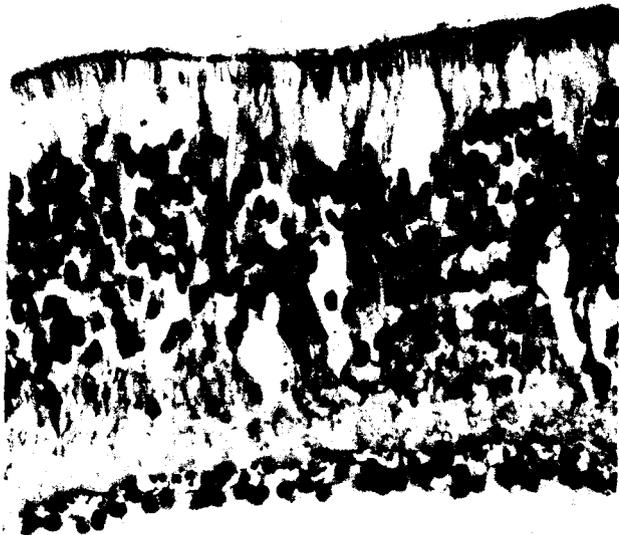


Figure n° 1

Coupe d'estomac cardia

(Bouin Hollande - Cleveland Wolff)

Grossissement ; X 360

On remarque successivement de bas en haut :  
- l'épithélium péritonéal cubique à noyaux fortement colorés, les sections transversales de fibres musculaires longitudinales, la couche conjonctive, l'épithélium digestif glandulaire dont l'épaisseur est importante ; on note vers la surface apicale, les racines ciliaires, les grains basaux et les cils vibratiles.



Figure n° 2

Coupe d'estomac cardia près de l'extrémité orale.

(Bouin Hollande - Cleveland Wolff)

Grossissement ; X 360

Nous pouvons distinguer nettement les sections transversales des fibres musculaires longitudinales et quelques fibres circulaires vues longitudinalement, les prolongements filiformes des cellules épithéliales.



la fibre où ils font saillie.

Cette couche musculaire se continue tout au long du Cardia avec une épaisseur constante.

- La couche musculaire est appliquée sur une couche conjonctive colorée en bleu par le bleu d'aniline.

La couche conjonctive envoie une lame soutenant l'épithélium glandulaire dans tous les plissements et villosités. Elle est formée de fibrilles et de substance fondamentale (Planche II - Figure 2).

Nous avons à faire là, d'après les travaux de Cuenot, Chadwick, Schmidt à une couche conjunctivo-nerveuse : il existerait au niveau de l'estomac une couche nerveuse relativement bien développée représentant à peu près 1/10 de l'épaisseur totale. Elle constitue la "nerve layer" de Chadwick (1923) ou le "neurofibrillar plexus" de Schmidt (1937).

Cette couche nerveuse subépithéliale apparaît uniformément dans la partie Cardia.

Elle augmente d'épaisseur jusqu'à la bouche ; elle présente souvent un aspect granuleux, et est traversée par les prolongements filiformes, en paquets, des cellules épithéliales, ce qui donne à l'ensemble un aspect festonné (Planche II - Figure 2).

De plus, parcourant cette couche, des fibres parallèles à la membrane basale de l'épithélium ; ces fibres ne sont pas de nature bien définie : il peut s'agir là de fibres de soutien ou de fibres nerveuses.

- La couche épithéliale glandulaire ou épithélium interne est très importante ; elle constitue plus des 3/4 de l'épaisseur de la paroi.

C'est un épithélium cylindrique, pseudostratifié, composé de hautes cellules étroites, intercalées de cellules sécrétoires ou glandulaires, dont la répartition varie avec les différentes parties de l'estomac.

Au niveau du cardia, nous distinguerons (Anderson 1954) :

- les cellules typiques, filiformes, dont les prolongements, rassemblés en faisceaux, atteignent et traversent la couche conjunctivo-nerveuse. Ces cellules sont probablement en rapport avec les fibres nerveuses. Les figures sont bien visibles dans des sections transversales de la paroi cardiaques, près de son extrémité orale (Planche II - Figure 2).

Les noyaux ovoïdes de ces cellules typiques, placés à des niveaux différents possèdent un nucléole apparent et montrent des amas de chromatine. Les terminaisons apicales des cellules typiques sont pourvues d'une importante ciliature, interrompue au niveau des cellules glandulaires (Planche IV - Figure 2). Chaque cellule est pourvue généralement de cils prenant naissance à partir d'un grain basal fortement coloré en rouge. L'ensemble des grains basaux forme une ligne bien marquée limitant l'épithélium glandulaire. De plus, sous le grain basal, on observe une racine ciliaire, en direction du noyau (Planche II - figure 1).

- Les cellules glandulaires intercalées entre les cellules typiques, varient en nombre le long de la paroi du cardia : elles sont plus abondantes près de l'extrémité orale (Planche II - Figure 2).

Ces cellules sécrétoires se composent d'un vaste élargissement en forme de coupe, se prolongeant par un col aminci, quelquefois, assez long, s'étendant jusqu'à la bordure libre de l'épithélium. Ce sont les cellules caliciformes. Le noyau de ces cellules est reporté à la base de celles-ci.

Elles apparaissent sur les coupes fixées au Bouin-Hollande, généralement vides, leur contenu ayant été détruit au cours des techniques histologiques (Planche II - Figures 1 et 2).

Sur des coupes fixées au formol-salé, colorées au Cleveland-Wolf, ces cellules caliciformes apparaissent soit colorées en bleu pale (coloration donnée en principe par les mucines), soit vidées de leur contenu, laissant voir un réticulum très net, clair, à larges mailles colorées par l'hémalum (Planche III - Figure 1).

Nous essaierons de déterminer, par des méthodes histochimiques, la nature du contenu des glandes caliciformes.

## 2) Passage cardia-oesophage, oesophage :

On retrouve les 4 couches précédemment décrites avec quelques différences :

L'épithélium péritonéal,

la couche musculaire, peu développée,

la couche conjonctivo-nerveuse, moins épaisse,

l'épithélium glandulaire : les cellules épithéliales sont un peu plus longues, la paroi devenant généralement plus épaisse, présentant des villosités.



Figure n° 1

Coupe d'estomac, extrémité orale, à la limite estomac oesophage.

(Bouin Hollande - Cleveland Wolff)

Grossissement : X 360

Parmi les cellules spécialisées, très nombreuses, à noyau allongés, denses, sont intercalées des cellules glandulaires caliciformes et granuleuses.



Figure n° 2

Coupe d'estomac

(Bouin Hollande - Cleveland Wolff)

Grossissement : X 360

L'oesophage se caractérise par sa paroi plissée, une couche musculaire peu développée, une couche conjonctive moins épaisse.

Le contenu des cellules glandulaires granuleuses semble bien être expulsé dans la lumière oesophagienne.



Nous retrouvons à ce niveau les cellules épithéliales typiques, à noyaux ovoïdes, précédemment décrites. Les cellules glandulaires caliciformes, généralement vides de leur contenu, sont beaucoup plus nombreuses. En plus de ces catégories cellulaires déjà observées, on note la présence de cellules caractérisées par un noyau allongé, dense, fortement coloré en brun par l'hématoxyline de Groat, coloré en rose par le Schiff dans la technique de Feulgen-Rosenbeck (mettant en évidence l'acide desoxyribonucléique). Ces noyaux apparaissent soit homogènes, soit finement granuleux.

Ces cellules, à noyau très particulier, ont été désignées par Anderson (1954) sous le nom de cellules spécialisées. Le cytoplasme et les limites cellulaires ne peuvent être distinguées nettement, tant les cellules sont serrées à ce niveau (Planche III - Figure 1).

Il faut noter que ces noyaux allongés, en forme de fuseaux, ressemblent aux corpuscules décrits par Schmidt (1937) chez *Marthasterias*, et que Schmidt faisait appartenir à des cellules sensorielles primitives.

Au niveau de la zone de transition des cellules typiques et des cellules spécialisées, une multiplication de grains basaux est notable, de même qu'une multiplication des cils qui forment à la surface de l'épithélium un chevelu dense : d'après Anderson (1954), les cellules spécialisées porteraient 2 à 6 cils, chacun partant d'un grain basal.

Il existe aussi à ce niveau des cellules sécrétoires d'un autre type : ces cellules ont un aspect bien caractéristique, renferment des granules réfringents, d'une taille assez considérable, fortement colorés en rouge par l'erythrosine. La cellule apparaît formée d'un empilement de sphérules qui ne se touchent pas étant séparées par un réticulum (bien visible sur certaines glandes, en partie vidées de leur contenu). Ces cellules sont appelées cellules glandulaires granuleuses (Planche III - Figure 1).

La base de la cellule granuleuse semble contenir un noyau ovoïde nucléolé, mais il est difficile d'observer la partie basale de ces cellules.

Le contenu pourrait être expulsé au dehors, c'est-à-dire dans la lumière stomaco-oesophagienne : des granules de sécrétion sont éparpillés dans le chevelu des flagelles (Planche III - Figure 2).

Ces glandes granuleuses, parfois très longues et s'étendant presque jusque la membrane basale, présentent deux aspects différents : glandes en

grappe, où les sphérules sont tassés les uns sur les autres : cette figure pourrait correspondre à des cellules en pleine activité. (Planche III - figure 1).

L'aspect est tout à fait différent lorsque les cellules sont vides ; on ne voit plus que de grands filaments, présentant les formes les plus diverses.

Il faut noter aussi la présence d'assez nombreux granules épars, correspondant probablement au contenu de cellules granuleuses dispersé au cours des techniques histologiques.

Limitant cet épithélium glandulaire, nous retrouvons la ciliature toujours interrompue au niveau des glandes caliciformes ou granuleuses, très abondantes à ce niveau.

### 3) L'estomac pylorique :

La portion pylorique de l'estomac est semblable à celle de la partie cardiaque, toutefois, on n'y observe plus de cellules granuleuses, et les cellules caliciformes sont rares.

Les noyaux des cellules épithéliales apparaissent en section comme une bande large, bien définie : ce sont donc encore des cellules spécialisées. La membrane basale est pratiquement au contact de l'épithélium péritonéal, les éléments conjonctifs et musculaires n'y étant pratiquement pas discernables (Planche IV - Figure 1).

### 4) Coecums pyloriques ou coecums radiaux :

Morphologiquement, ce sont des diverticules du sac stomacal qui s'étendent dans la partie libre du bras.

La paroi présente les 4 couches précédemment décrites :

- un épithélium péritonéal, à cellules cubiques, dont les noyaux sont irréguliers, nucléolés, granuleux (amas de chromatine), colorés en brun par l'hématoxyline de Groat (Planche IV - Figure 2).

- la couche musculaire manque dans les coecums radiaux (Planche IV - Figure 2), elle est visible cependant en certains points de la préparation, colorée en rouge au Cleveland : ces zones correspondent probablement au point de départ des coecums radiaux, à proximité du sac stomacal.



Figure n° 1

Coupe d'estomac pylorique

(Bouin Hollande - Cleveland Wolff)

Grossissement : X 360

L'épithélium glandulaire, très épais, est formé surtout de cellules spécialisées, n'y observe pas de cellules granuleuses, mais uniquement quelques cellules caliciformes.

Les couches musculaire et conjonctive sont difficilement discernables.

Figure n° 2

Coupe de coecum pylorique

(Bouin Hollande - Cleveland Wolff)

Grossissement : X 360

Nous pouvons remarquer successivement de bas en haut : un épithélium péritonéal un épithélium glandulaire bien développé, limité vers la lumière du coecum, par une bordure ciliée ; trois zones se différencient par leur aspect : une zone infranucléaire, plus ou moins vacuolaire, une zone nucléaire, une zone supranucléaire granuleuse.



La couche conjonctivo-nerveuse, beaucoup moins importante, ne dépasse pas  $1/18$  de l'épaisseur totale, et diminue d'épaisseur au fur et à mesure que l'on s'éloigne du sac stomacal.

La couche épithéliale glandulaire, responsable de l'épaisseur de la paroi, présente un aspect vacuolaire dans son ensemble. Elle est composée d'une seule couche de cellules hautes, étroites, formant comme précédemment un épithélium cylindrique pseudostratifié, reposant au-dessus d'une membrane basale.

Nous pouvons distinguer (Planche IV - Figure 2) :

- Les cellules épithéliales typiques à noyaux ovoïdes granuleux, situés à des profondeurs variables de l'épithélium ; chaque cellule porte à sa surface un ou plusieurs cils, prenant naissance à partir de grains basaux fortement colorés et à ce niveau, le cytoplasme est fortement chromophile.
- On trouve en abondance, associées aux cellules épithéliales typiques des cellules glandulaires. Vidées de leur contenu, ou colorées en bleu par le bleu d'aniline, elles apparaissent de 2 sortes : les unes grandes, serrées, rondes, sont responsables de l'aspect vacuolaire ; les autres, de beaucoup plus petite taille, sont peu nombreuses. Ces cellules glandulaires s'ouvrent dans la lumière du coecum et la ciliature est interrompue à ce niveau.
- Intercalées parmi les cellules épithéliales typiques et les cellules glandulaires, nous pouvons observer de nombreuses cellules sécrétrices intensément colorées en rouge ; ces cellules sécrétrices présentent un aspect caractéristique en chapelets ; elles s'étendent jusqu'à l'extrémité libre de l'épithélium. En plus, il existe de nombreux granules rouges épars dans la cellule, plus abondants dans l'espace compris entre le noyau et la bordure ciliée. Certaines cellules, très riches en granules représentent sans doute des cellules particulièrement actives. Les cellules sécrétrices sont en nombre variable suivant les portions des coecums digestifs. Dans les zones très riches en granulations éparpillées, ces cellules sécrétrices sont rares.

Figure n° 1

Coupe d'estomac cardia (extrémité orale)  
(Helly - Volkonsky)

Grossissement : X 360

La partie gauche de la photo nous montre des cellules typiques, associées à des cellules caliciformes. Sur la droite de la photo, apparaissent quelques cellules spécialisées à noyaux allongés, accompagnées de glandes granuleuses.



Figure n° 2

Coupe de coecum pylorique  
(Helly - Volkonsky)

Grossissement : X 360

Les glandes granuleuses des coecums pyloriques sont associées à des vacuoles claires.



Donc, trois régions se différencient par leur aspect :

- la zone nucléaire,
- la zone infranucléaire (vers l'épithélium péritonéal),
- bleuâtre, où s'accumulent les glandes à aspect plus ou moins vacuolaire,
- la zone supranucléaire (vers la bordure ciliée), très granuleuse.

En plus des granules, il existe des concrétions de 3 ou 4 sphérules, de grande taille, colorés en rouge vif. Ces granules peuvent être de nature différente ou peuvent correspondre au point terminal d'évolution du contenu des glandes granuleuses.

La hauteur de cet épithélium est variable ; elle est nettement réduite dans les angles des nombreux replis.

## II - CYTOLOGIE

Sur des coupes fixées au Zenker - formol, colorées au Volkonsky nous retrouvons les différentes parties décrites précédemment :

- un épithélium péritonéal,
- une couche musculaire (au niveau de la paroi stomacale) colorée en rouge,
- une couche conjonctive colorée en jaune pâle,
- un épithélium glandulaire dans lequel la technique cyto-  
logique de Volkonsky met en évidence les caractères propres à chaque catégorie de cellules glandulaires.

Les cellules à noyaux ovoïdes ou cellules épithéliales typiques, sont associées aux cellules caliciformes colorées en bleu par le bleu de Volkonsky (Planche V - Figure 1).

Les cellules caliciformes présentent deux aspects que la coloration met en évidence ; des cellules à contenu floconneux, colorées en bleu pâle.

des cellules à contenu globulaire, plus fortement colorées ainsi que de nombreux granules éparpillés plus profondément dans les cellules épithéliales (figures correspondant probablement à différentes phases du cycle sécrétoire).

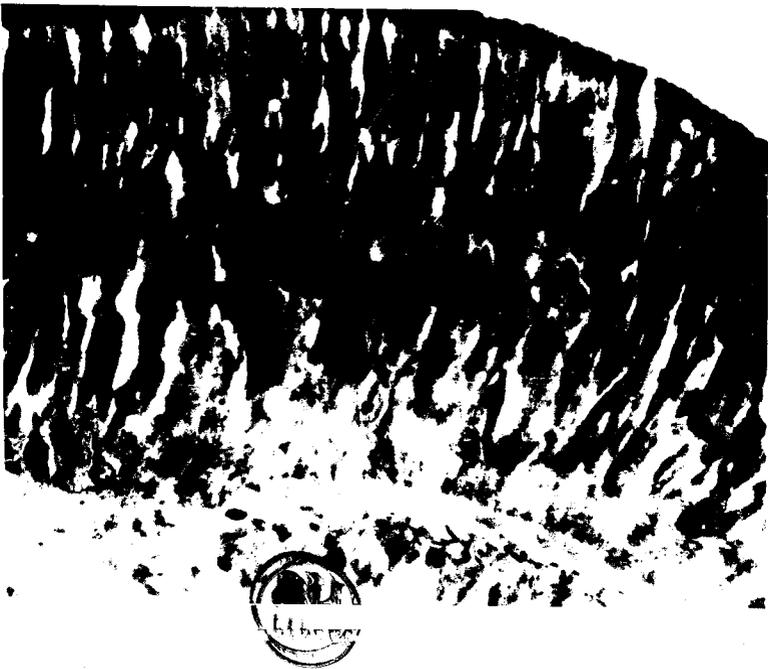
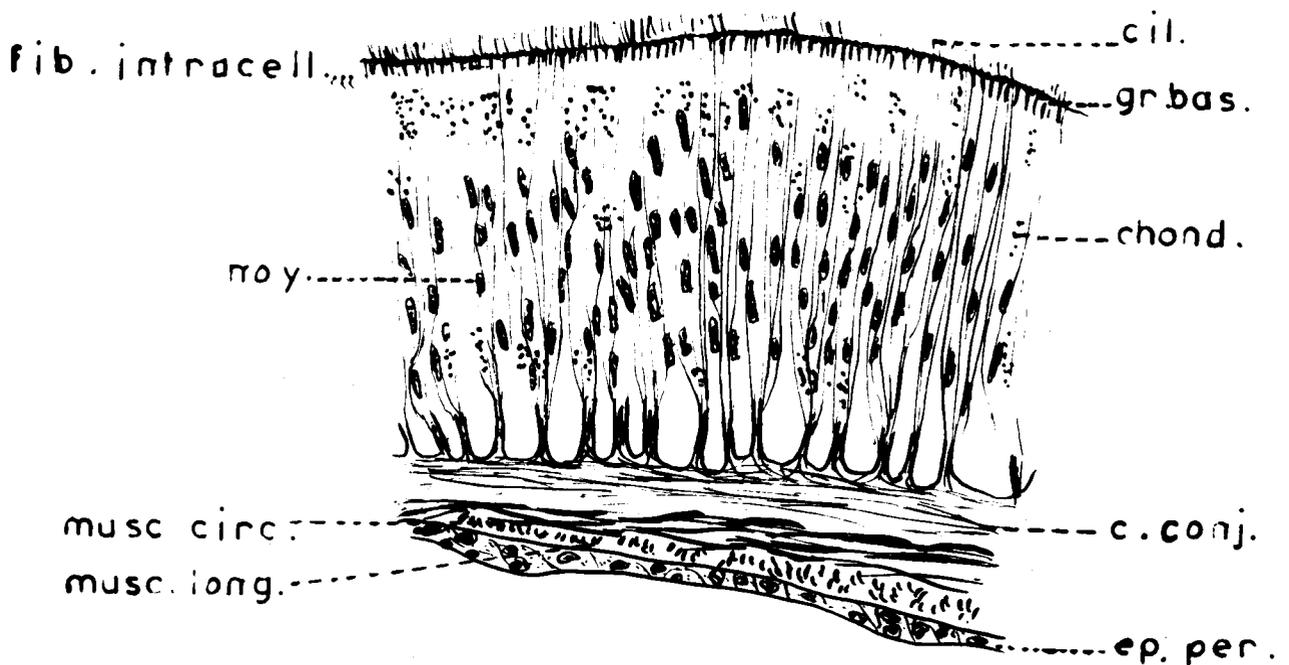


Figure n° 1

Coupe d'estomac pylorique  
(Helly - Volkonsky)

Grossissement : X 360

L'estomac pylorique est formé de cellules spécialisées. Les cellules caliciformes sont rares et étroites. On n'observe pas à ce niveau, de glandes granuleuses.



0 100μ



Figure n° 2 : Le chondriome se répartit en deux zones. (D'après une coupe d'estomac cardia, extrémité orale ; fixation au Helly, coloration par la méthode de Volkonsky).

Les cellules à noyaux allongés ou cellules spécialisées sont associées à de très nombreuses cellules glandulaires caliciformes bleues, et à des cellules sécrétrices granuleuses rouge violacé.

Ces cellules granuleuses apparaissent bien formées de sphérules disposés dans un réticulum. Les sphérules de petite taille prennent une coloration foncée ; quand la taille augmente, la coloration s'éclaircit, devient orangée.

Cette différence de coloration mise en évidence par la technique de Volkonsky correspond à des sécrétions de nature différente.

De plus, dans les glandes granuleuses des coecums, les amas de granules sont souvent accompagnés de vacuoles claires, phénomène jamais observé dans la paroi stomacale (Planche V - Figure 2). Ce fait remarqué par Anderson chez *Asterias forbesi* (1953) et *Henricia* (1960), n'est pas encore expliqué. Les granules prennent-ils naissance dans les vacuoles ? Nous n'avons pu vérifier cette hypothèse.

L'épithélium glandulaire se termine vers la lumière stomaco-oesophagienne par une ciliature bien développée. Il faut noter que le matériel associé à la bordure ciliée prend une coloration bleue au bleu de Volkonsky ainsi que certaines granulations éparses des pôles apicaux des cellules.

Dans les coecums pyloriques, la zone comprise entre le noyau et la bordure ciliée présente en plus, des plages donnant une coloration orangée diffuse.

Le chondriome, difficile à observer, apparaît sous forme de petites granulations, plus abondantes aux 2 pôles opposés de la cellule, apical et basal ; il est donc réparti en 2 zones, disposition fréquente dans les épithélium digestif (Planche VI - Figure 2).

### En résumé

La paroi digestive présente, tout au long du tractus digestif une remarquable unité de structure histologique. 4 couches sont présentes : une couche interne, épithélium glandulaire, muni d'une bordure en brosse, une couche conjonctive qui diminue d'épaisseur de la bouche à l'anus, et envoie

une lame soutenant l'épithélium glandulaire au niveau des plissements, une couche musculaire, mince, dans le sac stomacal et qui manque généralement dans les coecums radiaux.

Toutefois, les différentes parties du tractus digestif se différencient par la répartition et la densité des cellules glandulaires. Nous avons pu en distinguer deux catégories :

- les unes caliciformes, colorées en bleu ou Cleveland et Volkonsky, coloration donnée habituellement par les mucines : donc probablement, ce sont des cellules muqueuses,
- les autres, granuleuses, beaucoup plus importantes et plus nombreuses à la fin et au commencement du sac stomacal.

Nous allons essayer de déterminer la nature des réserves et des sécrétions d'un point de vue histochimique.

### III - HISTOCHIMIE

#### 1) Matériel et Méthodes

Les colorations pour la détermination des réserves et des sécrétions ont été exécutés parallèlement sur des coupes d'estomac (oesophage), et des coecums pyloriques. Les fragments de tissus ont été prélevés sur des animaux récoltés à 2 périodes différentes de l'année.

Les coupes ont été faites après inclusion à la paraffine et fixation au Bensley, formol salé ou Bouin Hollande.

Nous étudierons successivement les glandes de la paroi stomaco-oesophagienne et celles des coecums.

#### 2) L'estomac

Une coloration de Hochkiss Mac Manus (Periodic Acid Schiff = PAS) nous donne une réaction franchement positive.

Cette coloration n'étant pas spécifique des polysaccharides, nous avons pratiqué deux contrôles (dont le principe a été exposé précédemment) la confrontation des résultats nous a permis de conclure à l'existence de Polysaccharides.

- Où se localisent les polysaccharides ?



Figure n° 1

Coupe d'estomac cardia

(Bensley Periodic Acid Schiff)

Grossissement : X 360

Les parties apicales des cellules épithéliales présentent une réaction PAS positive (nombreux petits granules intensément colorés en rouge).

Figure n° 2

Coupe d'oesophage

(Bensley Periodic Acid Schiff)

Grossissement : X 360

Les glandes caliciformes que nous pouvons observer sur la photographie ont un contenu globulaire, intensément coloré. Les autres glandes caliciformes apparaissent vidées de leur contenu. Il faut remarquer aussi une réaction PAS positive au niveau de la bordure ciliée.



- Les parties apicales des cellules typiques présentent une réaction PAS positive : la coloration est rose diffuse, plus intense dans les replis de la paroi, correspondant à une différenciation distale en petits granules (Planche VII - Figure 1).

Dans quelques cellules typiques, les agrégats de granules sont plus importants.

- Les cellules glandulaires caliciformes présentent également une réaction PAS positive (Planche VII - Figure 2).

Nous retrouvons les deux aspects différents des cellules glandulaires : - glandes à contenu floconneux prenant une coloration rose violacé, plus ou moins diffuse,

- glandes à contenu globulaire prenant une coloration rose intense.

Ces deux aspects pourraient correspondre à deux étapes différentes dans le cycle sécrétoire.

- Les glandes granuleuses sont difficilement visibles sur les coupes fixées au Bensley. Cependant, nous avons pu observer une réaction PAS positive à leur niveau.
- Le matériel associé à la bordure ciliée présente une réaction PAS positive : il pourrait s'agir là, au moins pour une partie, à la source d'énergie pour les mouvements ciliaires.

Après acétylation, la coloration au PAS reste négative pour toutes les glandes caliciformes, granuleuses, pour les parties apicales des cellules typiques comme pour le matériel de la bordure en brosse.

Après libération par la potasse des groupements préalablement acétylés, une coloration PAS normale fournit à nouveau une réaction positive.

- Quelle est la nature de ces polysaccharides ?

Nous avons pratiqué une coloration PAS normale après action de l'amylase salivaire (30 minutes à 37 ° .)

Nous avons obtenu une réaction nettement positive pour toutes les parties citées précédemment.

L'action de l'amylase salivaire détruisant le glycogène, la réaction au PAS devient alors négative lorsqu'il s'agit de glycogène. Dans le cas présent, ce n'est donc pas du glycogène.



Figure n° 1

Coupe d'estomac cardia

(Bensley - Mucicarmin de Meyer)

Grossissement : X 360

Les glandes caliciformes se colorent intensément en rouge violacé.

Figure n° 2

Coupe d'estomac cardia

(Bensley Metachromasie de Pearse)

Grossissement : X 360

Nous pouvons remarquer une coloration intense au niveau du tissu conjonctif (collagène), des glandes caliciformes du matériel associé à la bordure ciliée. Quelques granules, colorés, sont également visibles.



La coloration à la gomme iodée nous donne une réaction faiblement positive pour les glandes caliciformes et pour le matériel associé à la bordure ciliée mais la coloration ne disparaît pas après action de l'amylase salivaire. Il ne s'agit donc pas de glycogène.

La méthode générale de Hochkiss Mac Manus, complétée par un PAS après diastase, une technique à la gomme iodée nous a montré l'existence de polysaccharides complexes auxquels nous avons appliqué des méthodes plus spécifiques pour déterminer leur nature.

- La technique du mucicarmin de Meyer colore en rouge violacé intense les glandes caliciformes, coloration donnée habituellement par les mucopolysaccharides acides (Planche VIII - Figure 1).

Cette coloration (toutefois moins intense) est également donnée par les granules épars, et le matériel associé à la bordure ciliée. Nous n'avons pas observé de glandes granuleuses donnant une réaction positive.

Les résultats donnés par la technique précédente sont superposables à ceux donnés par la métachromasie de Pearse (métachromasie pourpre par le bleu de toluidine pour les mucopolysaccharides acides) ; les poches mucoides, les granules épars, le matériel associé à la bordure ciliée se colorent en rouge violacé. La métachromasie pourpre est donnée aussi par le collagène du conjonctif (Planche VIII - Figure 2).

Les techniques de détection de l'acide hyaluronique (Kulmen) ne nous ont donné aucun résultat : nous pouvions d'ailleurs prévoir ce résultat, l'acide hyaluronique étant un polysaccharide qui augmente considérablement la viscosité des mucines, pouvant même provoquer leur durcissement.

Nous avons tenté ensuite de mettre en évidence les groupements SS et SH des protides. Deux techniques furent utilisées :

- la technique de Pearse qui met en évidence les groupements SS par une coloration rose à rouge violacé, colore fortement les glandes granuleuses, et certaines granulations éparses. La réaction, par contre, est négative au niveau du matériel associé à la bordure ciliée et au niveau des glandes caliciformes ; leur sécrétion se caractérise donc par l'absence de protéine possédant des groupements SS (Planche IX - Figure 2).



Figure n° 1

Coupe d'estomac (Extrémité orale)  
(Bensley - Pearce)

Grossissement : X 360

Les glandes granuleuses et quelques granulations éparses donnent une réaction positive.



Figure n° 2

Coupe d'oesophage  
(Bensley - Chevrement et Frédéricq)

Grossissement : X 360

Les glandes caliciformes et quelques granulations éparses donnent une réaction positive.



- la technique de Chevrement et Frédéricq qui met en évidence les groupements SH par une coloration bleue, nous donne un résultat inverse du précédent. Les cellules glandulaires caliciformes nous apparaissent en effet, soit vidées de leur contenu laissant voir un réticulum à larges mailles bleuâtres, soit saturées d'une sécrétion colorée en bleu. Cette réaction est également positive au niveau du matériel associé à la bordure ciliée : toute cette zone de la paroi stomacale est colorée en bleu clair.

La réaction est négative pour les glandes granuleuses, comme pour la plus grande partie des granulations des pôles apicaux des cellules (Planche IX - Figure 2).

La recherche des lipides a été effectuée sur coupes à congélation : la coloration au noir Soudan B met en évidence des glandes granuleuses noires : la réaction est donc positive pour ces cellules glandulaires (Planche X).

Certaines granulations éparses sont également sudanophiles, les cellules caliciformes présentent une réaction négative.

Il faut remarquer que les aspects observés par la méthode de Hochkiss Mac Manus et les techniques histochimiques sont superposables à ceux donnés par les techniques histologiques de Cleveland et Volkonsky.

Les glandes caliciformes renferment donc des mucopolysaccharides acides mis en évidence par les différentes techniques histochimiques : tissu donc <sup>basophile ou</sup> prenait une coloration bleue au Cleveland, bleue au Volkonsky.

Les glandes caliciformes secrètent donc des mucoprotéines acides.

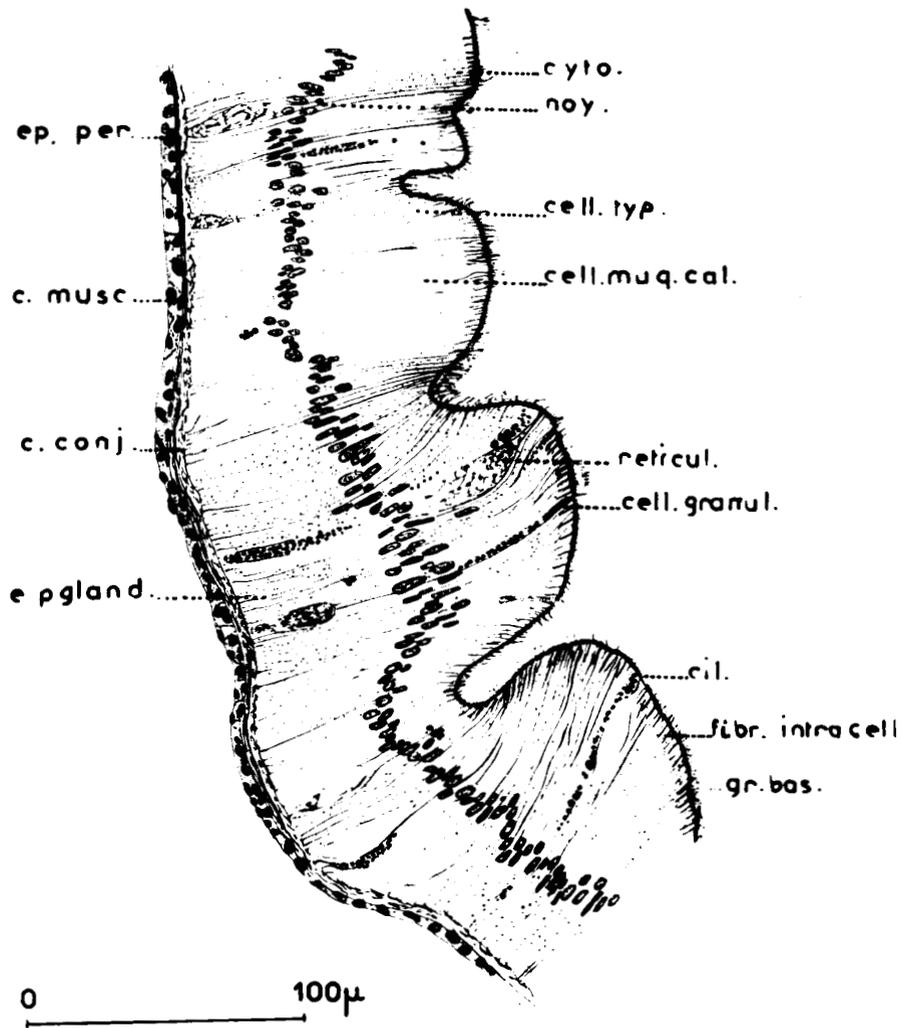
Les glandes granuleuses, comme les granulations des pôles apicaux des cellules typiques renferment également des mucopolysaccharides acides.

Ces mucopolysaccharides sont associés à des protéines renfermant des groupements SS et à des lipides.

Ces glandes granuleuses étaient fortement colorées en rouge par le Volkonsky et le Cleveland ; cette coloration est donnée par les tissus faiblement acidophiles. On pourrait donc penser qu'il s'agit là d'un complexe mucopolysaccharides protéine, à dominance protéinique.

D'autre part, nous avons signalé que les granules de plus grosse taille étaient colorés en orangé par le Cleveland, ce qui correspond

- PLANCHE n° X -



D'après une coupe d'estomac cardia (formol salé - Noir Soudan B)

Les glandes granuleuses et quelques granulations éparsees sont sudanophiles.

à des tissus fortement acidophiles : les granules sont constitués essentiellement de protéines associées à une faible quantité de mucopolysaccharide, probablement d'un autre type.

Le matériel associé à la bordure ciliée est de même nature que le contenu des glandes caliciformes muqueuses : mucoprotéines,

La faible réaction observée avec la gomme iodée au niveau des cellules glandulaires caliciformes et de la bordure en brosse peut être due à l'existence de ces protéines : nous savons en effet que cette réaction n'est pas spécifique du glycogène.

L'ensemble des résultats est récapitulé dans le tableau I.

### 3) Les Mucums

Comme pour les cellules glandulaires de l'estomac, nous avons recherché d'une manière générale les polysaccharides par la méthode de Hochkiss Mac Manus.

Cette réaction est fortement positive au niveau des poches mucoïdes, au niveau des glandes granuleuses, au niveau des granules épars des cellules épithéliales. La coupe présente une coloration rouge violacée intense. Les contrôles effectués (acétylation, libération des groupements acétylés par la potasse) nous permettent de conclure à l'existence de polysaccharides (Planche XI - Figure 1).

#### - Quelle est la nature de ces polysaccharides ?

Après action de l'amylase salivaire, la réaction PAS reste positive : ce sont donc des polysaccharides complexes.

Il faut noter cependant que nous obtenons une réaction faiblement positive après coloration à la gomme iodée, au niveau de la bordure en brosse, comme au niveau de certaines plages de cellules épithéliales. Cette réaction disparaît après action de la diastase salivaire : cette coloration est donc due à la présence de glycogène.

La technique du Mucicarmin de Meyer nous donne une réaction positive pour le matériel associé à la bordure ciliée.

L'ensemble de la préparation montre une coloration rose diffuse mais la réaction semble négative.



- TABLEAU I - PAROI de l'ESTOMAC -

	PAS	Acétyl + PAS	Acétyl Koh PAS	Diastase PAS	Gomme iodée	Muci- carmin	Kulonen	Metach de Pearse	Chevt et Frédé- ricq (SH)	Pearse (SS)	Noir Soudan B	Cleveland Velkensky		
Glandes caliciformes	+	-	+	+	(+ faible)	+	-	+	+	-	-	Colora- tion bleue tissus basophi- les (mu- cus).	Mucopolys. acides + Protéines (macroprotéines)	
Glandes granuleuses	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+	Col. rouge vif	Mucopolysacch. + protéines + lipides	
Granulations des pôles apicaux des cellules typiques.	+	-	+	+	-	+	-	+	et +	et +	+	Colora- tion rouge vif	Mucopoly. acides + protéines + lipides	
Matériel associé à la bordure en brosse.	+	-	+	+	(+ faible)	+	-	+	+	-	?	Colora- tion bleu clair	Mucopolys. acides + protéines	

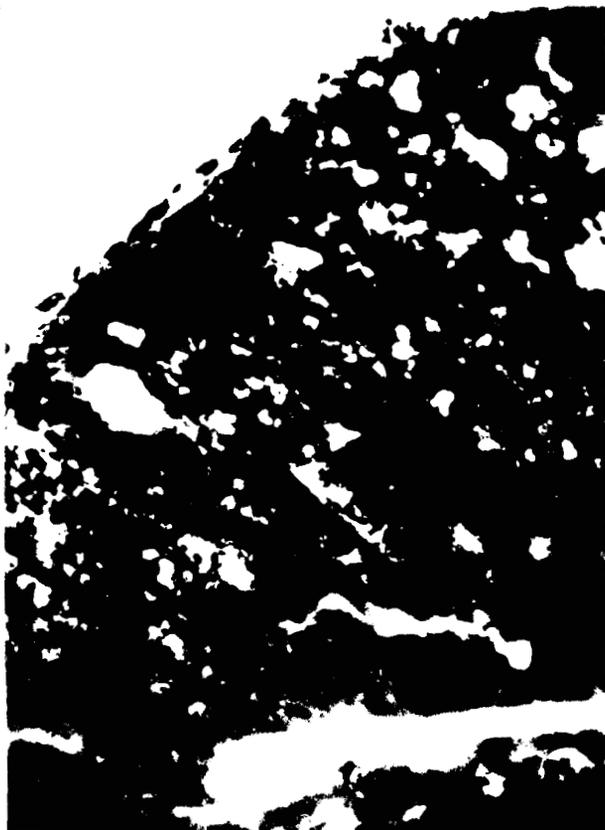


Figure n° 1

Coupe de coecums pyloriques  
(Bensley - Periodic Acid Schiff)

Grossissement : X 540

La réaction au PAS est très forte ; nous  
pouvons remarquer sur cette photographie  
l'abondance des granulations éparées,  
PAS-positives.

Figure n° 2

Coupe de coecums pyloriques  
(Bensley - Métachromasie de Pearse)

Grossissement : X 360

Les poches mucoides sont intensément  
colorées par cette technique.



La technique du bleu d'Alcian nous donne une réaction positive au niveau des poches mucoides : nous avons pu, en effet, observer une coloration bleuâtre à leur niveau.

Les glandes granuleuses, les granulations éparses sont colorés en rouge ; réaction donc négative.

La métachromasie de Pearse nous donne une réaction positive pour les poches mucoides : (coloration violacée intense), mais négative pour les granulations éparses (Planche XI - Figure 2).

Nous avons complété ces différentes techniques par celle, plus spécifique de Kulmen : nous avons obtenus une réaction négative.

Nous avons ensuite cherché à mettre en évidence les groupements SS et SH des protides : la technique de Chevremont et Frédéricq nous donne une réaction positive au niveau du matériel associé à la bordure en brosse, au niveau des poches mucoides (visible que sur un petit nombre d'entre elles, la plupart étant vidée de leur contenu).

Il faut également noter une coloration bleue diffuse des pôles basaux des cellules épithéliales, près de l'épithélium péritonéal.

De nombreux granules épars ne présentent pas de réaction positive et sont colorés en rouge vif.

La technique de Pearse nous donne une coloration rose diffuse, plus dense dans la zone comprise entre les noyaux et la bordure ciliée.

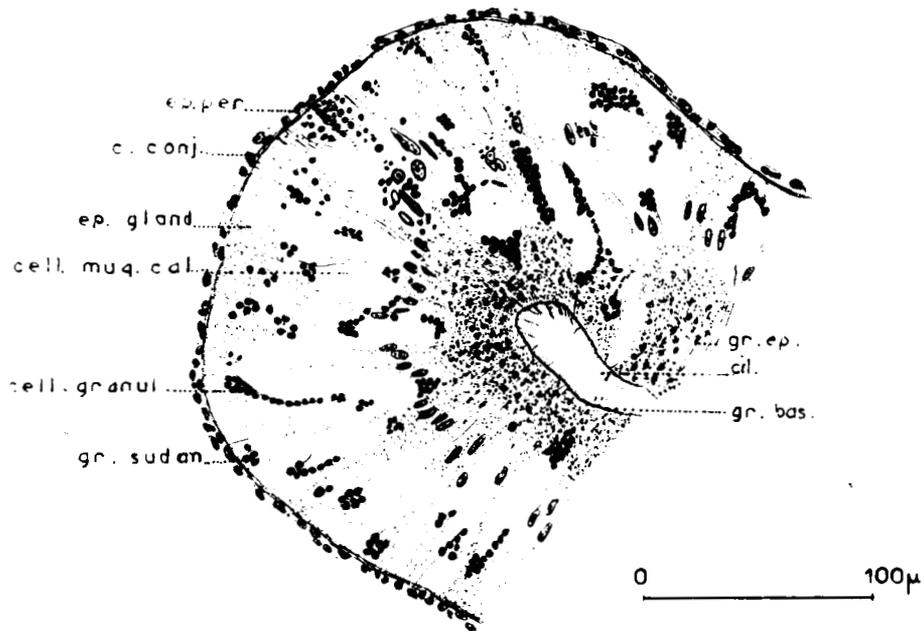
En plus, dix gros granules isolés sont colorés en rouge violacé. Les poches mucoides donnent une réaction négative.

Des coupes à congélation ont été colorées au Noir Soudan B pour la mise en évidence des lipides : la réaction est positive pour les glandes granuleuses fortement colorées en noir.

En plus, il existe dans les cellules épithéliales des dépôts lipidiques sous forme de gouttelettes, surtout au-dessus, au-dessous du noyau. Les gouttelettes sont plus grandes, plus nombreuses dans les parties basales des cellules.

Au dessus de la région nucléaire, elles deviennent plus petites, plus espacées (Planche XII).

- PLANCHE n° XII -



D'après une coupe de coecums pyloriques (Formol salé, Noir Soudan B).

Nous pouvons remarquer les glandes granuleuses fortement colorées en noir, des amas de granules sudanophiles, surtout dans les parties basales des cellules.

L'ensemble est très granuleux, mais toutes les granulations ne sont pas sudanophiles.

Les résultats ont été récapitulés dans le tableau II. Ils sont superposables à ceux donnés par les techniques de Cleveland et Volkonsky : dans ces deux techniques, les poches mucoides, la bordure ciliée, prennent une coloration bleue caractéristique des tissus basophiles.

Les glandes muqueuses sécrètent des polysaccharides acides associés à des protéines.

Les glandes granuleuses sécrètent des mucopolysaccharides associés à des protéines et des lipides.

Les glandes éparses sont de nature variée (polysaccharides complexe, glycogène, lipides, protéine).

Le matériel associé à la bordure ciliée est constitué essentiellement de polysaccharides acides et de protéines.

#### IV - CONCLUSION

Nous pouvons remarquer que les mêmes cellules glandulaires ont été trouvées dans la paroi stomacale et dans celle des coecums : ce sont les cellules caliciformes et les cellules granuleuses.

Cependant, les parois de l'estomac et des coecums branchiaux se différencient par la densité et la nature des granulations éparpillées dans le cytoplasme des cellules épithéliales.

Les cellules caliciformes sont très nombreuses au niveau de l'oesophage de l'extrémité orale du cardia et des coecums pyloriques : elles sécrètent des mucines qui protègent le tube digestif d'une autodigestion par les enzymes.

Nous avons pu observer deux aspects différents : soit fortement colorées avec un contenu globulaire, soit faiblement colorées avec un contenu floconneux, grumeux : les premières pourraient être en phase pré-sécrétoire. Ces colorations semblent correspondre à des substances pré-mucigènes, formées de protides et de polysaccharides non masquées qui donnent une forte réaction.

La faible colorabilité des autres cellules caliciformes nous autorise à penser que ces substances sont des mucines où les caractères des polysaccharides sont masqués par la combinaison plus étroite avec les



- T A B L E A U II - COECUMS PYLORIQUES -

	PAS	Acetyl + PAS	Acétyl Koh PAS	Diastase PAS	Gomme iodée	Muci- carmin	Bleu Alcian	Metach Pearse	Kulonen	Chevt Frédé- ricq	Pearse	Noir Soudan B	Cleve land Volkon ky	
Poches mucoides	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	-	-	Colora- tion bleue (tissus basophi- les).	Polysac- charides acides + Protéines (Mucopro- téines)
Granules épars.	+	-	+	+	+ et -	+ et -	-	-	-	+ et -	+ et -	+ et -	Colora- tion rouge	Polysacch. acides + Protéines + lipides
Glandes granuleuses	+	-	+	+	-	?	-	-	-	-	+ (?)	+	Colora- tion rouge	Mucopoly- saccharide + Protéines + lipides
Matériel asso- cié à la bordu- re ciliée	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	Colora- tion bleue (tissus basophi- les).	Polysacch. acides + Protéines

protides : les cellules seraient donc en pleine phase sécrétoire.

Les cellules granuleuses sécréteraient des sucs digestifs et seraient donc responsables de la digestion diastasique des protides, glucides, et lipides.

Nous avons observé deux aspects différents de ces glandes se manifestant par des colorations variables : il peut donc s'agir là de glandes sécrétant des enzymes de nature différente.

D'autre part, les granulations des cellules épithéliales de l'estomac concentrées aux pôles apicaux de ces cellules, se comportent vis à vis des réactions histochimiques comme le contenu des glandes caliciformes, mais la forme et la répartition sont différentes des sécrétions muqueuses. Certaines cellules épithéliales en sont particulièrement riches et présentent une coloration rose claire au PAS, une métachromasie légère au bleu de toluidine : ces cellules pourraient sécréter des mucines associées à des enzymes.

Ces cellules sont caractéristiques de l'estomac, plus nombreuses dans l'oesophage, et à l'extrémité orale du cardia.

De plus, nous avons remarqué que la zone cytoplasmique près de la bordure ciliée était très chromophile : l'activité enzymatique serait donc très forte à l'extrémité libre des cellules, à travers la bordure ciliée et ceci au niveau de l'estomac.

Les granulations, très abondantes dans les cellules épithéliales de la paroi des coecums, correspondent à des réserves nutritives : ces granulations se distinguent des précédentes par leur taille, par l'absence de métachromasie au bleu de toluidine, par l'absence de coloration au bleu Alcian. Ces granulations sont constituées de polysaccharides complexes, de lipides, de protéines, et également de glycogène. Ces réserves résultent de l'absorption, après digestion, des glucides, des protides, des lipides. Nous avons pu remarquer la très grande abondance de granules lipidiques à ce niveau : il est possible qu'une partie des lipides passe dans les cellules épithéliales à la suite d'une simple émulsion. De plus, les zones des coecums, très riches en granules de réserves, présentent peu de glandes granuleuses.

Les cellules enzymatiques se rencontrent uniquement dans l'oesophage, le pylore et les coecums radiaux, elles font totalement défaut au niveau du cardia. Partiellement digérés au niveau de l'estomac, grâce aux sécrétions des cellules glandulaires, les aliments cheminent ensuite dans les coecums où est complétée la digestion par les mêmes enzymes.

En plus de ce rôle digestif, les coecums jouent aussi un rôle de réserve : c'est à leur niveau que sont élaborés en réserves les produits de la digestion.

Le trajet suivi par les aliments a pu être mis en évidence par Budington (1942), Anderson (1960), grâce à des injections de particules d'encre de chine : des courants se produisent dans la direction oral-aboral, de l'estomac cardia à l'estomac pylorique. La circulation des aliments se produit dans les coecums radiaux, sur le côté oral du canal médian de chaque coecum. Au niveau des ramifications, la circulation se fait ensuite suivant un mode circulaire, revenant dans le canal médian. Le retour à l'estomac pylorique se fait du côté aboral du canal. Ces courants internes des sécrétions et des aliments sont permis grâce aux longs flagelles des cellules épithéliales.

Or, nous avons pu remarquer de grandes variations dans la répartition et l'abondance des glandes enzymatiques des coecums radiaux. Ceci pourrait être en accord avec le trajet suivi par les aliments : les parois orales du canal médian, les ramifications des coecums sont probablement plus riches en glandes ; les portions des coecums, plus pauvres en glandes enzymatiques, plus riches en granules de réserves, correspondraient aux parois aborales.

Ces études histologiques, histochimique des coecums ont été faites sur un individu adulte, récolté à une époque de l'année où les coecums digestifs sont relativement bien développés. Or, au cours de l'année, ces coecums digestifs diminuent de volume et ils présentent une réduction maximum au cours de la période de reproduction. Nous examinerons donc des préparations faites sur des individus récoltés à la période de reproduction (récolte de Février).

De plus, il serait intéressant d'étudier expérimentalement les variations de ces sécrétions, de ces réserves dans des cas de suralimentation ou dans des cas de jeûne prolongé, de déterminer, par exemple, le premier produit de réserve utilisé. Il ne nous a pas été possible de faire ce travail expérimental.

### III - ETUDE DES GONADES

Les sexes sont séparés chez *Asterias rubens* : un cas d'hermaphrodisme a été cependant signalé par Retzius (L. Biologische Untersuchungen 1911).

Les glandes sexuelles, dont on ne peut distinguer le sexe à l'oeil nu, se forment aux dépens du cordon génital, prolongement direct de la glande ovoïde. Elles sont entourées par le sinus génital, dilatation du sinus périlémal.

Les gonades se présentent sous forme d'une paire de sacs par rayon. Ces sacs sont très lobés, ramifiés, situés librement à l'intérieur de la cavité périviscérale, ils sont attachés en un seul point à la paroi aborale du corps, près de l'extrémité proximale du bras.

Nous étudierons successivement les gonades femelles et les gonades mâles d'un double point de vue : histologique ~~que~~ histochimique.

#### I - Les Ovaires

##### a) Histologie

Chaque ovaire présente des aspects variés suivant l'état du cycle sexuel.

Nous prenons comme exemple une gonade femelle, prélevée sur un individu adulte (*Asterias* de rayon R = 10,2 cms), récolté en Septembre, à cette époque de l'année, les gonades et les coecums ont une importance à peu près équivalente.

Après fixation au Bouin-Hollande, coupe à la paraffine, nous avons pratiqué une coloration trichromique de Cleveland Wolf.

##### 1 - Les parois ovariennes

L'observation de ces parois est souvent difficile car les différentes couches cellulaires qui les forment sont étroitement appliquées les unes contre les autres.

L'aspect et la nature des formations pariétales sont bien connues depuis les travaux d'Hamann (1885), Cuenot (1887) sur les *Asterias* ; les parois ovariennes ont été bien décrites également par Delavant (1960) sur *Echinaster sepositus*.

Chaque ovaire est protégé par une membrane épithéliale l'épithélium péritonéal, qui revêt tous les organes internes. C'est une membrane mince, transparente, résistante qui, observée sur coupes semble être formée d'une seule couche de cellules.

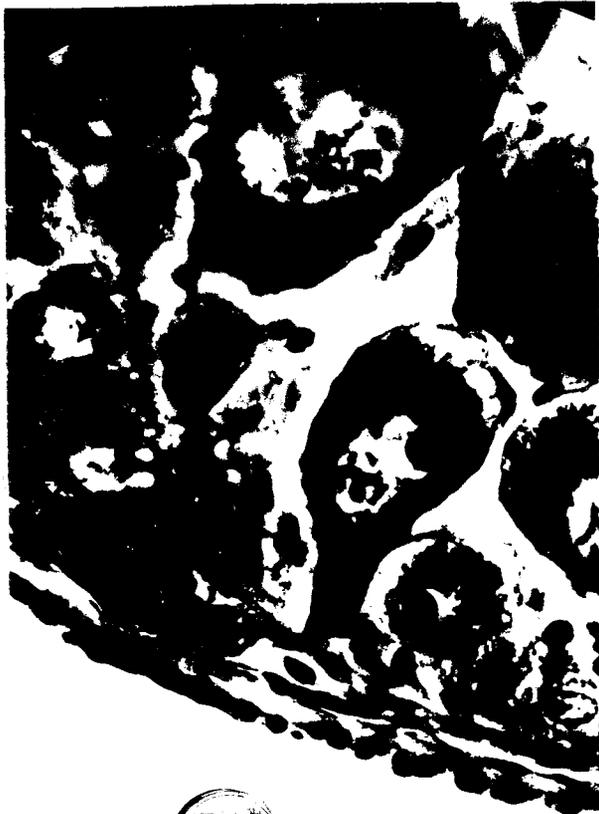


Figure n° 1

Coupe d'ovaire

(Bouin Hollande - Cleveland Wolff)

Grossissement : X 540

Nous pouvons remarquer successivement de bas en haut, l'épithélium péritonéal à noyaux irréguliers, la couche conjonctive et la couche musculaire constituant la paroi de l'ovaire.



Figure n° 2

Coupe d'ovaire

(Bouin Hollande - Cleveland Wolff)

Grossissement : X 78

Tous les ovocytes ont sensiblement la même taille.



Ces cellules apparemment cubiques présentent un gros noyau, irrégulier faisant souvent saillie, coloré en violet par l'hématoxyline de Great (Planche XIII - Figure 1).

A cet épithélium externe, fait suite une couche conjonctive colorée en bleu par le bleu d'aniline. Elle apparaît comme un feutrage fibrillaire très compact, pauvre en noyaux ; ces noyaux sont très petits, visibles que par place (Planche XIII - Figure 1).

En réalité, d'après les travaux de Hamann, cette couche conjonctive serait formée de deux lames conjonctives externe et interne, encadrant le sinus génital.

La troisième couche est une couche musculaire formée de fibres parfois longues, entièrement homogènes. Quelques noyaux visibles, petits, apparaissent logés dans une échancrure de la fibre (Planche XIII - Figure 1).

## 2 - Les ovocytes

Tous les ovocytes d'un ovaire ont sensiblement la même taille, si on excepte ceux qui bordent la paroi interne des glandes (Planche XIII - figure 2).

Delavaut (1960) a signalé une croissance synchrone des ovocytes dans la plupart des espèces gonochriques d'Asterides.

Ce sont ces cellules pariétales qui, augmentant de volume, se transforment en futurs œufs.

Cuenot décrit le noyau sous le nom de vésicule germinative et le nucléole est la tache germinative ou tache de Wagner. Le noyau est de grande taille (il peut atteindre 14 à 16  $\mu$ ), son contenu est très clair et on y observe des granules correspondant à la chromatine du noyau, très ténue, éparse dans le sac nucléaire. (Planche XIII - Figure 1).

Le nucléole, de grande taille (5 à 6  $\mu$ ) est bien distinct ; il occupe fréquemment une position excentrique. Il présente des vésicules plus claires, prenant le colorant difficilement (Planche XIII - Figure 1 ; Planche XV figure 2). (Ceci a été signalé déjà chez de nombreux ovocytes d'Invertébrés). Le cytoplasme présente un aspect granuleux et semble être assez dense (Planche XIII - Figure 1).

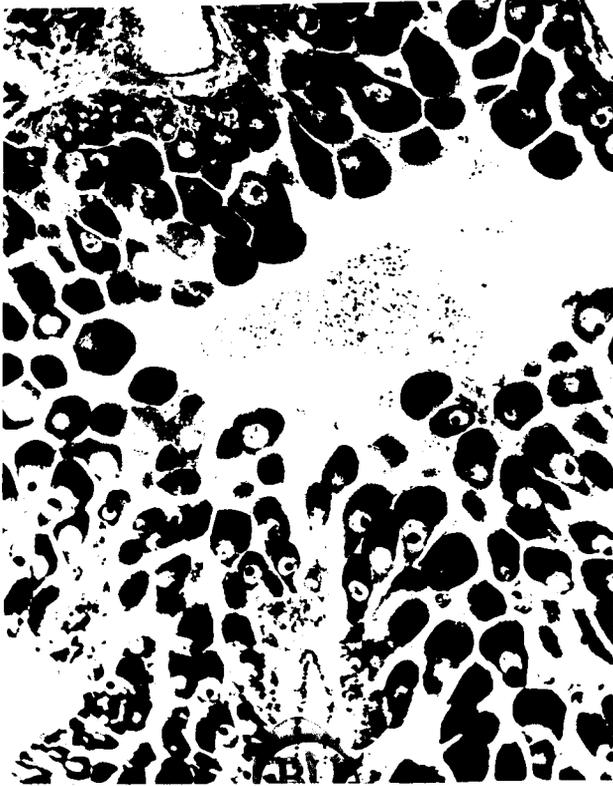


Figure n° 1

Coupe d'ovaire

(Bouin Hollande - Picroindigocarmin)

Grossissement : X 78

Nous pouvons remarquer au centre de l'ovaire des amas cellulaires particuliers : le tissu phagocytaire.



Figure n° 2

Coupe d'ovaire

(Bouin Hollande - Cleveland Wolff)

Grossissement : X 540

Cette photographie montre des canaux parcourant l'ovaire et de nombreuses cellules amoeboïdes.

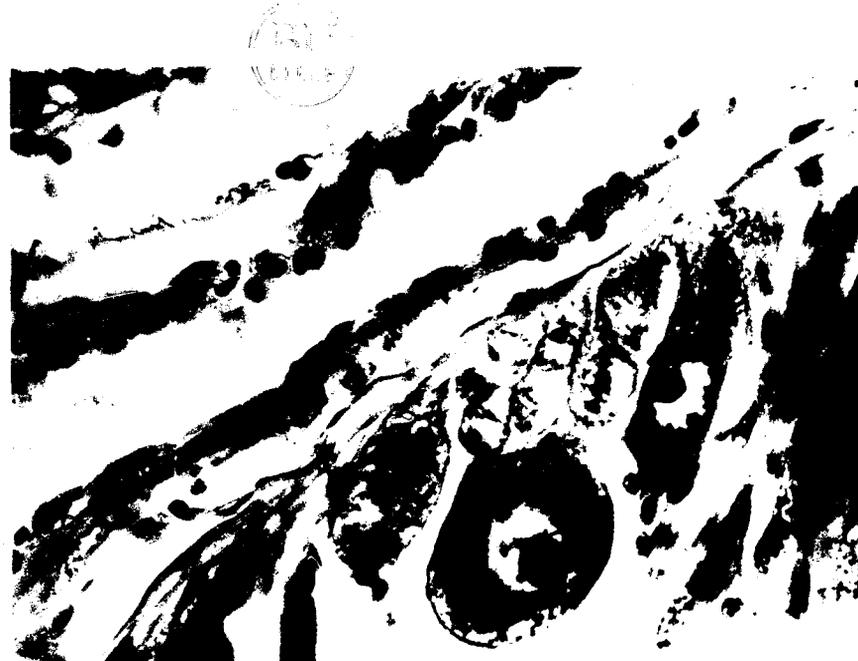


Figure n° 3

Coupe d'ovaire

(Bouin Hollande - Picroindigocarmin)

Grossissement : X 540

Nous distinguons de haut en bas l'épithélium péritonéal, la couche conjonctive, le canalicule périphérique longeant la couche musculaire. Les ovocytes pariétaux sont généralement pédonculés.

3 - Dans la cavité générale de l'ovaire existent des amas cellulaires qui diffèrent des ovocytes (Planche XIV - Figure 1). Ces amas cellulaires apparaissent soit au centre de l'ovaire, dans la cavité générale, soit près de la paroi, entre les ovocytes. Les cellules, d'aspect plus ou moins mesenchymateux, sont plus ou moins vacuolaires, parfois même amoéboides. <sup>Craib (1877) a décrit le premier chez les Schizosporidies des</sup> Cellules à allure d'énormes vacuoles, les cellules ont été retrouvées par Field (1895), Caullery et Siedlecki (1903) et elles auraient une fonction phagocytaire.

Plus récemment, Bacci (1949), Delavaut, Cognetti (1958) les ont retrouvées chez *Echinaster sepositus* et ont préféré la dénomination de tissu vésiculeux à celui de tissu phagocytaire, en raison de l'aspect de ces cellules.

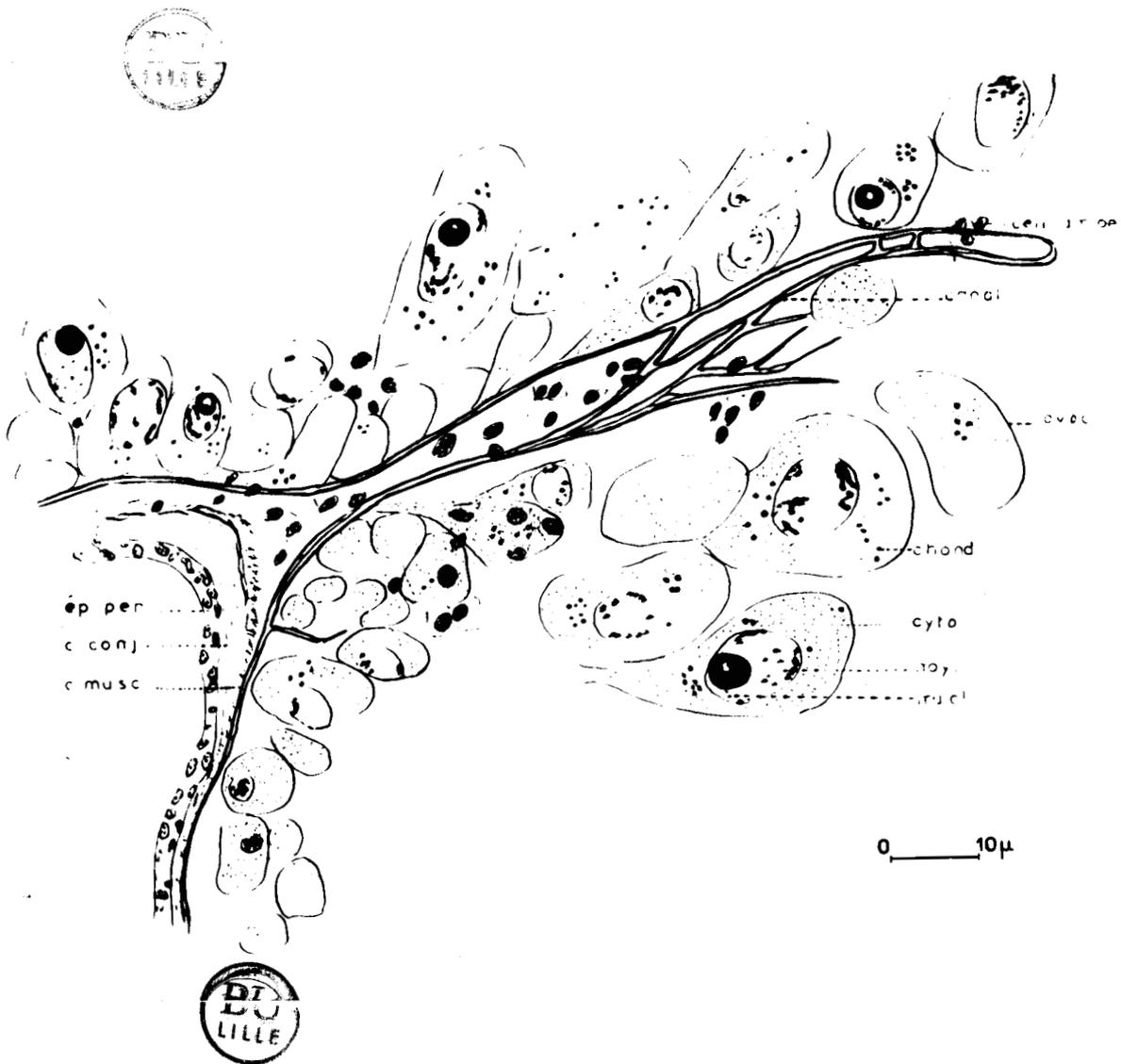
Parmi ces formations, sont bien visibles des vésicules germinatives des nucléoles, éléments résiduels d'ovocytes en voie de phagocytose.

En plus, de ces cellules groupées en amas, il faut noter la présence de nombreuses cellules étoilées, surtout bien visibles par leur noyau petit, fortement coloré. Il s'agit là, vraisemblablement d'amybocytes éparpillés dans l'ovaire, et jouant encore un rôle dans la phagocytose du tissu germinal non évacué (Planche XIV - Figure 2).

Ce tissu phagocytaire, quelquefois très développé chez des individus récoltés à cette époque de l'année, <sup>ne</sup> comble cependant jamais la cavité ovarienne, qui contient toujours quelques ovocytes.

4 - Nous pouvons observer dans les ovaires un réseau de canalicules (Planche XIV - Figure 2), se dilatant par place en vastes lacunes. Ce système de canalicules chemine le long de la paroi musculaire. Sur certaines préparations, ce réseau semble en communication avec les ovocytes : sur des préparations colorés au picri-indigocarmin, les canalicules sont colorés en bleu vert de même que les pôles des ovocytes qui semblent être en rapport avec eux. Les ovocytes parietaux, généralement pédonculés, communiquent probablement avec le canalicule périphérique (Planche XIV - Figure 3). Canalicules et lacunes se colorent en bleu dans la technique de Cleveland Wolf, Volkonsky, coloration donnée par les tissus plus ou moins basophiles.

- PLANCHE n° XV -



507

D'après une coupe d'ovaire fixée au Helly, colorée au Volkonsky.

Les mitochondries sont réparties irrégulièrement dans le cytoplasme des ovocytes.

La fuchsine paraldéhyde de Gabe, colore fortement l'ensemble en rouge violacé, coloration qui permet de mettre en évidence les mucopolysaccharides (après oxydation rapide par le  $MnO_4 K$ ). Nous essaierons donc par des techniques histochimiques de préciser la nature de ces formations.

La méthode de Volkonsky nous a permis de mettre en évidence le chondriome : ce chondriome est présent sous forme de granulations mitochondriales, de taille variable, répartis uniformément dans les ovocytes (Planche XV).

#### b) Histochimie

Nous avons essayé de déterminer la nature des polysides par diverses techniques exécutées sur des préparations fixées au Bensley.

La coloration de Hochkiss Mac Manus, technique pour la recherche générale des polysaccharides, nous donne une réaction fortement positive pour les canalicules, pour les lacunes et pour de nombreuses granulations contenues dans le cytoplasme des ovocytes.

Nous avons vérifié qu'il s'agissait bien là de polysaccharides par les deux controles : Acétylation suivie d'une coloration normale, Acétylation action de la potasse, coloration normale :

- Après acétylation, le PAS est négatif pour les canalicules, les lacunes, mais il faut noter la présence de fines granulations dans certains ovocytes ; ces granulations sont généralement groupés en amas à un des poles de l'ovocyte. Il existe donc dans les ovocytes, en plus des polysaccharides, une autre substance beaucoup moins abondante d'ailleurs.
- Une coloration à la gomme iodée nous donne une réaction faiblement positive (quelques granulations brunes) pour les ovocytes mais négative pour les canalicules et les lacunes.
- La technique au Mucicarmin de Meyer nous donne une réaction faiblement positive pour certaines granulation. (L'ensemble de la préparation est rose, ce qui rend difficile l'interprétation).
- La coloration au Bleu Alcian nous donne une réaction positive pour les canalicules. Lacunes et granulations prennent la coloration de fond.
- Un PAS, après action de l'amylase salivaire (à 37° pendant 30 minutes) nous donne une réaction franchement positive.

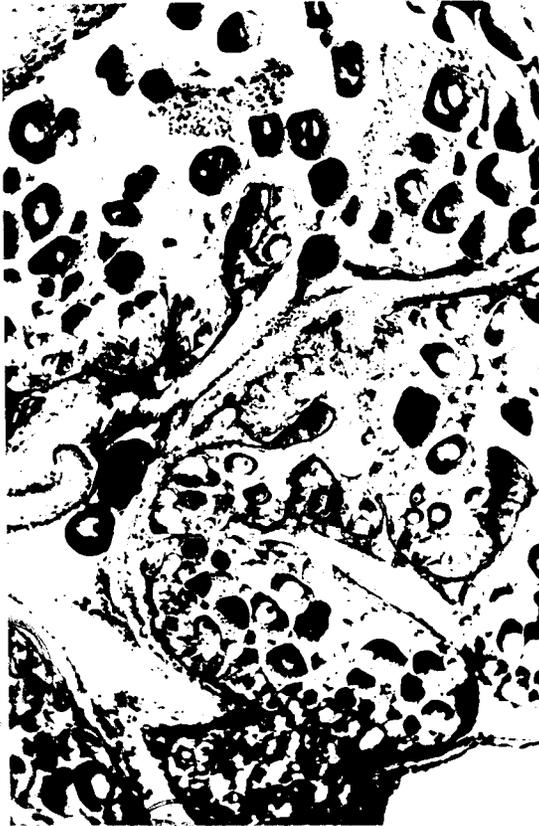


Figure n° 1  
Coupe d'ovaire  
(Bensley - PAS)  
Grossissement : X 78

Nous pouvons distinguer nettement le réseau de canalicules se dilatant parfois en lacunes donnant une réaction PAS positive, de même que les ovocytes.

Figure n° 2  
Coupe d'ovaire  
(Bensley - PAS)  
Grossissement : X 540  
Détail d'un ovocyte montrant les nombreuses granulations PAS positives du cytoplasme.



- Le métachromasie nous donne une réaction fortement positive, canalicules et lacunes sont colorées en rouge violacé. Les granulations des ovocytes sont faiblement colorées et sont généralement concentrés à un des poles de l'ovocyte.
- Le kulonen, réaction plus spécifique, nous donne une coloration noire (donc réaction positive) au niveau des canalicules, au niveau de certaines granulations, des ovocytes. Cette réaction caractérise un mucopolysaccharide acide, l'acide hyaluronique.

Nous avons complété cette étude histochimique par la recherche des protides et des lipides :

- La technique de Chevremont et Frédéricq colore en bleu (réaction donc positive) les canalicules, locunes et certaines plages des ovocytes (surtout sur le pourtour de ceux-ci). Les ovocytes présentent en plus une granulation fine coloré en rouge.
- La technique de Pearsé nous donne un résultat inverse : seules certaines granulations des ovocytes présentent une réaction positive et sont colorés en rouge violacé.
- La coloration au noir Soudan B sur coupes à congélation nous donne une réaction fortement positive pour les granulations des ovocytes. Il ne nous a pas été permis de conclure pour le système de canalicules et lacunes (Planche XVII).

En conclusion, nous pouvons donc remarquer que les canalicules renferment des polysaccharides acides (dont une partie est constituée d'acide hyaluronique), des protéines (à groupements SS) qui peuvent être associées à des polysaccharides sous forme de glycoprotéides. Ces substances polysaccharides, glycoprotéidiques se retrouvent dans les lacunes

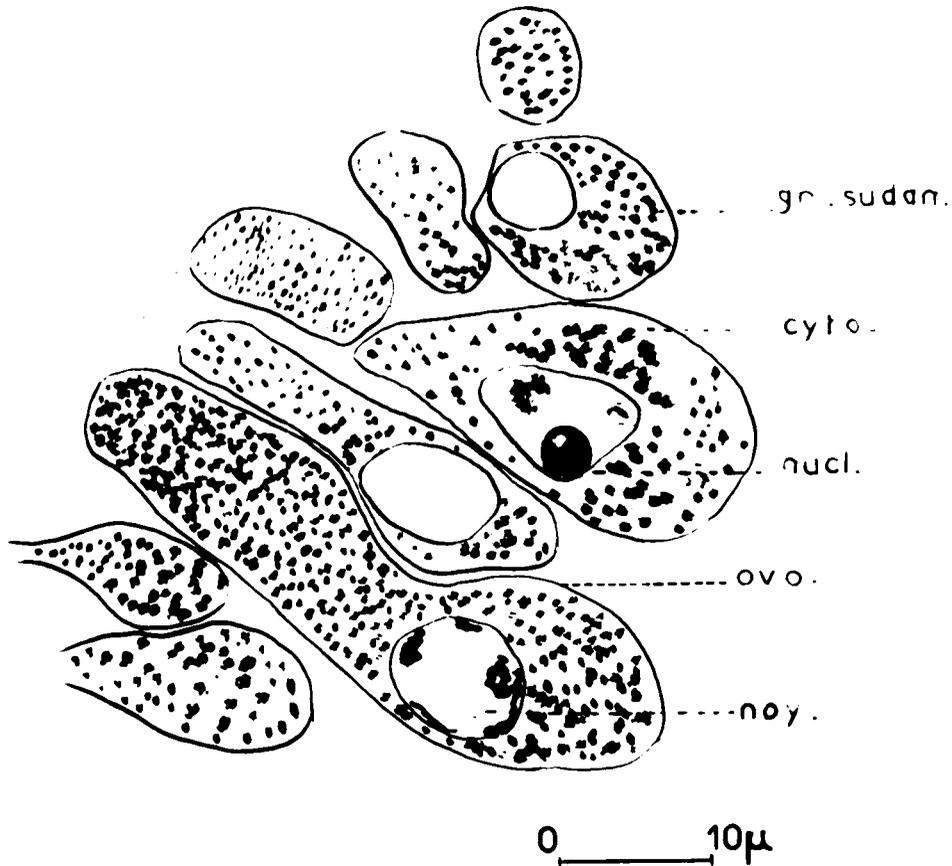
Les granulations des ovocytes sont de nature diverse : mucopolysaccharidique (avec acide hyaluronique), glycoprotéidique, (à la fois protéines à groupements SS et SH) et glycolipidique (Tableau III).

- Quelle est l'origine de ces formations canaliculaires ?



- T A B L E A U III - O V A I R E -

	PAS	Acetyla- tion + PAS	Acetyla- tion Koh PAS	Amylase sali. + PAS	Gomme iodée	Muci- carmin (?)	Bleu Alcian	Metach masie	Kulonen	Chevre- mont (SS)	Pearse (SH)	Noir Soudan B	Cleve- land Volkm ky	Résultats
Canalicules	+++	—	+++	+++	—	+	+	+++	+	+	—	?	colo. bleue	Mucop. acides + protéines
Lacunes	+++	—	+++	+++	—	+	+	+++	—	+	—	?	colo. bleue	Mucopoly. acides + protéines
Granulations des ovocytes	+++	+ et —	+++	+++	+ et —	+ et —	—	+++	+ et —	+ et —	+ et —	+++	colo. de fond	Mucopoly. acides + protéines (SS SH) + lipides



D'après une coupe d'ovaire fixée au formol salé, colorée au Noir Soudan B.

De très nombreux granules du cytoplasme des ovocytes sont colorés par le Noir Soudan B.

Chadwick (1923) signale l'existence de plages de tissu hémal provenant de l'anneau sanguin aboral, s'étendant jusqu'aux racines des gonades. Ces plages se ramifient en petites branches dans les parois des gonades.

Nous savons d'ailleurs que la gonade est entourée par un sinus gonadique, dilatation du sinus péritonéal.

Ces ramifications du sinus hémal apporteraient les substances nécessaires à la nutrition de la gonade : ceci confirmerait le fait observé : communication entre ovocytes et canalicules.

## II - Les Testicules

### a) Histologie

La structure histologique des testicules sera décrite d'après l'observation de coupes faites sur des gonades d'un individu adulte (R : 10,4 cms), récolté en Septembre.

#### 1 - La paroi testiculaire

est comparable à celle des ovaires : nous retrouvons un épithélium péritonéal externe, une couche conjonctive, relativement importante, une couche musculaire - (Planche XVIII - Figure 2).

#### 2 - Les cellules sexuelles

de petite taille par rapport aux ovocytes, sont disposés régulièrement à la périphérie et forment des colonettes. (Planche XVIII - Figure et 2).

D'après les travaux de Delavaut, cet aspect varie suivant le cycle **sexuel** : disposée en colonette au cours de la spermatogenèse, ces cellules apparaissent en grappe peu de temps avant la maturation.

Nous avons pu observer des figures de division au niveau des spermatocytes : toutes ces figures correspondent au même stade leptotène avec tassements des chromosomes vers un des poles du noyau (bouquets leptotènes) (Planche XIX - Figure 1).



Figure n° 1

Coupe de testicule

(Bouin Hollande - Cleveland Wolff)

Grossissement : X 78

L'ensemble des spermatocytes est disposé à la périphérie de la gonade ; au centre celle-ci, un amas de cellules amoéboides correspond au tissu phagocytaire.

Figure n° 2

Coupe de testicule

(Bouin Hollande - Cleveland Wolff)

Grossissement : X 540

Nous remarquons successivement de haut en bas : la paroi comprenant un épithélium péritonéal, une couche conjonctive une couche musculaire.

- Les colonettes de spermatocyte périphériques,

- Le tissu phagocytaire formé de cellules vacuolaires, plus ou moins amoéboides

Parmi ces cellules, nous pouvons distinguer des spermatocytes en voie de phagocytose.



3 - Un important tissu phagocytaire occupe le centre de la gonade : d'après Delavaut, ce tissu phagocytaire ne se trouve que dans les testicules ayant expulsé leurs spermatozoïdes. Les cellules de ce tissu présentent un aspect amoéboïde bien visible, et on peut observer sur certains points des spermatozytes en voie de phagocytose (Planche XVIII - Figure 1 et 2).

4 - Il existe dans les gonades mâles comme dans les gonades femelles un système de canalicules d'origine hémale. Ce réseau bien développé se colore en bleu au Cleveland ; il comprend un canalicule périphérique qui envoie des ramifications à l'intérieur de la gonade entre les cellules sexuelles (Planche XIX - Figure 1).

La technique de Volkonsky nous permet de mettre en évidence le chondriome qui apparaît sous forme de fines granulations, également réparties dans tout le spermatozyte.

#### b) Histochimie

Nous avons procédé, comme pour les gonades femelles aux différentes techniques histochimiques :

- Le PAS nous donne une réaction fortement positive pour les lacunes et canalicules (Planche XIX - Figure 2).

Après acétylation, le PAS est négatif, après libération des groupements acétyles par la potasse, la réaction est positive ce sont donc bien des polysaccharides.

Les techniques du bleu Alcian, métachromasie de Pearse, nous donnent une réaction positive.

Le Kulonen colore en noir le système de canalicules (réaction donc positive).

Le système de canalicule et de lacunes présente donc les caractères histochimiques identiques à celui des glandes femelles.



Figure n° 1

Coupe de testicule

(Bouin Hollande - Hématoxyline de  
Heidenhain)

Grossissement : X 540

Nous distinguons nettement la paroi et en particulier quelques fibres musculaires longeant la couche musculaire, le canalicule périphérique qui envoie des ramifications vers le centre de la gonade. Certains spermatoctes sont en division : les chromosomes sont tassés à un pôle du noyau, il s'agit vraisemblablement d'une fin de stade leptotène.

Figure n° 2

Coupe de testicule

(Bensley - Periodic Acid Schiff)

Grossissement : X 78

Les lacunes et les canalicules périphériques se colorent fortement au PAS.





Figure n° 1

Coupe d'ovaire d'une jeune femelle  
(Bouin Hollande - Cleveland Wolff)

Grossissement : X 78

Les ovocytes sont dans l'ensemble, de la même taille ; la croissance est synchron

Figure n° 2

Coupe d'ovaire d'une jeune femelle  
(Bouin Hollande - Cleveland Wolff)

Grossissement : X 540

Nous pouvons remarquer de haut en bas  
la paroi très mince, les cellules  
pariétales nombreuses (ovocytes en  
phagocytose, et cellules amœboides)  
Le cytoplasme des ovocytes est géné-  
ralement plus dense.



#### IV - VARIATIONS SUIVANT LA TAILLE DE L INDIVIDU, SUIVANT LA SAISON -

##### I) Matériel et techniques

Des fragments de coecums radiaux, d'estomac, de gonades ont été prélevés sur des animaux de petite taille récoltés en Septembre, comme les individus adultes, c'est-à-dire à la même période dans le cycle sexuel.

Des fragments des différentes parties ont été prélevés sur des animaux adultes récoltés en Février, époque où les gonades atteignent un développement maximum, les coecums un développement minimum. Nous étudierons d'abord les variations suivant la taille, puis suivant la saison.

##### II) Variations suivant la taille

###### 1 - Examinons d'abord les glandes génitales

a) Les ovaires : nous prendrons comme exemple une jeune femelle de rayon  $R = 3,9$  cms.

- la paroi de l'ovaire est beaucoup plus mince que chez l'adulte : l'épithélium péritonéal est bien représenté, mais la couche musculaire et la couche conjonctive sont peu développées (Planche **IX** - Figure 2).
- Les ovocytes sont pour la plupart, de taille identique (Planche **XX** - figure 1) (donc croissance synchrone) mais nettement inférieure à celle des ovocytes d'un adulte. Le cytoplasme pariétal est plus homogène ; l'ensemble de la cellule est moins vacuolisée (Planche **XX** - Figure 2). De plus, le long de la paroi de l'ovaire, il existe un grand nombre de cellules pariétales qui ne semblent pas devoir évoluer, en effet, parmi ces cellules, on peut remarquer des cellules amoéboides nombreuses et des ovocytes en voie de phagocytose (Planche **XX** - Figure 2).
- Le système de lacunes et canalicules est bien développé, de même nature histochimique que chez l'adulte.
- Le tissu phagocytaire bien développé est surtout pariétal ; il présente l'aspect vacuolaire caractéristique. Il se présente en amas bien définis, différents des cellules amoéboides éparpillées citées précédemment. Au sein de ce tissu phagocytaire, on peut observer de nombreux ovocytes en dégénérescence (Planche **XXI** - Figure 1 ).



Figure n° 1

Coupe d'ovaire (jeune femelle)

(Bouin Hollande - Cleveland Wolff)

Grossissement : X 540

Cette photographie montre le tissu phagocytaire pariétal très développé.

Parmi les cellules amoeboïdes, on peut distinguer des ovocytes en dégénérescence.



Figure n° 2

Coupe de testicule (jeune mâle)

(Bouin Hollande - Cleveland Wolff)

Grossissement : X 540

De haut en bas, nous distinguons la paroi comprenant un épithélium péritonéal, une couche conjonctive, une couche musculaire, un canalicule périphérique, des colonettes de spermatocytes.



Figure n° 1

Coupe de testicule (jeune mâle)  
(Bouin Hollande - Cleveland Wolff)

Grossissement : X 540

Le tissu phagocytaire est bien développé  
on distingue nettement des spermatoctes  
en voie de phagocytose.



BU  
LE

b) Les testicules : sont étudiés d'après des préparations faites chez un individu mâle, jeune, de rayon R = 4,7 cms.

- la paroi est mince par suite du faible développement des couches musculaire et conjonctive.
- Les lacunes et canalicules sont bien développés
- Les spermatoctyes, de taille semblable à celle observés chez l'adulte présente l'aspect en colonettes caractéristiques à cette période du cycle sexuel (Planche XXI - Figure 1).
- Le tissu phagocytaire, essentiellement central, y est très développé, plus dense : les cellules amoeboïdes sont nombreuses. Parmi elles, on peut observer des spermatoctyes en voie de dégénérescence (Planche XXII).

2 - Estomac et coecums digestifs : ne présentent pas dans l'ensemble de différence : les glandes granuleuses et muqueuses y sont bien représentées. Nous pouvons simplement remarquer que les cellules épithéliales qui renferment les réserves nutritives (granules épars) sont généralement plus étroites.

Donc, même chez les jeunes individus, l'équipement enzymatique est bien représenté, tout au point de vue importance qu'au point de vue variété des enzymes.

Les glandes génitales sont différenciées très tôt. Le grand développement du tissu phagocytaire chez des formes très jeunes nous conduit à nous demander si cette phagocytose des cellules sexuelles ne correspond pas à la nutrition des cellules en croissance plutôt qu'à l'élimination de résidus des lignées germinales.

### III) - Variations saisonnières

Nous examinerons successivement les glandes génitales mâles et femelles et l'appareil digestif (sur des individus adultes).

#### 1 - Les testicules

Récolté en Février, les individus mâles sont à un stade du cycle sexuel proche de la maturation : les colonettes spermatiques sont fortement racourcies, les spermatoctyes restent associés en grappes de taille variable (Planche XXIII - Figure 1).



Figure n° 1

Coupe de testicule

(Bouin Hollande - Cleveland Wolff)

Grossissement : X 540

Les spermatocytes sont disposés en grappes plus ou moins importantes.



Figure n° 2

Coupe de testicule

(Bouin Hollande - Cleveland Wolff)

Grossissement : X 540

Le tissu phagocytaire est encore bien développé.

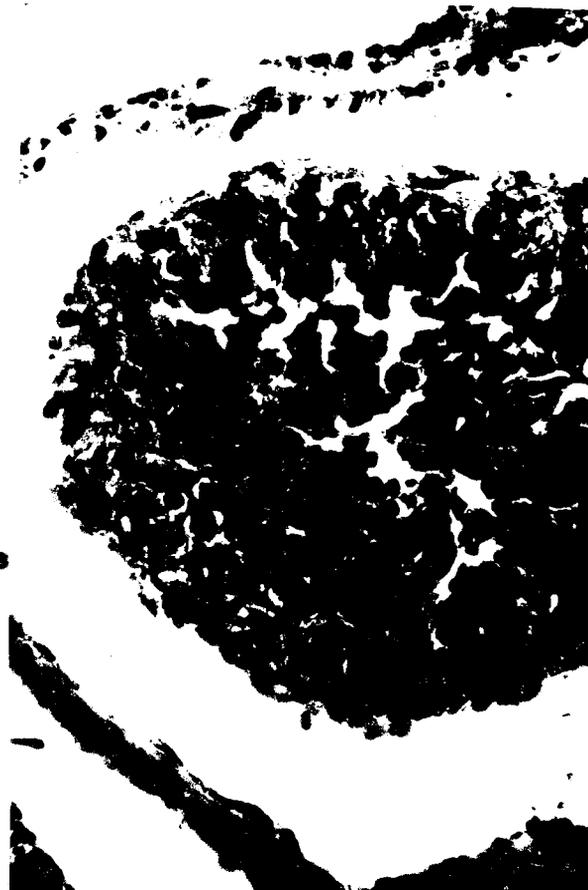




Figure n° 1  
Coupe de testicule  
(Helly - Volkonsky)  
Grossissement : X 360

Figure n° 2  
Coupe de testicule  
(Helly - Volkonsky)  
Grossissement : X 360

Les granules rouges sont visibles dans le tissu phagocytaire, ou parmi les spermatocytes. Ils apparaissent sur ces deux photographies sous forme de granules noirs de taille variable.



En même temps que s'accomplit la spermatogenèse, les parois s'amé-  
rissent.

Le tissu phagocytaire est encore bien développé (Planche XXIII -  
figure 2). Dans ce tissu phagocytaire et parmi les spermatoctes, nous  
avons pu observer sur quelques coupes colorées par la technique de  
Volkonsky, des granules rouges vifs (Planche XXIV - Figure 1 et 2). Nous  
n'avons pas pu déterminer la nature précise de ces granules ; des frag-  
ments de gonades prélevés sur le même individu, mais fixés par d'autres  
fixateurs ne nous montrent aucun granule : ces formations pourraient  
être détruites par ces différents fixateurs.

On peut se demander si ces granules ne correspondraient pas aux  
granules "jaunes" signalés par de nombreux auteurs chez les Echinoder-  
mes qui résulteraient de la phagocytose des gamètes. (Giard 1877 sur des  
Oursins, Delavut et Cognetti 1958 et 1960, chez Echinaster sepositus,  
Field 1895, Caullery et Siedlecki 1903, sur les gonades des Echinidés).

Delavut (1960) signale que ces granules apparaissent dans les  
glandes mures, qu'ils sont visibles dans les gonades femelles comme dans  
les gonades males. Mais contrairement au tissu phagocytaire, il n'y a  
qu'un petit nombre d'ovaires et de testicules qui en contiennent, les  
autres en sont totalement dépourvus.

## 2 - Les Ovaires

Les gonades présentent un développement considérable : le moment de  
la ponte chez *Asterias rubens*, se situe aux environs des mois d'Avril ou  
Mai.

Dans ces ovaires arrivés à maturité sexuelle, peu de temps avant la  
ponte, les gros ovocytes âgés dominent. Les ovocytes petits sont en nom-  
bre réduit (Planche XXV - Figure 1). Les plus gros ovocytes présentent  
des granules abondants, fortement colorés au PAS, le cytoplasme prend  
un aspect plus ou moins vacuolisé. Ces ovocytes apparaissent beaucoup  
plus riches en lipides. (Planche XXV - figure 2)

Le réseau de canalicules est très réduit ; il ne subsiste plus  
que de <sup>Muqueux</sup> mêmes canalicules, surtout le long de la paroi ; les lacunes ont  
totalement disparu (Planche XXV - Figure 2).

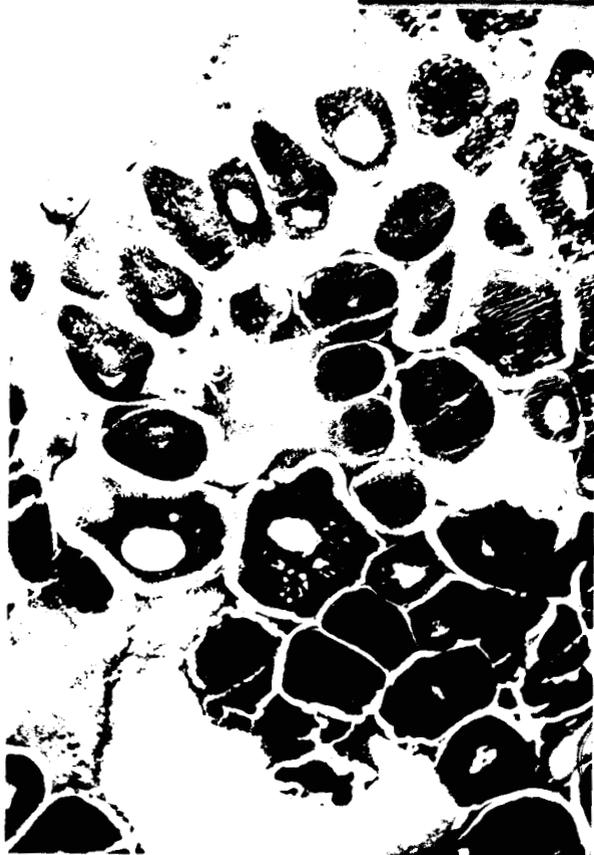


Figure n° 1

Coupe d'ovaire

(Bensley - Periodic Acid Schiff)

Grossissement : X 78

Les ovocytes de très grande taille dominant ; leur cytoplasme est plus ou moins vacuolisé. Le tissu phagocytaire (au centre et en haut à droite de la photographie) est formé de cellules très petites. Les lacunes ont disparu.

Figure n° 2

Coupe d'ovaire

(Bensley - Periodic Acid Schiff)

Grossissement : X 540

Les parois ovariennes sont très réduites. Les ovocytes sont riches en granules PAS positifs. A la périphérie subsiste un mince canalicule PAS positif.





Figure n° 1

Coupe d'estomac cardia

(Bouin Hollande - Cleveland Wolff)

Grossissement : X 360

Les glandes muqueuses sont nombreuses et bien développées au niveau du cardia (elles apparaissent vidées de leur contenu ou fortement colorées).



Figure n° 2

Coupe d'estomac cardia

(Extrémité orale)

(Bouin Hollande - Cleveland Wolff)

Grossissement : X 360

Les glandes granuleuses en chapelet sont beaucoup plus rares.



Ce système en rapport avec l'appareil hémal, apporterait les substances nutritives, les réserves aux cellules génitales (ovocytes surtout). Ces substances sont mises en réserve par les ovocytes à leur maturité : les vacuoles observées pourraient correspondre déjà à une utilisation partielle de ces réserves.

- Les parois ovariennes sont très réduites : on ne voit plus guère que la membrane la plus externe, les couches conjonctives et musculaires sont fortement amincies et à peine décelables (Planche XXV - Figure 2).
- Le tissu phagocytaire est beaucoup moins important : il se présente sous forme de plages à cellules petites, en voie de disparition, ou bien complètement absent (Planche XXV - Figure 1).

Delavaud a observé d'ailleurs chez *Astropecten bipinosus* (1962), chez *Echinaster sepositus* (1960) que le tissu phagocytaire faisait totalement défaut dans les gonades mûres. Ce tissu phagocytaire apparaît ensuite progressivement au fur et à mesure que la gonade reprend son activité génitale.

### 3 - L'appareil digestif

L'oesophage et l'estomac cardia se caractérisent par une abondance de glandes muqueuses donnant une coloration intense (Planche XXVI - Figure 1) elles secréteraient donc beaucoup de mucus, ce qui assurerait une protection plus efficace contre les enzymes et éviteraient ainsi une autéolyse : en effet, les glandes granuleuses, bien que plus rares et formées de granules plus petits, apparaissent plus actives (coloration très vive) (Planche XXVI - Figure 2 - Planche XXVII - Figure 1). Il faut remarquer aussi que les granulations des parties apicales des cellules sont beaucoup plus nombreuses (Planche XXVII - Figure 2). Le système enzymatique de l'estomac semble donc plus important.

Les coecums digestifs qui ont leur développement minimum à cette période de l'année ont, dans leur ensemble, un aspect beaucoup moins vacuolaire (Planche XXVIII - Figure 1) ; les glandes muqueuses sont peu nombreuses et beaucoup plus étroites, les glandes granuleuses sont très rares.

Par contre, les zones basale et apicale des cellules épithéliales sont très granuleuses,



Figure n° 1

Coupe d'estomac cardia (Extrémité orale)

(Beuin Hollande - Cleveland Wolff)

Grossissement : X 360

Un autre aspect des glandes granuleuses :  
Elles apparaissent formées d'une multitude  
de très fines granulations prenant très  
fortement les colorants histochimiques.



Figure n° 2

Coupe d'estomac cardia

(Bensley - Chevrement et Frédéricq)

Grossissement : X 360

Les glandes muqueuses, nombreuses,  
se colorent fortement, de même que  
de nombreuses granulations dans les  
parties apicales des cellules épithé-  
liales.





Figure n° 1

Coupe de coecums pyloriques

(Bouin Hollande - Cleveland Wolff)

Grossissement : X 78

L'ensemble des coecums est beaucoup moins vacuolaire.



Figure n° 2

Coupe de coecums pyloriques

(Bouin Hollande - Cleveland Wolff)

Grossissement : X 360

Nous pouvons observer quelques glandes muqueuses, vidées de leur contenu.

Les parties basales et apicales des cellules épithéliales sont très granuleuses.



Les réactions histochimiques ont mis en évidence les mêmes constituants : lipides, protéines, mucopolysaccharides complexes. Cependant, il faut noter l'absence de toute trace de glycogène. Il semble donc qu'à cette époque de l'année, les coecums pyloriques aient plus un rôle de réserves qu'un rôle digestif. De plus, si les lipides ou les lipoprotéines apparaissent constituer la majeure partie des réserves dans les coecums des animaux de Juillet, il est remarquable que les lipides sont beaucoup moins importants : mais seule une étude biochimique quantitative permettrait de mettre en évidence des variations, peut-être systématiques en rapport avec le cycle annuel de reproduction.

Parmi les différents groupes de substances observées, les lipides ou les lipoprotéines, sembleraient jouer un rôle important dans la maturation des gonades ; or, nous avons observé une plus grande richesse en lipides des gonades : quand la gonade augmente de taille, elle recevrait des lipides des coecums pyloriques au moins pour une partie.

Le glycogène semble également intervenir, mais il n'est pas un constituant essentiel.

Farmanfarman, Giex, Greenfield, Boolootian ont étudié quantitativement les teneurs en lipides, glucides, protides, eau et sels minéraux des coecums digestifs des gonades et du liquide périviscéral de quelques Echinodermes (*Strongylocentrotus franciscornus*, *Pisaster giganteus*).

Une telle étude pourrait donc être faite tout au long d'un cycle de reproduction, ce qui permettrait peut être de mettre en évidence des corrélations entre l'appareil digestif et les gonades et les voies d'échanges des substances nutritives. On pourrait rechercher également les conséquences du jeûne sur la maturation des gonades.

## C O N C L U S I O N

Les examens histologiques et histochimiques du tractus digestif et des gonades d'*Asterias rubens*, que nous avons effectués sur des exemplaires récoltés les uns en Février, les autres en Août et Septembre, nous ont amené à deux catégories de résultats :

1) Ainsi que nous l'avons exprimé, nous avons effectué sur les différentes parties de l'estomac, sur les coecums digestifs, sur les gonades males et femelles, des observations qui correspondent très exactement à celles réalisées par divers auteurs et en particulier par Anderson, Chadwick, Cuenot et Delavaut.

2) Nous avons été amenés au cours de nos observations histologiques, cytologiques et histochimiques à préciser les points suivants : les deux aspects différents des glandes muqueuses, la répartition du chondriome, la nature des polysaccharides et des protéines au niveau du tractus digestif et des gonades, les différentes sécrétions enzymatiques.

De plus, nous avons précisé les variations histologiques du tractus digestif qui consistent essentiellement en une différence de répartition des glandes granuleuses et muqueuses et une différence d'intensité de sécrétion, au cours du cycle de reproduction, et quelques variations suivant la taille de l'individu.

B I B L I O G R A P H I E

ANDERSON John Maxwell

Structure and function in the pyloric coeca of *Asterias forbesi*  
(Biological bulletin, 1953, 105, p. 46-56)

ANDERSON J.M.

Studies on the cardiac stomach of a starfish *Asterias forbesi*  
(Biological bulletin, 1954, 107, p. 157-173)

ANDERSON J.M.

Studies on the cardiac stomach of a starfish *Patiria miniata* (Brandt)  
(Biological bulletin, 1959, 117, p. 185-201)

ANDERSON J.M.

Histological studies on the digestive system of a starfish *Henricia*,  
with notes on Tiedemann's pouches in starfishes  
(Biological bulletin, 1960, 119, p. 370-398)

BUDINGTON R.A.

The ciliary transport system of *Asteria forbesi*  
(Biological bulletin, 1942, 83, p. 438-450)

CAULLERY et SIEDLECKI

Sur la resorption phagocytaire des produits génitaux inutilisés  
chez *Echinocardium cordatum*.  
(Compte rendu de l'Académie des Sciences, 1903, 136, p. 496-498)

CHADWICK Herbert

*Asterias*

(L.M.B.C. Memoirs on typical British Marine plants and Animals  
1923, p. 1-63)

COGNETTI G. et DELAVAUT R.

La sexualité chez les *Asterides*

(Cahiers de Biologie marine, 1962, T. III, p. 156-181)

CUENOT

Contribution à l'étude anatomique des Asterides

(Archives de Zoologie Expérimentale, 1887, 5 bis suppl.  
p. 1-143)

DELAVAUT et COGNETTI G.

L'apparition des granules jaunes dans les gonades d'Echinaster sepositus Gray de la Méditerranée

(C.R. Académie des Sciences, 1958, 246, p. 984-986)

DELAVAUT R.

Premières observations sur le cycle génital d'Asterina gibbosa de Dinard

(Bulletin du Laboratoire Maritime de Dinard, 1959, 45, p. 108)

DELAVAUT R.

Observations complémentaires sur le cycle sexuel de Asterina gibbosa de Dinard

(Bulletin du Laboratoire Maritime de Dinard 1960 b, 46,  
p. 156)

DELAVAUT R.

Cycles génitaux chez Asterina ~~gibbosa~~ de Dinard

(C.R. Académie des Sciences de Paris, 1960 c)

DELAVAUT R.

Apparition de la maturité sexuelle mâle chez Echinaster sepositus

(Vie et Milieu, 1960, 4, p. 677-678)

DELAVAUT R.

Sexualité chez Echinaster sepositus Gray du Golfe de Naples

(Publicazione della Stazioni Zoologica di Napoli 1962, 32,  
p. 41-55).

FARMANFARMAIAN - GREENFIELD - GESE - BOOLOOTIAN

Cycle biochemical changes in Several Echinoderms

(The journal of experimental Zoologie Dec. 1958, Vol. 139,  
p. 507-524)

GIARD A.

Sur une fonction nouvelle des glandes génitales des oursins

(C.R. Académie des Sciences de Paris, 1887, 85, p. 858-859)

GRASSE

Traité de Zoologie : Tome XI : Echinodermes, Stomocordes, Procordes

(p. 363, 1948, Masson Editeur Paris)

HAMANN O.

Beiträge zur histologie der Echinodermen, Heft 2 die Asteriden

(Fischer Ed. jena, 1885, p. 119)

JEUNIAUX, S. BRICTEUX, G. FLORKIN

Régulation osmotique intracellulaire chez *Asterias rubens*. Rôle  
du glycocolle et de la taurine.

(Cahier de Biologie Marine, 1962, Roscoff T. III, cah. 2,  
p. 108-113).

LANGERON M.

Précis de microscopie

(Masson, Editeur Paris, 1942, 6° édition)

RETZIUS

Ein fall von hermaphroditismus bei *Asterias rubens*

(L. Biologische Untersuchungen, 1911)



