

UNIVERSITÉ DE LILLE
FACULTÉ DES SCIENCES

THÈSES

Présentées

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE LILLE

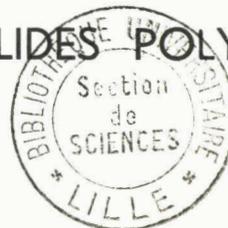
pour obtenir
le grade de Docteur ès Sciences Naturelles

par

Bénoni BOILLY

1^{ÈRE} THÈSE

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE L'ORIGINE DES CELLULES
DE RÉGÉNÉRATION CHEZ LES ANNÉLIDES POLYCHÈTES



2^{ÈME} THÈSE

PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ

Soutenues le

20 juin

1968 devant la commission d'examen

MM. R. DEFRETIN, Président
M. DURCHON, Rapporteur
E. VIVIER, }
F. SCHALLER, } Examineurs
Et. WOLFF, Membre invité

UNIVERSITE DE LILLE

FACULTE DES SCIENCES

DOYENS HONORAIRES : MM. H. LEFEBVRE, M. PARREAU, J. TILLIEU

PROFESSEURS HONORAIRES : MM. ARNOULT, BEGHIN, BROCHARD, CAU, CHAPPELON, CHAUDRON, CORDONNIER, DEHEUVELS, DEHORNE, DOLLE, FLEURY, P. GERMAIN, KAMPE DE FERIET, KOURGANOFF, LAMOTTE, LELONG, Mme LELONG, MM. MAZET, MICHEL, NORMANT, PARISELLE, PASCAL, PAUTHENIER, ROIG, ROSEAU, ROUBINE, ROUELLE, WIEMAN, ZAMANSKY.

DOYEN : M. DEFRETIN, Professeur de Biologie marine.

ASSESSEURS : MM. HEUBEL, Professeur de Chimie Minérale
LEBRUN, Professeur de Radioélectricité

PROFESSEURS :

M. BACCHUS Pierre	Astronomie et Calcul Numérique
M. BEAUFILS Jean-Pierre	Chimie Générale
M. BONNEMAN Pierre	Chimie industrielle
M. BECART Maurice	Physique
M. BLOCH Vincent	Psychophysiologie
M. BONTE Antoine	Géologie appliquée
M. BOUGHON Pierre	Mathématiques
M. BOUISSET Simon	Physiologie Animale
M. BOURIQUET Robert	Botanique
M. CELET Paul	Géologie Générale
M. CONSTANT Eugène	Radioélectricité
M. CORSIN Pierre	Paléobotanique
M. DECUYPER Marcel	Mathématiques
M. DEDECKER Paul	Mathématiques
M. DEHORS Roger	Physique Industrielle
M. DELATTRE Charles	Géologie Générale

M. DELEAU Paul	Géologie et Minéralogie
M. DELHAYE Michel	Chimie Physique et Minérale
M. DESCOMBES Roger	Mathématiques
M. DURCHON Maurice	Zoologie
M. FOURET René	Physique
M. GABILLARD Robert	Radioélectricité
M. GLACET Charles	Chimie Organique
M. GONTIER Gérard	Mécanique des Fluides
M. HEIM DE BALSAC Henri	Zoologie
M. HOCQUETTE Maurice	Botanique
M. LEBEGUE André	Botanique C.S.U. AMIENS
Mme LEBEGUE Georgette	Physique C.S.U. AMIENS
Mlle LENOBLE Jacqueline	Physique
M. LIEBART Robert	I.U.T.
M. LINDER Robert	Botanique
M. LUCQUIN Michel	Chimie Physique
M. MARION Ernest	Chimie C.S.U. AMIENS
M. MARTINOT-LAGARDE André	Mécanique des Fluides
Mlle MARQUET Simone	Mathématiques
M. MENNESSIER Guy	Géologie C.S.U. AMIENS
M. MONTARIOL Frédéric	Chimie Minérale Appliquée
M. MONTREUIL Jean	Chimie Biologique
M. MORIAMEZ Michel	Physique
M. MOUVIER Gérard	Chimie SAINT-QUENTIN
M. PARREAU Michel	Mathématiques
M. PEREZ Jean-Pierre	Physique
M. PHAM MAU QUAN	Mathématiques
M. POUZET Pierre	Calcul Numérique
M. PROUVOST Jean	Géologie et Minéralogie
M. SAVARD Jean	Chimie Générale
M. SCHILTZ René	Physique
M. SCHALLER François	Zoologie
Mme SCHWARTZ Marie-Hélène	Mathématiques
M. TILLIEU Jacques	Physique Théorique

M. TRIDOT Gabriel	Chimie Minérale Appliquée
M. VAZART Bernard	Botanique C.S.U. AMIENS
M. VIVIER Emile	Zoologie C.S.U.AMIENS
M. WATERLOT Gérard	Géologie et Minéralogie
M. WERTHEIMER Raymond	Physique Générale

MAITRES DE CONFERENCES :

M. BELLET Jean	Physique
M. BENABOU Jean	Mathématiques
M. BILLARD Jean	Physique
M. BOILLET Pierre	Physique
M. BUI TRONG LIEU	Mathématiques
M. CHERRUAULT Yves	Mathématiques
M. CHEVALIER Alfred	Mathématiques C.S.U. AMIENS
M. DERCOURT Jean-Michel	Géologie et Minéralogie
M. DEVRAINNE Pierre	Chimie Minérale
Mme DIXMIER Suzanne	Mathématiques C.S.U. AMIENS
Mme DRAN Raymonde	Chimie Organique
M. DUQUESNOY Alain	Chimie C.S.U. AMIENS
M. GOUDMAND Pierre	Chimie Physique
M. GUILBAUT Pierre	Physiologie Animale
M. GUILLAUME Jean	Botanique
M. HENRY Lucien	Physique C.S.U. AMIENS
M. HERZ Jean-Claude	Calcul Numérique
M. HEYMAN Michel	Physique C.S.U AMIENS
M. HUARD de la MARRE Pierre	Calcul Numérique
M. JOLY Robert	Zoologie C.S.U. AMIENS
M. LABLACHE-COMBIER Alain	Chimie Générale
M. LACOSTE Louis	Botanique
M. LAMBERT Gérard	Physique SAINT-QUENTIN
M. LANDAIS Jean	Chimie Organique
M. LEHMAN Daniel	Mathématiques
Mme LEHMAN Josiane	Mathématiques
M. LOUCHEUX Claude	Chimie Physique

M. TRIDOT Gabriel	Chimie Minérale Appliquée
M. VAZART Bernard	Botanique C.S.U. AMIENS
M. VIVIER Emile	Zoologie C.S.U.AMIENS
M. WATERLOT Gérard	Géologie et Minéralogie
M. WERTHEIMER Raymond	Physique Générale

MAITRES DE CONFERENCES :

M. BELLET Jean	Physique
M. BENABOU Jean	Mathématiques
M. BILLARD Jean	Physique
M. BOILLET Pierre	Physique
M. BUI TRONG LIEU	Mathématiques
M. CHERRUAULT Yves	Mathématiques
M. CHEVALIER Alfred	Mathématiques C.S.U. AMIENS
M. DERCOURT Jean-Michel	Géologie et Minéralogie
M. DEVRAINNE Pierre	Chimie Minérale
Mme DIXMIER Suzanne	Mathématiques C.S.U. AMIENS
Mme DRAN Raymonde	Chimie Organique
M. DUQUESNOY Alain	Chimie C.S.U. AMIENS
M. GOUDMAND Pierre	Chimie Physique
M. GUILBAUT Pierre	Physiologie Animale
M. GUILLAUME Jean	Botanique
M. HENRY Lucien	Physique C.S.U. AMIENS
M. HERZ Jean-Claude	Calcul Numérique
M. HEYMAN Michel	Physique C.S.U AMIENS
M. HUARD de la MARRE Pierre	Calcul Numérique
M. JOLY Robert	Zoologie C.S.U. AMIENS
M. LABLACHE-COMBIER Alain	Chimie Générale
M. LACOSTE Louis	Botanique
M. LAMBERT Gérard	Physique SAINT-QUENTIN
M. LANDAIS Jean	Chimie Organique
M. LEHMAN Daniel	Mathématiques
Mme LEHMAN Josiane	Mathématiques
M. LOUCHEUX Claude	Chimie Physique

M. MAES Serge	Physique
M. METTETAL Christian	Zoologie AMIENS
M. MONTEL Marc	Physique C.S.U. VALENCIENNES
M. NGUYEN PHONG CHAU	Mathématiques SAINT-QUENTIN
M. PANET Marius	Electromécanique
M. PARSY Fernand	Mathématiques Appliquées
M. RACZY Ladislas	Physique
M. SAADA Georges	Physique
M. SEGARD Emile	Chimie Biologique
M. TUDO Joseph	Chimie Minérale Appliquée C.S.U. AMIENS
M. VAILLANT Jean	Mathématiques
M. VIDAL Pierre	Physique Industrielle
Mme ZINN-JUSTIN Nicole	Mathématiques

CONTRIBUTION A L'ETUDE DE L'ORIGINE DES CELLULES DE
REGENERATION CHEZ LES ANNELIDES POLYCHETES

Bénoni B O I L L Y

Laboratoire de Biologie Animale
de la Faculté des Sciences de Lille

Ce travail a été réalisé, sous la direction de Monsieur le Professeur M. DURCHON, au Laboratoire de Biologie Animale de la Faculté des Sciences de Lille (directeur : Prof. M. DURCHON). Certaines expériences, relatives aux chapitres IV, VI et VII, ont été effectuées lors de séjours à l'Institut de Biologie Maritime et Régionale de Wimereux (directeur : Prof. R. DEFRETIN).

SOMMAIRE

INTRODUCTION.....	p. 1
POSITION DU PROBLEME.....	p. 1
MATERIEL ET METHODES.....	p. 6
I - MATERIEL.....	p. 6
II - METHODES.....	p. 6
A - Techniques d'élevage.....	p. 6
B - Techniques histologiques et cytologiques....	p. 7
C - Techniques opératoires.....	p. 8
D - Méthodologie.....	p. 9

PREMIERE PARTIE

ETUDE HISTOLOGIQUE ET ULTRASTRUCTURALE DE LA REGENERATION CHEZ <u>SYLLIS AMICA</u>

<u>CHAPITRE I</u> - ETUDE HISTOLOGIQUE DES PREMIERS STADES DE L'HISTOGENESE DANS LA REGENERATION CAUDALE ET CEPHALIQUE DE <u>S. AMICA</u>	p. 11
I - DONNEES MORPHOLOGIQUES.....	p. 11
A - Régénération postérieure.....	p. 11
B - Régénération antérieure.....	p. 12
II - OBSERVATIONS HISTOLOGIQUES.....	p. 13
A - Régénération postérieure.....	p. 13
B - Régénération antérieure.....	p. 19

III - DISCUSSION..... p. 24

 A - Evolution des tissus intéressés par la section. p. 24

 B - Origine des cellules de régénération..... p. 26

 C - Evolution des cellules de régénération..... p. 27

IV - CONCLUSION..... p. 29

CHAPITRE II - OBSERVATIONS ULTRASTRUCTURALES SUR LES PREMIERS STADES
DE LA REGENERATION CEPHALIQUE ET CAUDALE DE S. AMICA... p. 30

I - OBSERVATIONS..... p. 30

 A - Ultrastructure des tissus intéressés par la
 section..... p. 30

 B - Evolution des tissus intéressés par la section. p. 32

II - DISCUSSION..... p. 39

 A - La dédifférenciation..... p. 39

 B - L'activation..... p. 41

 C - La différenciation..... p. 45

III - CONCLUSION..... p. 47

CONCLUSION DE LA PREMIERE PARTIE..... p. 47

DEUXIEME PARTIE

RECHERCHES EXPERIMENTALES SUR LA NATURE HISTOLOGIQUE ET
L'INDEPENDANCE HISTOGENETIQUE DES TISSUS A L'ORIGINE DES
CELLULES DE REGENERATION CHEZ SYLLIS AMICA

CHAPITRE III - NATURE DU TISSU A L'ORIGINE DES CELLULES DE REGENERATION
MESODERMIQUES CHEZ S. AMICA p. 49

I - EFFETS DES IRRADIATIONS X SUR LA REGENERATION CEPHALIQUE
ET CAUDALE DE S. AMICA..... p. 49

 A - Introduction..... p. 49

B - Remarque préalable relative à la radiosensibilité des Annélides.....	p. 50
C - Techniques opératoires.....	p. 51
D - Résultats.....	p. 52
1) Etude expérimentale (p. 52)	
2) Etude morphologique (p. 57)	
3) Etude histologique (p. 58)	
E - Discussion.....	p. 61
1) Problème de la radiosensibilité différentielle des tissus à l'origine des cellules régénératrices (p. 61)	
2) Comportement des cellules de régénération irradiées (p. 62)	
3) Rôle des rayons X dans l'inhibition de la régénération.....	p. 63
II - ACTION DU "THOROTRAST" EN INJECTION INTRACOELOMIQUE DANS LA REGENERATION CEPHALIQUE ET CAUDALE DE <u>S. AMICA</u> .	p. 64
A - Introduction.....	p. 64
B - Techniques opératoires.....	p. 65
C - Résultats.....	p. 65
1) Etude expérimentale (p. 65)	
2) Etude morphologique (p. 66)	
3) Etude histologique et ultrastructurale (p. 67)	
D - Discussion	p. 68
III - DISCUSSION GENERALE	p. 68
A - Nature du tissu à l'origine des blastocytes mésodermiques.....	p. 69
B - Indépendance histogénétique des épithéliums coelomiques.....	p. 69
C - Rôle du mésoderme dans la morphogenèse régénératrice.....	p. 69
IV - CONCLUSION.....	p. 71

CHAPITRE IV - NATURE DU TISSU A L'ORIGINE DES CELLULES DE REGENERATION

ENDODERMIQUES CHEZ S. AMICA..... p. 72

I - ELIMINATION DE L'EPITHELIUM INTESTINAL PAR ABLATION DU

TUBE DIGESTIF..... p. 72

A - Terminologie - Techniques opératoires..... p. 72

B - Résultats..... p. 74

1) Etude expérimentale (p. 74)

2) Etude histologique (p. 75)

C - Discussion..... p. 75

II - INTOXICATION DE L'EPITHELIUM INTESTINAL PAR LE "THOROTRAST" p.76

A - Techniques opératoires..... p. 76

B - Résultats..... p. 76

1) Etude expérimentale (p. 76)

2) Etude histologique et ultrastructurale (p. 77)

C - Discussion..... p. 78

III - REMPLACEMENT DE L'EPITHELIUM INTESTINAL PAR L'EPITHELIUM

PHARYNGIEN..... p. 78

A - Techniques opératoires..... p. 79

1) Régénération antérieure (p. 79)

2) Régénération postérieure (p. 79)

C - Discussion..... p. 83

1) Nature du tube digestif néoformé.(p. 83)

2) Considérations sur les compétences histogénétiques de l'épithélium pharyngien (p. 83)

IV - DISCUSSION GENERALE..... p. 85

A - Nature du tissu à l'origine des cellules de régénération..... p. 85

B - Indépendance histogénétique de l'épithélium intestinal..... p. 85

C - Rôle du tube digestif dans la régénération..... p. 86

V - CONCLUSION.....	p. 86
<u>CONCLUSION DE LA DEUXIEME PARTIE.....</u>	p. 87

TROISIEME PARTIE

ETUDE EXPERIMENTALE DE LA LOCALISATION DES TISSUS A
 L'ORIGINE DES CELLULES DE REGENERATION CHEZ SYLLIS AMICA

<u>CHAPITRE V</u> - IMPORTANCE DU DEPLACEMENT DES BLASTOCYTES MESODERMIQUES AU COURS DE LA REGENERATION CHEZ <u>S. AMICA</u>	p. 89
I - DESTRUCTION LOCALISEE DES BLASTOCYTES MESODERMIQUES.....	p. 89
A - Utilisation des rayons X.....	p. 89
B - Utilisation du "Thorotrast".....	p. 91
II - EXPERIENCES DE RESECTIONS REPETEEES DU SEGMENT PRECEDANT LE NIVEAU D'AMPUTATION OU DU BLASTEME.....	p. 93
III - CONCLUSION.....	p. 96
<u>CONCLUSION DE LA TROISIEME PARTIE.....</u>	p. 97

QUATRIEME PARTIE

ETUDE DE L'ORIGINE DES CELLULES DE REGENERATION CHEZ
NEREIS DIVERSICOLOR C.F. MULLER ET ARICIA FOETIDA CLAP.

<u>CHAPITRE VI</u> - ORIGINE DES CELLULES DE REGENERATION CHEZ <u>NEREIS</u> <u>DIVERSICOLOR</u> C.F. MULLER.....	p. 98
I - ETUDE HISTOLOGIQUE DES PREMIERES PHASES DE L'HISTOGENESE REGENERATRICE.....	p. 98
A - Données morphologiques.....	p. 98

B - Observations histologiques.....	p. 99
C - Discussion.....	p. 102
II - ETUDE EXPERIMENTALE DE LA NATURE DES TISSUS A L'ORIGINE DES CELLULES DE REGENERATION MESODERMIQUES.....	
A - Expériences d'irradiation X totales.....	p. 103
B - Expériences d'irradiation localisée au segment contigu à la plaie, avant la section.....	p. 104
C - Greffes de tissus sains dans des <u>Nereis</u> irradiées	p.105
D - Discussion et conclusion.....	p. 107
III - ETUDE EXPERIMENTALE DE LA LOCALISATION DES TISSUS A L'ORIGINE DES CELLULES DE REGENERATION MESODERMIQUES..	
A - Destruction localisée des blastocytes mésoder- miques.....	p. 108
B - Resection répétée du segment précédant le niveau d'amputation ou du blastème.....	p. 110
C - Discussion et conclusion.....	p. 111
IV - CONCLUSION.....	p. 113
<u>CHAPITRE VII - ORIGINE DES CELLULES DE REGENERATION CHEZ <u>ARICIA FOETIDA</u></u> p.114	
I - ETUDE HISTOLOGIQUE.....	
A - Données morphologiques.....	p. 114
B - Observations histologiques.....	p. 115
C - Discussion.....	p. 117
II - ETUDE EXPERIMENTALE DE LA REGENERATION CAUDALE.....	
A - Techniques opératoires.....	p. 119
B - Résultats.....	p. 120
1) Expériences d'irradiation totale (p. 120)	
2) Expériences d'irradiation régionale (p. 121)	
3) Etude histologique (p. 121)	
C - Discussion.....	p. 122
1) Rôle des cellules de régénération mésoder- miques dans l'histogenèse régénératrice (p. 122)	

2) Localisation du tissu à l'origine des
blastocytes mésodermiques (p. 123)

III - CONCLUSION.....	p. 123
<u>CONCLUSION DE LA QUATRIEME PARTIE.....</u>	p. 124
CONCLUSION GENERALE.....	p. 125
RESUME.....	p. 132
BIBLIOGRAPHIE.....	p. I à XIX

AVANT - PROPOS

Je suis particulièrement heureux de pouvoir remercier ici mon Maître, Monsieur le Professeur M. DURCHON, Directeur du Laboratoire de Biologie Animale de la Faculté des Sciences, qui, dès son arrivée à Lille, m'a accepté dans son laboratoire et initié à la recherche ; très rapidement, il a su me communiquer son enthousiasme et façonner mon esprit de chercheur. Sa grande connaissance des Polychètes, son autorité en matière de biologie expérimentale et ses qualités humaines m'ont permis de mener à bien le travail qu'il m'avait confié. Qu'il veuille trouver dans ce mémoire l'expression de mon profond attachement et de ma sincère et respectueuse gratitude.

Je tiens également à remercier Monsieur le Professeur R. DEFRETIN, Doyen de la Faculté des Sciences de Lille, qui, malgré ses lourdes charges, a bien voulu se joindre à mon jury de thèse. Les connaissances que j'ai acquises en suivant son enseignement magistral, ainsi que l'excellent accueil qu'il m'a toujours réservé dans son Laboratoire de Biologie Maritime et Régionale de Wimereux ont beaucoup facilité ma tâche et je lui en suis particulièrement reconnaissant.

Il m'est agréable d'adresser aussi mes remerciements à Monsieur le Professeur E. VIVIER pour la bienveillance qu'il m'a toujours témoignée. C'est à lui que je dois ma formation en microscopie électronique ; les facilités qu'il m'a accordées, les conseils judicieux dont il m'a souvent gratifié m'ont permis d'aborder, dans les meilleures conditions, l'étude à l'échelle ultrastructurale de certains problèmes posés par mes recherches ; je le prie de croire à toute ma reconnaissance.

Je tiens à remercier également Monsieur le Professeur F. SCHALLER de l'intérêt qu'il porte à mon travail et lui suis particulièrement reconnaissant d'avoir accepté de participer à mon jury de thèse.

Monsieur le Professeur Et. WOLFF, Membre de l'Institut, Professeur au Collège de France, m'a fait le très grand honneur de s'intéresser à mes recherches en acceptant de présenter mes notes préliminaires à l'Académie des Sciences et en voulant bien participer, malgré ses multiples activités, à mon jury de thèse ; qu'il veuille trouver ici l'expression de ma profonde et respectueuse reconnaissance.

CONTRIBUTION A L'ETUDE DE L'ORIGINE DES CELLULES DE REGENERATION
CHEZ LES ANNELIDES POLYCHETES

INTRODUCTION

Parmi les problèmes fondamentaux posés par la régénération, l'origine des cellules régénératrices constitue l'un des plus mal connus. Chez les Annélides en particulier, et en dépit de certaines facilités présentées par ce matériel, de nombreuses incertitudes subsistent encore. En dehors des Oligochètes chez lesquels la méthode expérimentale a été employée avec succès à l'étude de ce problème chez de nombreuses espèces, les Polychètes constituent encore un important champ de controverses. Une telle situation tient essentiellement au fait que, chez les Polychètes, les seules données concernant l'origine des cellules de régénération reposent sur des interprétations histologiques. Il convenait donc de compléter le travail de nos prédécesseurs en recherchant expérimentalement l'origine des cellules régénératrices.

POSITION DU PROBLEME

L'origine des cellules de régénération doit être envisagée sous deux aspects.

D'une part, il importe de préciser la nature du (ou des) tissu (s) qui fournit (ssent) les cellules de régénération.

D'autre part, il est nécessaire de localiser par rapport au front de section, la zone susceptible de fournir des éléments régénérateurs, c'est-à-dire, de rechercher s'il y a ou non migration des cellules de régénération vers la plaie, et, dans l'affirmative, d'en apprécier l'étendue.

Chacun de ces deux problèmes a fait l'objet de réponses variées.

1) Nature des tissus à l'origine des cellules de régénération

L'étude de la nature des tissus à l'origine des cellules de régénération a donné lieu aux interprétations les plus diverses. Néanmoins, si l'on

considère les potentialités histogénétiques attribuées aux éléments régénérateurs, les conclusions auxquelles sont parvenus les auteurs peuvent être regroupées autour de deux hypothèses principales :

- une seule catégorie de cellules est capable d'engendrer la plupart (cellules pluripotentes) ou tous les tissus du régénérat (cellules totipotentes);
- chaque feuillet néoformé provient d'un tissu de la souche dérivant du feuillet embryonnaire correspondant.

Dans chacun de ces deux cas diverses interprétations ont été proposées.

a) Les cellules régénératrices sont pluri ou totipotentes.

Cette hypothèse fait intervenir soit l'épiderme ancien, soit certaines cellules mésodermiques de la souche (Tableau 1).

. L'épiderme est pluri ou totipotent. L'épiderme fut longtemps considéré comme étant à l'origine de la plupart (endoderme exclu) ou de tous les tissus du régénérat ; cette opinion est maintenant complètement abandonnée.

. Les cellules mésodermiques sont totipotentes. De nombreux auteurs ont attribué un rôle essentiel dans la régénération à certaines catégories de cellules mésodermiques, que ce soit des amibocytes ou qu'elles proviennent d'un mésenchyme localisé soit à la base des dissépiments, soit le long de la chaîne nerveuse ou réparti autour de la cavité coelomique. Ces éléments, généralement doués d'un pouvoir de migration important, assurent la reconstitution de toutes les structures amputées. Dans certains cas, ils migreraient à l'état de néoblastes (FAULKNER, 1930, 1932 ; PROBST, 1931a), comme chez les Planaires (DUBOIS, 1949) et les Oligochètes (HERLANT-MEEWIS, 1946_a et _b ; STEPHAN-DUBOIS, 1954, 1964).

b) Les cellules régénératrices reforment uniquement les structures correspondant au feuillet dont elles sont issues (Tableau 1)

Cette opinion, défendue par quelques anciens auteurs, est celle qui, actuellement, recueille le plus de suffrages. Trois catégories de cellules régénératrices (ectodermiques, mésodermiques, endodermiques) assurent respectivement la reconstitution de leurs propres structures. Cependant, et bien que tous les auteurs partisans de cette opinion s'accordent sur la notion d'indépendance histogénétique de chaque catégorie de cellules régénératrices, des

Tableau 1

Revue bibliographique relative à la nature des tissus à l'origine
des cellules régénératrices chez les Annélides Polychètes.

a) Les cellules régénératrices sont pluri ou totipotentes.

L'épiderme est pluri ou totipotent :

Michel (1898)
Schultz (1899) Harmothoe, Phyllodoce, Nephtys, Sabellidae
Nusbaum (1905) Amphiglena, Nerine
Ivanow (1907) Nerine
Ivanow (1908) Spirographis
Nusbaum (1908) Nereis
Langhammer (1928) Procerastea
Stone (1933) Euratella
Hofmann (1966) Platynereis

Les cellules mésodermiques sont totipotentes.

Ce sont des amibocytes :

Dehorne (1949) Nereis
Stéphan-Dubois (1958) Nereis

Elles proviennent d'un mésenchyme...

Malaquin (1905) Salmacina, Filograna
Malaquin (1925) Salmacina
Faulkner (1930) Filograna
Probat (1931 a) Aricia
Faulkner (1932) Chaetopterus
Dehorne (1933) Dodecaceria
Dehorne (1949) Sabellaria
Jysson (1958) Pomatoceros

b) Les cellules régénératrices régèrent uniquement les structures amputées correspondant au feuillet dont elles sont issues.

Emery (1886) Lumbriconereis, Nephtys
Pruvot (1890) Syllis
Okada (1929) Autolytus
Pflugfelder (1929) Diopatra
Probat (1932) Owenia
Mammatt (1933) Clymenella
Vannini (1947) Salmacina
Sicard-Bruslé (1957) Nereis
Cresp (1957) Salmacina

Thouveny (1958 a et b) Polydora
Durand (1959) Dasydora
Thouveny (1961) Polydora, Magella
Clark et Clark (1962) Nephtys
Herlant-Mewis et Nokin (1962-63) Nereis
Thouveny (1963) Scoloplos
Cresp (1964) Hydroidea, Salmacina
Sichel (1965) Hydroidea

Origine des cellules de régénération
mésodermiques :

- . Fibres musculaires dédifférenciées Probat (1932) Owenia
- . Fibres musculaires dédifférenciées + parois coelomiques Cresp (1957) Salmacina
Cresp (1964) Hydroidea, Salmacina
Koechlin (1964) Sabella
- . Fibres musculaires dédifférenciées + coelomocytes Clark et Clark (1962) Nephtys
- . Néoblastes Vannini (1947) Salmacina
- . Parois coelomiques Okada (1929) Autolytus
Herlant-Mewis et Nokin (1962-63) Nereis
Sichel (1965) Hydroidea



divergences de vue se manifestent en ce qui concerne, pour une catégorie de cellules donnée, la nature des tissus à l'origine des cellules régénératrices. Nous examinerons les diverses interprétations proposées pour chacun des feuillets néoformés.

- Régénération de l'ectoderme. Tous les auteurs admettent que l'épiderme assure seul sa propre restauration après activation des cellules situées au voisinage immédiat de la plaie ; cependant M.E. CLARK et R.B. CLARK (1962) soupçonnent les coelomocytes de participer aussi à la restauration du tégument. D'autre part, on considère généralement l'épiderme néoformé comme étant à l'origine de la chaîne nerveuse et des ganglions cérébroïdes du régénérat.

- Régénération du mésoderme (Tableau 1). L'origine des cellules de régénération mésodermiques constitue le principal problème divisant actuellement les chercheurs partisans de l'indépendance histogénétique des feuillets (BOILLY, 1965_b). Tous affirment que le mésoderme de la souche est à l'origine des structures mésodermiques du régénérat ; cependant, un grand nombre d'entre eux n'en précise pas l'origine exacte.

PROBST (1931_b et _c, 1932) fut le premier à s'attacher au problème de l'origine des cellules de régénération mésodermiques. Selon cet auteur, les cellules provenant de la dédifférenciation des fibres musculaires, et peut-être des parois coelomiques, assureraient la restauration du mésoderme. La participation de fibres musculaires dédifférenciées dans la régénération des formations mésodermiques est aussi reconnue par CRESP (1957, 1964), KOECHLIN (1964) et M.E. CLARK et R.B. CLARK (1962) ; cependant ces derniers ne considèrent pas la musculature comme l'unique source de cellules de régénération mésodermiques ; ils pensent que les parois coelomiques (CRESP ; KOECHLIN) ou les coelomocytes (CLARK et CLARK) participent aussi à la régénération. Par contre, les autres auteurs estiment qu'une seule catégorie de cellules, que ce soient des néoblastes (VANNINI, 1947) ou des éléments provenant des parois coelomiques (OKADA, 1929 ; HERLANT-MEEWIS et NOKIN, 1962-63 ; SICHEL, 1965) est à l'origine des cellules régénératrices mésodermiques. Les potentialités histogénétiques des blastocytes mésodermiques ont également fait l'objet de diverses interprétations. Si la plupart des auteurs laissent supposer que les cellules de régénération mésodermiques

régénèrent indifféremment toutes les formations mésodermiques amputées, certains estiment que les cellules de régénération, bien que dédifférenciées, gardent leur spécificité (HERLANT-MEEWIS et NOKIN, 1962-63 ; CRESP, 1964).

- Régénération de l'endoderme. Comme pour l'ectoderme, la régénération de l'endoderme ne pose guère de problème. Il est aisé d'en observer les processus et tous les auteurs reconnaissent le rôle exclusif de l'épithélium intestinal.

2) Localisation des tissus à l'origine des cellules de régénération

Ce problème n'a été abordé que par un nombre relativement restreint d'auteurs. Deux hypothèses ont été avancées (Tableau 2).

a) Les cellules de régénération, qu'elles soient totipotentes ou non, ne proviennent que d'une zone située à proximité immédiate de la plaie.

b) Les cellules de régénération sont douées d'un pouvoir de migration étendu analogue à celui des néoblastes des Planaires et des Oligochètes. D'autres cas de migration de cellules blastogénétiques ont été signalés chez les Polychètes ; cependant, le plus souvent l'étendue de la migration n'est pas précisée ; dans ces conditions, il est impossible d'apprécier l'importance du déplacement cellulaire et en particulier, de décider en faveur d'une migration intersegmentaire ou limitée au métamère lésé.

L'examen des travaux relatifs à l'origine des cellules de régénération chez les Polychètes laisse donc apparaître une grande diversité dans les interprétations proposées pour des espèces éloignées ou voisines, ou pour la même espèce. En outre, il montre que les conclusions des auteurs (à l'exception de celles de STEPHAN-DUBOIS, 1955, 1956, 1958) ne reposent que sur l'étude histologique des différents stades de la régénération. Or, il s'avère que les difficultés d'interprétation de certaines images histologiques sont loin d'être négligeables. En effet, il est souvent malaisé de distinguer les cellules de régénération en déplacement des cellules coelomiques libres, étrangères aux processus régénérateurs ; de même l'afflux de cellules vers une blessure peut très bien être considéré à la fois comme un entraînement passif de cellules libres, charriées par le liquide coelomique s'écoulant par la plaie ou, ^{comme} un déplacement actif de cellules "appelées" vers la section afin de participer à la

Tableau 2

Revue bibliographique relative à la migration de cellules de régénération
chez les Annélides Polychètes. L'astérisque indique que les résultats
obtenus sont de nature expérimentale

a) Absence de migration de cellules de régénération

Probst (1932) Owenia
Stone (1933) Euratella
Cresp (1957) Salmacina
Thouveny (1958b) Polydora
Thouveny (1961) Polydora ; Magalia
Thouveny (1963) Scoloplos
Cresp (1964) Hydroïdes ; Salmacina

b) Migration de cellules de régénération

Migration étendue :

Probst (1931_a) Aricia
● Stéphan-Dubois (1955, 1956, 1958) Nereis

Etendue de la migration non précisée

Malaquin (1905) Salmacina ; Filograna
Malaquin (1925) Salmacina
Pflugfelder (1929) Diopatra
Faulkner (1930) Filograna
Faulkner (1932) Chaetopterus
La Greca (1953_a et b) Salmacina
Clark et Clark (1962) Nephtys



reconstitution des structures amputées ; enfin, le tassement des tissus au niveau de la section, accru par la contraction des muscles lors de la fixation, constitue une difficulté supplémentaire dans l'étude histologique fine de l'origine des cellules de régénération.

D'autre part, bien que l'histologie des premiers stades de l'histogénèse constitue une méthode de choix dans l'étude de l'origine des cellules de régénération, elle ne permet pas de démontrer la validité des conclusions auxquelles elle conduit.

Il apparaît donc indispensable d'associer la méthode expérimentale à l'histologie, aussi bien dans l'étude de la localisation des cellules régénératrices que dans celle de la nature des tissus à leur origine.

C'est dans cet esprit que nous avons repris l'étude de ce problème. Le Syllidien Syllis amica Quatrefages (Polychète dépourvu de cellules coelomiques libres) nous a servi de matériel de base.

Avant d'aborder l'étude expérimentale de l'origine des cellules de régénération chez cette Annélide, il nous a semblé nécessaire de décrire avec précision les premières phases de l'histogénèse régénératrice. Nous avons donc, dans une première partie, étudié la régénération caudale et céphalique de S. amica au microscope photonique (Chapitre I) et électronique (Chapitre II). Dans la deuxième partie, nous exposerons les résultats de nos recherches expérimentales relatives à l'origine tissulaire des cellules régénératrices mésodermiques (Chapitre III) et endodermiques (Chapitre IV). La troisième partie a été consacrée à l'étude expérimentale de la localisation des tissus à l'origine des cellules régénératrices et plus spécialement des blastocytes mésodermiques (Chapitre V).

Enfin il nous a semblé intéressant d'appliquer certaines de nos techniques à l'étude de l'origine des cellules régénératrices chez d'autres Polychètes et en particulier chez une espèce possédant des cellules coelomiques libres (Nereis diversicolor O.F. Müller) (Chapitre VI) et une espèce chez laquelle existeraient des néoblastes (Aricia foetida Claparède) (Chapitre VII). Ces deux chapitres font l'objet de la quatrième et dernière partie de ce travail.

MATERIEL ET METHODES

I - MATERIEL *

A) SYLLIS AMICA QUATREFAGES

Les Syllis amica proviennent de la station de Nacqueville près de Cherbourg (Manche). Cette espèce régénère à tous les niveaux de l'axe antéro-postérieur en direction caudale et céphalique.

B) NEREIS DIVERSICOLOR O.F. MULLER

Les Nereis diversicolor ont été récoltées dans la région boulonnaise; seuls les individus de taille moyenne (70 à 90 segments) ont été retenus pour nos expériences. Chez ce Polychète, la régénération n'a lieu qu'en direction caudale.

C) ARICIA FOETIDA CLAPAREDE

Les Aricia foetida proviennent d'Arcachon (Gironde) (il s'agit de la variété atlantica Fauvel) ; comme pour N. diversicolor, seule la régénération caudale est possible chez cette Annélide.

II - METHODES

A) TECHNIQUES D'ELEVAGE

1) Syllis amica Q.

Les Syllis sont isolés dans des boîtes de Pétri recouvertes d'un opercule et contenant de l'eau de mer simplement filtrée. Ils sont maintenus à température constante (20°C) et à l'obscurité pendant toute la durée de l'expérience. L'eau d'élevage est renouvelée régulièrement (lors des observations)

* Nous tenons tout particulièrement à remercier Monsieur SAUSSEY, maître-assistant à la Faculté des Sciences de Caen, Monsieur DEFRETIN, directeur de l'Institut de Biologie Maritime et Régionale de Wimereux, Monsieur WEIL, directeur du Laboratoire de Biologie Marine d'Arcachon et Monsieur CAZAUX, assistant au même laboratoire, pour l'aide qu'ils nous ont apportée dans la récolte du matériel.

et, à cette occasion, la boîte de Pétri est nettoyée à l'aide d'un papier filtre. Etant donné que les tronçons postérieurs sont incapables de s'alimenter, aucune nourriture n'a été fournie aux individus en expérience qui, d'ailleurs, supportent très bien un jeûne prolongé (DURCHON, 1959).

2) Nereis diversicolor O.F. Müller

Les Nereis sont élevées à la température de 15-17°C dans des boîtes de Pétri recouvertes d'un opercule et contenant de l'eau de mer normale non filtrée ; un morceau de papier filtre est disposé dans l'eau d'élevage afin de recueillir les mucosités sécrétées par les vers. Les Nereis ne sont pas alimentées ; leur eau d'élevage est renouvelée régulièrement.

3) Aricia foetida Clap.

Les Aricia sont élevés dans des cristallisoirs contenant de l'eau de mer normale non filtrée et un fond de sable provenant de leur biotope ; ils sont maintenus à 17°C ; leur eau d'élevage est renouvelée à chaque observation. Dans l'ensemble l'élevage d'Aricia est délicat : nous avons enregistré, en moyenne, un taux de mortalité de l'ordre de 30 %.

B) TECHNIQUES HISTOLOGIQUES ET CYTOLOGIQUES

1) Microscopie photonique

Les vers anesthésiés ou non par immersion de courte durée (3 minutes environ) dans une solution de chlorure de magnésium à 77,7 g par litre d'eau distillée (S. amica, A. foetida) ou dans une eau de mer contenant du chlorétole à 1 ‰ (N. diversicolor) sont fixés au Bouin alcoolique ou au mélange de Bouin-Hollande sans acide acétique. Ils sont inclus dans la paraffine et débités en coupes sériées de 5 à 6 μ transversales ou longitudinales (sagittales ou frontales). Les coupes sont colorées par la méthode trichromique de Prenant (variante de Gabe) ou au glychémalum-éosine ou encore par le réactif de Schiff selon la technique de Feulgen .

2) Microscopie électronique (appliquée uniquement sur S. amica)

Les vers sont fixés, après anesthésie, soit au tétroxyde d'osmium à 2 ‰ tamponné selon MILLONIG (1962) soit à la glutaraldéhyde à 6,5 ‰ dans un tampon phosphate à pH 7 (SABATINI et al., 1963) suivie d'une post-fixation au tétroxyde d'osmium dans le même tampon. L'inclusion est réalisée dans

l'Epon 812 (LUFT, 1961). Les coupes ultra-fines sont contrastées par le plomb selon la méthode A de KARNOVSKY (1961) ou selon la technique de REYNOLDS (1963) précédée ou non d'une coloration par l'acétate d'uranyle en solution alcoolique. Les observations sont effectuées au microscope électronique Siemens Elmiskop I.

C) TECHNIQUES OPERATOIRES

Seules les techniques relatives à l'amputation seront rapportées dans ce paragraphe ; celles destinées à modifier le processus régénérateur seront précisées ultérieurement.

1) Syllis amica Q.

Les Syllis, dont la longueur est comprise entre 120 et 160 segments environ, sont sectionnés transversalement au niveau d'un intersegment sur la platine d'une loupe binoculaire à l'aide d'un fragment de lame à rasoir ; l'opération est réalisée après anesthésie des vers dans une solution de chlorure de magnésium à 77,7 g par litre d'eau distillée.

Mis à part les cas particuliers (section dans la zone pharyngienne), le plan de section passe entre le 50e et le 51e segment (une étude préalable du gradient de régénération antéro-postérieur nous a montré qu'à ce niveau l'intensité régénératrice est la plus forte pour les régénérations caudale et céphalique).

Dans l'ensemble, le taux de mortalité des Syllis après amputation est faible ; le nombre de parties antérieures perdues au cours de l'expérience est toutefois plus élevé que celui des parties postérieures ; cette différence tient au fait que les parties antérieures, très mobiles, ont tendance à remonter sous le couvercle de la boîte de Pétri où elles risquent de se dessécher ; les parties postérieures, peu mobiles, restent sur le fond.

2) Nereis diversicolor O.F.M.

Les Nereis sont sectionnées après anesthésie (chlorétone à 1 ‰ dans l'eau de mer) au niveau des 2/3 postérieurs du corps entre deux segments consécutifs ; seul le tronçon antérieur est conservé. Le taux de mortalité est relativement faible dans les deux premiers mois suivant la récolte ; au delà du 3e mois, il devient important.

3) Aricia foetida Clap.

Les Aricia sont sectionnés au niveau d'un intersegment compris entre le 50ème et le 70ème segment après anesthésie dans une solution de chlorure de magnésium à 77,7 g par litre d'eau distillée. Dans l'ensemble, les Aricia supportent mal les manipulations répétées : environ 25 % des individus se sont autotomisés au cours des expériences. Le taux de mortalité est du même ordre de grandeur que celui enregistré pour des individus entiers (de l'ordre de 30 %).

D) METHODOLOGIE

Afin d'éviter toute confusion dans l'utilisation de certains termes, nous rappellerons quelques notions élémentaires.

Le corps d'un Polychète est composé d'un certain nombre de segments constituant 3 régions successives : prostomium, métastomium, pygidium (FAUVEL, 1959).

Le prostomium (ou prosome, lobe préoral, lobe céphalique) représente le premier segment. Il est l'homologue de l'épispère de la larve trochophore. Il est dépourvu de cavité coelomique propre.

Le métastomium (ou métasome) entièrement métamérisé est constitué par un nombre relativement important de segments caractérisés essentiellement par la présence d'une cavité coelomique. Rappelons que les segments du métasome portent des soies (segments sétigères) à l'exception toutefois du premier (péristomium).

Le pygidium constitue le dernier segment du corps ; il est l'homologue de la partie postérieure de l'hyposphère de la larve. Comme le prostomium, il est dépourvu de cavité coelomique.

Les tronçons en régénération sont examinés périodiquement à la loupe binoculaire. Au cours de ces examens, la longueur du régénérat est appréciée en comptant le nombre de métamères néoformés.

Les critères utilisés concernant la mise en place d'un segment nouveau sont les suivants (Tableau 3).

- premier et dernier segment :

- . prostomium : présence des appendices céphaliques (palpes et antennes) et des yeux.

Tableau 3

Résumé des principales étapes de la régénération chez les Annélides étudiées
(la régénération antérieure ne concerne que S. amica)

Régénération postérieure		Régénération antérieure		
st. 0	cicatrisation	st. 0	cicatrisation	Mise en place du blastème de régénération.
st. 1	édification du blastème	st. 1	édification du blastème	
st. 2	différenciation des cirres anaux	st. 2	différenciation des palpes et des antennes	Différenciation du blastème de régénération
		st. 3	différenciation des taches pigmentaires représentant les yeux	
	↓		↓	
	<u>Pygidium</u>		<u>Prostomium</u>	
Allongement du régénérat et apparition des cirres dorsaux des ébauches de parapodes		allongement du régénérat et apparition des cirres tentaculaires du péristomium		Allongement et segmentation du régénérat
		↓		
		<u>péristomium</u>		
apparition des soies parapodiales		allongement du régénérat et apparition des cirres dorsaux des ébauches de parapodes		
		↓		
		apparition des soies parapodiales		
	↓		↓	
	<u>segments sétigères</u>		<u>segments sétigères</u>	

st : stade.



- . pygidium : présence des cirres anaux.
- segments métastomiaux :
 - . péristomium : présence des cirres tentaculaires.
 - . segments sétigères : présence des soies parapodiales.

Pendant la période précédant l'achèvement de l'édification du premier ou du dernier segment, l'évolution du bourgeon de régénération est scindée arbitrairement en plusieurs stades (le numéro d'ordre de ceux-ci est parfois affecté du signe (+) ou (-) ; cette indication précise, pour un stade déterminé, le degré d'avancement de la régénération) (Tableau 3).

Pour chaque lot de vers en régénération, la moyenne du nombre de métamères néoformés est calculée à chaque observation ; l'intervalle de confiance de la moyenne est évalué au risque 5 %. La comparaison entre les longueurs moyennes respectives de deux lots observés à un moment donné est effectuée par le "test de t" ; les valeurs de t obtenues sont affectées d'astérisques indiquant le degré de significativité :

- 1 astérisque : différence significative au risque 5 %
- 2 astérisques : différence significative au risque 1 %
- 3 astérisques : différence significative au risque 0,1 %

(l'absence d'astérisque signifie que la différence existant entre les moyennes n'est pas significative).

PREMIERE PARTIE

ETUDE HISTOLOGIQUE ET ULTRASTRUCTURALE
DE LA REGENERATION CHEZ S. AMICA

CHAPITRE I

ETUDE HISTOLOGIQUE DES PREMIERS STADES DE L'HISTOGENESE
DANS LA REGENERATION CAUDALE ET CEPHALIQUE DE S. AMICA

L'étude histologique des premiers stades de l'histogenèse régénératrice chez S. amica (BOILLY, 1967_d) est relativement aisée. En particulier, l'absence de cellules libres à l'intérieur du coelome (en dehors de la période de reproduction) et la rétraction de l'intestin dans les premières 48 heures suivant l'amputation favorisent l'observation du comportement des feuilletts coelomiques qui, généralement, constitue le point le plus délicat dans l'étude de l'histogenèse régénératrice.

Avant d'exposer les résultats obtenus, il convient toutefois de considérer certaines données morphologiques de la régénération chez cette Annélide.

I - DONNEES MORPHOLOGIQUES

A) REGENERATION POSTERIEURE

Une section transversale pratiquée au niveau d'un dissépiment provoque aussitôt la contraction des fibres musculaires circulaires situées à proximité de la plaie ; la cavité coelomique se trouve donc obturée. Corrélativement, l'intestin se rétracte à l'intérieur du dernier segment. Vingt quatre heures après la section, la morphologie de l'extrémité du tronçon reste inchangée. Quarante huit heures après l'amputation, la cicatrisation est terminée ; une ébauche de blastème d'une longueur de 10 μ environ est observable au microscope.

L'extrémité de l'intestin s'allonge en direction du front de section. Trois jours après la section, le blastème (longueur 40μ) se présente sous la forme d'un petit mamelon blanchâtre dépourvu de pigments ; il est placé sur la partie ventrale du front de section. Au quatrième jour après l'amputation, l'édification du blastème proprement dit est achevée ; c'est un bourgeon indifférencié, trapu (80μ de longueur) traversé par l'intestin (Pl. I, fig. a) ; on peut parfois y observer les ébauches des cirres anaux. Au cours des jours suivants, le blastème s'allonge et les cirres anaux s'individualisent. Neuf à dix jours en moyenne après la section, quelques cirres dorsaux apparaissent ; la différenciation des parapodes et des métamères intervient peu après (Pl. I, fig. c). Puis le régénérat s'accroît considérablement ; soixante dix jours après la section, il compte environ 20 segments.

B) REGENERATION ANTERIEURE

Comme dans la régénération caudale, la plaie est partiellement obturée peu après la section par la contraction des fibres musculaires circulaires de l'extrémité du tronçon. L'intestin se rétracte à l'intérieur du segment lésé. Quarante huit heures après la section, la cicatrisation semble achevée, le blastème de régénération apparaît le jour suivant sous la forme d'un renflement de 25 à 40μ de hauteur au niveau de la zone cicatricielle. Le blastème s'accroît rapidement et acquiert une morphologie caractéristique : massif, il est limité par une épaisse couche bien individualisée de tissu blanchâtre (Pl. I, fig. b) ; l'intestin est toujours placé en retrait de la zone en néoformation. Quatre jours après la section, le blastème mesure 40 à 80μ de longueur, le lendemain 100 à 120μ . Jusqu'à ce stade, il est trapu (300 à 360μ de largeur au 5ème jour) ; après le 6ème jour il s'allonge.

La différenciation du blastème s'observe généralement à partir du 5ème jour. Les ébauches des antennes et des palpes apparaissent les premières (5ème jour) puis les taches pigmentaires à l'origine des yeux se différencient (7ème jour). L'apparition des ébauches de cirres tentaculaires du péristomium ne s'observe qu'au 15ème jour après la section ; le blastème mesure alors 360μ de longueur, sa largeur restant inchangée (360μ). La mise en place des parapodes du premier segment sétigère a lieu le vingtième jour (Pl. I, fig. d). La croissance du régénérat s'arrête 40 jours environ après l'amputation : il est formé du prostomium suivi du péristomium et de trois à quatre segments sétigères.

L'intestin ne se prolonge pas dans le régénérat ; seuls les vaisseaux sanguins y pénètrent (Pl. I, fig. d).

II - OBSERVATIONS HISTOLOGIQUES

A) REGENERATION POSTERIEURE

1) 6 heures après la section

La musculature pariétale de l'extrémité postérieure du segment lésé assure l'obturation de la cavité coelomique. L'épiderme recouvre partiellement le front de section ; il délimite une zone (jusqu'à 150 μ de diamètre) dépourvue de tégument où les fibres musculaires sont en contact direct avec le milieu extérieur. Au niveau de l'amputation, les cellules épidermiques s'allongent (leur hauteur passe de 10-15 μ à 20-25 μ), le noyau augmente de volume et devient elliptique ; le nucléole est petit, la chromatine régulièrement dispersée dans le nucléoplasme.

La chaîne nerveuse, intimement associée à l'épiderme ventral, est présente jusqu'au niveau du front de section.

La paroi de la portion terminale de l'intestin s'est infléchie assurant ainsi l'obturation du tractus digestif ; à ce niveau les noyaux de l'épithélium digestif ont une taille normale (4 μ de diamètre) mais présentent un nucléole relativement important, les plus volumineux atteignant un diamètre de 1 μ .

2) 24 heures après la section

La cicatrisation est amorcée. Au niveau de la section, les cellules épidermiques s'orientent parallèlement à la surface du tégument, s'allongent considérablement et, par glissement, tendent à recouvrir la surface de la musculature pariétale qui, jusqu'à présent, assurait la fermeture de la plaie (Pl. II, fig. c et d). Les cellules épidermiques proches du front de section et non impliquées dans ce déplacement présentent un cytoplasme clair et un noyau dans lequel on distingue souvent un nucléole entouré d'une zone claire dépourvue de chromatine (Pl. II, fig. b).

L'espace coelomique compris entre l'extrémité de l'intestin et la zone cicatricielle contient un nombre important de corpuscules ovoïdes ou fusiformes

d'une longueur de 5 à 20 μ , présentant parfois un aspect fibrillaire parallèlement à leur plus grand axe et, très souvent, une ou plusieurs sphérules homogènes ne montrant aucune affinité pour les colorants nucléaires (Pl. II, fig. a). Ces formations dépourvues de noyau représentent des stades de dégénérescence de fibres musculaires lésées lors de la section ; leur aspect contracté, et la variabilité de leurs affinités tinctoriales témoignent en faveur de cette interprétation.

Le tube digestif est toujours placé en retrait et présente le même aspect que précédemment.

3) 48 heures après la section

La cicatrisation est terminée. Les cellules cicatricielles, issues des bords de l'épiderme sectionné recouvrent complètement l'extrémité du segment blessé ; elles s'orientent perpendiculairement à la surface et reconstituent un feuillet épidermique continu qui se distingue de l'épiderme ancien par la présence d'une cuticule mince (0,5 à 1 μ d'épaisseur au maximum). D'autre part, elles contiennent un cytoplasme basophile et un noyau caractéristique présentant un contour très marqué, un nucléole volumineux (jusqu'à 2 μ de diamètre) intensément coloré et excentré par rapport au noyau, et une zone périnucléolaire claire limitée par un chapelet de mottes de chromatine. Ces modifications cytologiques caractéristiques des cellules blastogénétiques, ont été souvent signalées par de nombreux auteurs et désignées sous le terme d'"activation" (ABELOOS 1932, 1955). Pour des raisons de commodité, nous maintiendrons ce terme et désignerons par "cellule activée" toute cellule présentant les caractères énumérés ci-dessus.

A ce moment, un très petit blastème, non encore observable in vivo, se manifeste à l'extrémité postérieure du tronçon sous la forme d'un bombement de l'épiderme cicatriciel. Il intéresse plus particulièrement la partie ventrale du front de section ; un anneau de fibres musculaires circulaires fortement contractées le délimite nettement du tronçon souche. Cet anneau, de diamètre réduit (le quart de celui du ver), résulte de la contraction des fibres musculaires circulaires pariétales et disséminées au moment de la section, ce phénomène ayant permis l'obturation de la cavité coelomique et favorisé la cicatrisation par rapprochement des bords de la plaie.

Les vaisseaux sanguins, ventral et dorsal, viennent buter sur l'anneau; ils ne semblent pas pénétrer dans l'ébauche de blastème. Par contre, les fibres nerveuses de la chaîne ganglionnaire ventrale se glissent sous les fibres musculaires circulaires contractées du front de section et envahissent discrètement la partie axio-ventrale de la zone cicatricielle.

L'épithélium intestinal, complètement cicatrisé, s'allonge et bourgeonne un diverticule aveugle en direction de l'épiderme cicatriciel sans toutefois l'atteindre. Les noyaux de la partie terminale de l'épithélium intestinal s'arrondissent, augmentent de volume (4,5 μ de diamètre) et présentent un nucléole (1,5 μ de diamètre) autour duquel s'ébauche parfois une auréole claire; ceux du diverticule sont ovoïdes (5 μ de longueur) pourvus d'un nucléole relativement important (1,5 μ de diamètre) inclus dans un espace clair (2 μ de diamètre), et baignent dans un cytoplasme légèrement basophile (fig. 1, A et B).

La splanchnopleure de l'extrémité du dernier segment s'épaissit considérablement (jusqu'à 15 μ de hauteur) (fig. 2, B, C et D). Ses cellules, d'aspect piriforme, sont reliées au tube digestif par un pédoncule cytoplasmique; la partie renflée fait saillie dans le coelome et contient un noyau sphérique muni généralement d'un petit nucléole. A l'extrémité de l'intestin, elles semblent se détacher de leur support; elles apparaissent sous la forme de petites cellules sphériques apparemment libres, de 6 à 7 μ de diamètre, à noyau relativement volumineux (4 μ de diamètre) pourvu d'un petit nucléole (0,5 μ de diamètre). Le revêtement coelomique pariétal, proche de l'amputation subit aussi une hypertrophie (fig. 2, D). Il semble qu'un nombre plus ou moins important des cellules des épithéliums coelomiques de l'extrémité postérieure du segment blessé tendent à se libérer de leur assise. Ces éléments, ordinairement très aplatis et étalés sur la musculature pariétale, disséminaire ou péri-intestinale, se condensent en une masse compacte et semblent se déplacer par glissement, sur la structure sous-jacente, en direction du front de section. A ce niveau, elles s'accumulent dans l'ébauche de cavité coelomique derrière l'épiderme cicatriciel; elles y sont le siège de transformations importantes: le noyau, ovoïde, augmente de volume (de 5 à 7 μ de longueur), le nucléole grossit (jusqu'à 2 μ de diamètre), une zone périnucléolaire claire apparaît et peut atteindre un diamètre important (jusqu'à 3 μ), une légère basophilie cytoplasmique commence à se manifester; les cellules dont les transformations sont les

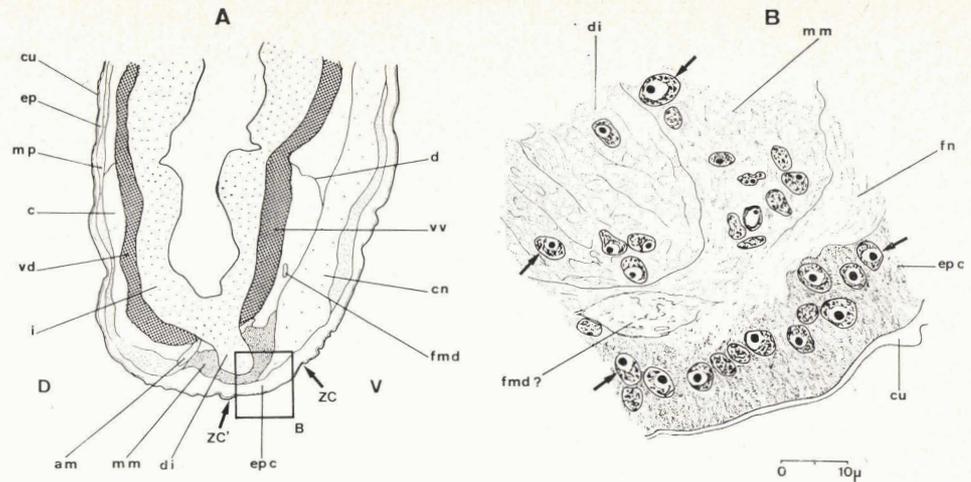


FIG. 1 — Régénération postérieure chez *S. amica* (48 heures après la section).
Coupe sagittale.

A. Vue d'ensemble de l'extrémité postérieure du tronçon. Remarquer le diverticule intestinal (*di*).

B. Détail de la zone cicatricielle. Noter l'abondance des cellules activées (flèches).

am : anneau musculaire; *c* : cœlome; *cn* : chaîne nerveuse; *cu* : cuticule; *D* : face dorsale; *d* : dissépinement; *di* : diverticule intestinal; *ép* : épiderme; *epc* : épiderme cicatriciel; *fmd* : fibre musculaire en dégénérescence; *fn* : fibres nerveuses; *i* : intestin; *mm* : massif mésodermique; *mp* : musculature parietale; *V* : face ventrale; *vd* : vaisseau dorsal; *vv* : vaisseau ventral; *ZC-ZC'* : limites de la zone cicatricielle.

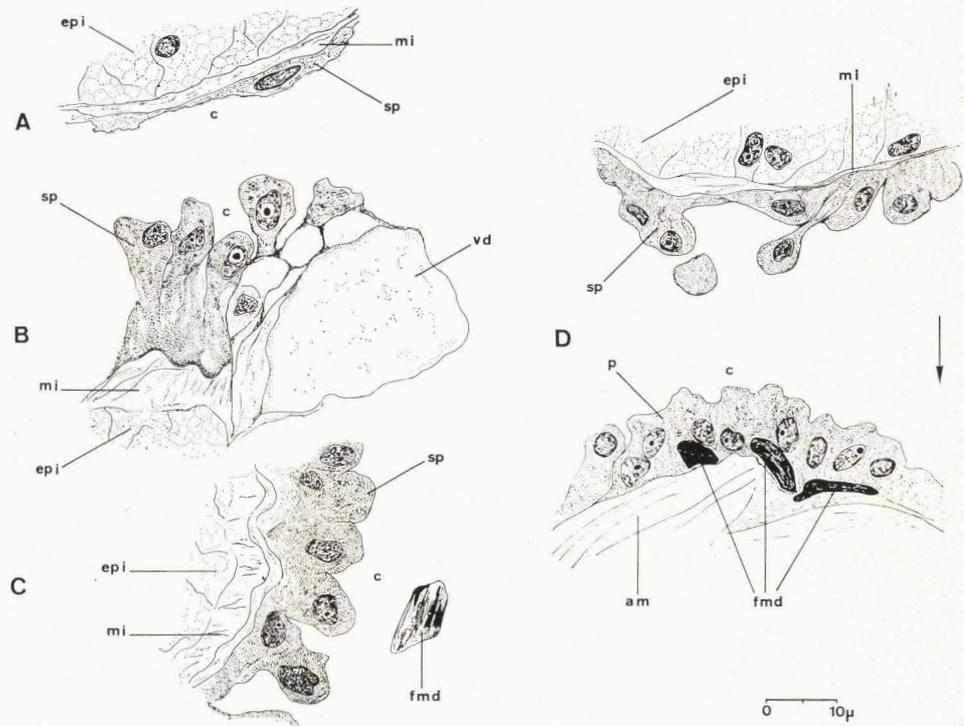


FIG. 2 — Régénération postérieure chez *S. Amica* (48 heures après la section).
Vue de détail des parois cœlomiques du dernier segment.

- A. Splanchnopleure (*sp*) de la moitié antérieure du dernier segment (coupe transversale).
B. Splanchnopleure (*sp*) de l'extrémité postérieure du dernier segment à proximité du vaisseau dorsal (coupe transversale).
C. Splanchnopleure (*sp*) de l'extrémité postérieure du dernier segment (coupe transversale).
D. Extrémité postérieure du dernier segment (coupe longitudinale). La flèche indique le sens caudal.

am : anneau musculaire; *c* : cœlome; *épi* : épithélium intestinal; *fmd* : fibre musculaire en dégénérescence; *mi* : musculature péri-intestinale; *p* : pariétopleure; *sp* : splanchnopleure; *vd* : vaisseau dorsal.

BUS
LILLE

plus avancées sont toujours situées du côté ventral, à proximité de la chaîne nerveuse. Il est intéressant de remarquer que seules les parois coelomiques de l'extrémité postérieure du dernier segment (correspondant au tiers environ de la longueur du segment) subissent une hypertrophie ; celles de la partie antérieure du dernier segment, tout comme celles des segments le précédant ne subissent aucune transformation (fig. 2, A). Ces observations semblent indiquer que seules les cellules des parois coelomiques situées à proximité immédiate du front de section sont "appelées" vers celui-ci.

48 heures après amputation, la majorité des débris musculaires a disparu ; un certain nombre d'entre eux se rencontre encore à l'état libre dans le coelome ; d'autres semblent inclus dans les cellules coelomiques pariétales et splanchnopleurales ou, plus rarement, incorporés dans le massif mésodermique situé derrière l'épiderme cicatriciel.

4) 3 jours après la section

L'épiderme cicatriciel manifeste une activité mitotique importante et se développe considérablement. Recouvert par une cuticule mince (1μ d'épaisseur), il est formé d'une couche unique de cellules à cytoplasme très basophile, allongées perpendiculairement à la surface. Le noyau, volumineux, contient un gros nucléole (jusqu'à 2μ de diamètre) entouré d'une zone péri-nucléolaire claire importante (3 à $3,5 \mu$ de diamètre) ; il est ovoïde (6 à $6,5 \mu$ sur $3,5$ à 4μ) et orienté parallèlement à l'axe de la cellule.

Les fibres nerveuses provenant de la chaîne ventrale de la souche se sont allongées et occupent la zone axio-ventrale du blastème (Pl. III, fig. a).

Le diverticule intestinal pénètre dans l'épiderme cicatriciel. Corrélativement, une courte invagination ectodermique se creuse à proximité de l'extrémité de l'intestin ; à ce niveau, les cellules épidermiques se soudent à celles de l'épithélium digestif (Pl. III, fig. b).

Les cellules mésodermiques se détachent encore activement des parois coelomiques de l'extrémité du dernier segment (Pl. III, fig. c). Elles remplissent l'espace compris entre l'épiderme et le tractus digestif néoformé et constituent un tissu relativement compact. Celles situées à proximité immédiate des fibres nerveuses régénérées subissent des remaniements importants ; elles augmentent de taille, le cytoplasme devient très basophile, le noyau s'arrondit et

s'accroît considérablement (jusqu'à 6μ de diamètre) ; le nucléole, volumineux (jusqu'à 3μ de diamètre), intensément coloré est excentré et baigne dans une zone claire et homogène, de diamètre important ($3,5$ à 4μ) ; la chromatine, répartie en mottes sur un fond dense, est disposée autour de l'espace clair (Pl. III, fig. d).

Les débris musculaires ont complètement disparu.

5) 4 jours après la section

L'activité mitotique de l'épiderme cicatriciel se maintient ; l'orientation des fuseaux lors de la division (parallèlement à la surface) permet un allongement rapide du blastème ; à ce stade, il atteint une longueur de 80μ et présente une forme massive (largeur 150μ ; épaisseur 100μ). Les ébauches de cirres anaux apparaissent sous forme d'un soulèvement de l'épiderme ; l'anus est percé.

L'aspect des feuillets coelomiques de l'extrémité du dernier segment est identique à celui observé précédemment et de nombreuses cellules semblent encore s'en détacher. Les cellules mésodermiques occupent complètement l'espace compris entre l'épiderme et le tube digestif néoformés ; suivant leur position dans le blastème, elles présentent un aspect différent.

- Dans la partie ventrale, elles sont groupées en deux cordons latéraux de section ovalaire (60μ sur 30μ) relativement bien individualisés ; elles sont sphériques, de grande taille et tassées les unes contre les autres ; certaines sont basophiles et présentent un gros noyau à nucléole volumineux et zone périnucléolaire importante.

- Dans les parties dorsale et latéro-dorsales du blastème, les cellules mésodermiques sont très allongées, ramifiées, et constituent un tissu lacuneux ; leur noyau est identique à celui de cellules non activées.

Ce stade se caractérise essentiellement par l'abondance des divisions cellulaires ; elles affectent l'épiderme du blastème et l'épithélium digestif des deux derniers segments ; l'activité mitotique des cellules mésodermiques est faible (tableau 4).

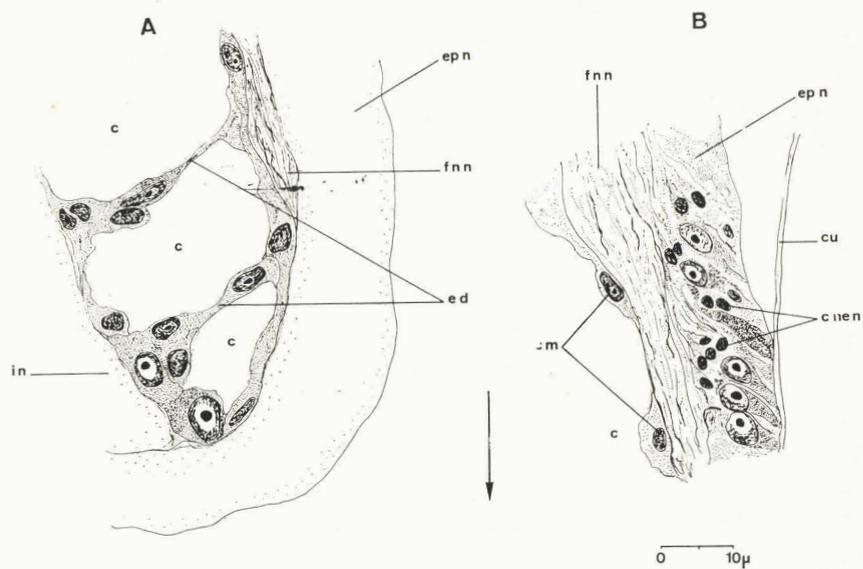


FIG. 3 — Régénération postérieure chez *S. amica* (coupe sagittale).
 A. 6 jours après la section, mise en place des dissépiments.
 B. 7 jours après la section, différenciation de cellules nerveuses.
 c : cœlome; cm : cellules mésodermiques; cnen : cellules nerveuses néoformées; cu : cuticule; ed : ébauche de dissépiment; epn : épiderme néoformé; fnn : fibres nerveuses néoformées; in : intestin néoformé;
 La flèche indique le sens caudal.

BBS
WELC

De nombreuses divisions cellulaires se produisent toujours au sein de l'épiderme néoformé, en particulier sur la face ventrale ; la majorité d'entre elles apparaissent de façon synchrone, par vagues successives. L'allongement rapide du blastème qui en résulte, provoque un bouleversement dans la répartition spatiale des cellules mésodermiques qui, jusqu'à 6 jours environ après la section, occupent de façon apparemment anarchique la cavité coelomique néoformée. A partir de ce stade, les cellules sont regroupées suivant deux zones privilégiées (fig. 3, A). Un nombre relativement restreint d'entre elles (une trentaine environ) restent concentrées dans les zones ventrale et latéro-ventrales de l'extrémité du blastème leur morphologie est tout à fait caractéristique : noyau sphérique hypertrophié (jusqu'à 8μ de diamètre), nucléole volumineux ($2,5\mu$ de diamètre), zone péri-nucléolaire importante (jusqu'à 5μ de diamètre), cytoplasme très basophile. Nous considérons ces éléments comme une réserve de cellules mésodermiques indifférenciées analogues à celle existant dans le pygidium normal et destinée à assurer l'édification des structures mésodermiques lors de la croissance du ver.

Les autres cellules mésodermiques se fixent sur l'épithélium intestinal et l'épiderme néoformés où elles constituent un revêtement continu ; un certain nombre d'entre elles se disposent selon une direction perpendiculaire à l'axe du ver ébauchant ainsi les futurs dissépiments. Leur noyau, sphérique ou ovoïde (5μ de diamètre) possède un nucléole relativement important ($1,5\mu$ de diamètre) baignant parfois dans une zone claire de petite taille ; le cytoplasme est beaucoup moins basophile que celui des cellules hypertrophiées de l'extrémité du blastème. Ces cellules différencieront toutes les formations mésodermiques du régénérat.

B) REGENERATION ANTERIEURE

1) 24 heures après la section

La cicatrisation s'effectue de la même manière que dans la régénération caudale par glissement des cellules épidermiques des bords de la plaie. Au niveau de la zone d'amputation, on observe un grand nombre de corpuscules ovoïdes ou fusiformes analogues à ceux observés dans la régénération caudale ; ils représentent des fibres musculaires en dégénérescence.

2) 48 heures après la section

La cicatrisation est complètement terminée ; elle intéresse la zone axio-ventrale du front de section. L'épiderme cicatriciel est formé de cellules allongées perpendiculairement à la surface de l'épithélium et séparées du milieu extérieur par une cuticule mince ($0,5 \mu$ d'épaisseur). Les cellules cicatricielles présentent un cytoplasme légèrement basophile ; leur noyau, ovoïde, est situé dans la partie basale de la cellule et possède, dans la plupart des cas, un nucléole volumineux (jusqu'à 2μ de diamètre) entouré d'une zone périnucléolaire claire plus ou moins développée ($3,5$ à 4μ de diamètre) (fig. 4). Les dimensions des noyaux des cellules épidermiques activées ($6,5 \mu$ sur $3,5 \mu$) sont supérieures à celles des noyaux épidermiques quiescents (5μ sur 3μ).

La chaîne nerveuse, légèrement rétractée à l'intérieur du segment blessé paraît isolée de l'extrémité du tronçon par un tissu qui semble prolonger le cordon nerveux et s'épanouit contre la paroi du front de section. Ce tissu constitue un massif d'aspect fibreux ; il contient de nombreux noyaux sub-sphériques ou ovoïdes (5μ sur 3μ) dont certains possèdent un nucléole relativement gros (1 à $1,5 \mu$ de diamètre) et parfois entouré d'une zone claire ; les limites cellulaires sont peu visibles, le cytoplasme peu dense semble homogène (fig. 4 et 5). Ce massif est en relation avec la pariétoleure de l'extrémité du métamère sectionné et se distingue nettement du tissu nerveux auquel il est accolé. D'autre part, il est appliqué étroitement contre l'épiderme cicatriciel sans interposition apparente de basale (fig. 4) ; quelques tractus cytoplasmiques le relient parfois à la paroi coelomique du dissépiment proche de la section. Cette formation, d'origine mésodermique, est constituée par des éléments provenant essentiellement de l'amas de cellules situées autour de la chaîne nerveuse derrière le dissépiment 50/51 au niveau duquel la section a été effectuée. La faible distance séparant les cellules mésodermiques post-dissépimentaires de la zone d'amputation explique la précocité de leur apparition derrière l'épiderme cicatriciel. Cependant, la présence de nombreux tractus cytoplasmiques reliant le massif mésodermique aux parois coelomiques de l'extrémité antérieure du premier segment nous incite à penser que ces dernières contribuent aussi à son édification. Comme dans la régénération caudale, les cellules mésodermiques semblent attirées vers l'épiderme cicatriciel et se déplacent dans sa direction par glissement le long des

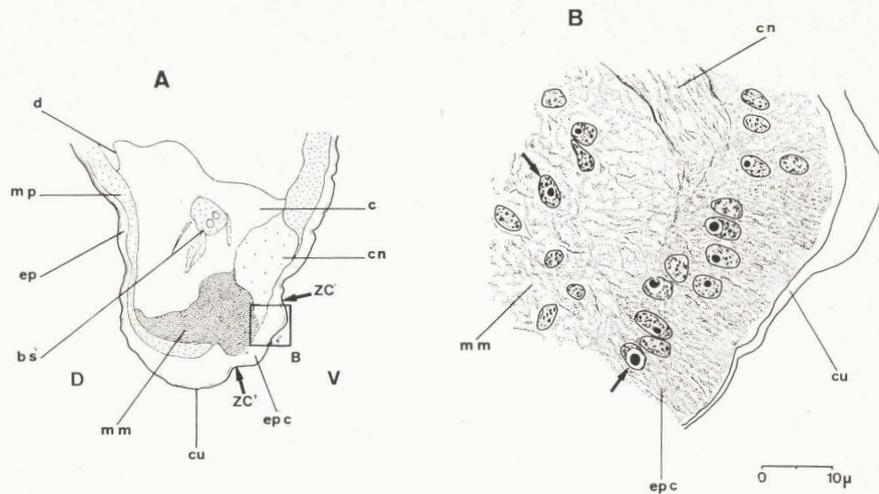


FIG. 4 — Régénération antérieure chez *S. amica* (48 heures après la section).
Coupe sagittale.

A. Vue d'ensemble de l'extrémité antérieure du tronçon.

B. Vue de détail de l'épiderme cicatriciel. Remarquer les cellules activées (flèches).

bs : bulbe sétigère; *c* : cœlome; *cn* : chaîne nerveuse; *cu* : cuticule; *D* : face dorsale; *d* : dissépiment; *ép* : épiderme; *epc* : épiderme cicatriciel; *mm* : massif mésodermique; *mp* : muscles pariétaux; *V* : face ventrale; *ZC-ZC'* : limites de la zone cicatricielle.

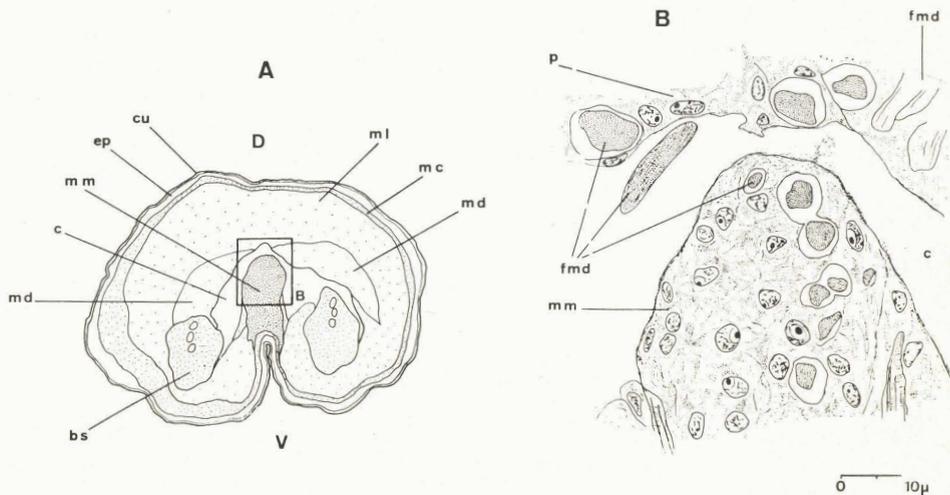


FIG. 5 — Régénération antérieure chez *S. amica* (48 heures après la section).
Coupe transversale.

A. Vue d'ensemble d'une coupe passant à proximité du front de section.

B. Vue de détail du massif mésodermique.

bs : bulbe sétigère; *c* : cœlome; *cu* : cuticule; *D* : face dorsale; *ép* : épiderme; *fmd* : fibre musculaire en dégénérescence; *mc* : muscles circulaires; *md* : muscles dissépimentaires; *ml* : muscles longitudinaux; *mm* : massif mésodermique; *p* : pariétopleure; *V* : face ventrale.

parois du corps ; l'attraction suscitée par la zone en néoformation est soulignée par l'allongement des cellules du massif mésodermique suivant un axe orienté très souvent vers la blessure.

Des fibres nerveuses provenant de l'extrémité sectionnée de la chaîne ganglionnaire ventrale s'allongent et se glissent entre l'épiderme cicatriciel et le massif mésodermique suivant un processus analogue à celui observé dans la régénération caudale.

A ce stade, le nombre de débris musculaires a considérablement diminué. On peut encore en observer à l'état libre dans le coelome ou entre les faisceaux musculaires à proximité du front de section. D'autres, inclus dans le massif mésodermique, parfois au milieu d'un espace clair dont les limites extérieures sont nettes et régulières (fig. 5), semblent avoir été entraînés dans le courant de cellules mésodermiques ou phagocytées par celles-ci.

L'intestin est toujours placé en retrait du niveau d'amputation ; ses bords se sont infléchis vers l'intérieur du canal alimentaire entraînant avec eux les vaisseaux sanguins dorsal et ventral ; ces derniers, amenés au contact l'un de l'autre fusionnent et rétablissent la continuité du circuit sanguin (Pl. IV, fig. b). La splanchopleure est identique à celle d'un ver n'ayant pas été amputé, même au niveau de l'extrémité antérieure de l'intestin ; aucune cellule ne s'en détache. Les cellules de l'épithélium intestinal ne manifestent pas de signes d'activation.

3) 3 jours après la section

De nombreuses mitoses apparaissent dans l'épiderme cicatriciel ; l'orientation des fuseaux de division (perpendiculaires ou parallèles à la surface du tégument) détermine à la fois un épaissement et un étalement de l'épiderme cicatriciel qui correspond sans doute à l'épaisse couche de tissu observée sur le vivant à la limite périphérique du blastème. La plupart des cellules cicatricielles sont activées ; leur cytoplasme est très basophile et contient un noyau volumineux (7μ sur 4μ) dont le nucléole (2μ de diamètre) baigne dans une zone claire ($4,5\mu$ de diamètre). Une cuticule mince (1μ d'épaisseur) les recouvre extérieurement (Pl. IV, fig. a et c).

L'activité du massif mésodermique se précise. Les noyaux ont acquis une taille importante (6μ sur $4,5\mu$) et présentent un gros nucléole ($1,5\mu$ de diamètre).

le cytoplasme devient basophile (Pl. IV, fig. d). Certaines de ses cellules se divisent (Pl. IV, fig. c). Dans la plupart des cas, les débris musculaires ont disparu.

Les fibres nerveuses provenant de l'extrémité sectionnée de la chaîne ventrale s'allongent entre l'épiderme cicatriciel et le massif mésodermique (Pl. IV, fig. a).

L'intestin est complètement cicatrisé (Pl. IV, fig. b) ; il ne semble pas participer aux processus régénérateurs.

4) 4 jours après la section

L'activation des cellules de l'épiderme cicatriciel et du massif mésodermique atteint son maximum d'intensité. Les divisions cellulaires sont nombreuses. A ce stade, l'épiderme cicatriciel est représenté par une assise d'épaisseur importante (30 μ environ) que l'on peut facilement observer sur le vivant (Pl. I, fig. c).

5) 5 jours après la section

L'activité mitotique est très intense, particulièrement au niveau de l'épiderme cicatriciel. Corrélativement à l'augmentation du nombre de divisions cellulaires, nous avons constaté une diminution sensible du nombre de cellules activées et, parmi celles-ci, une régression de l'activation ; les plus activées présentent un noyau dont le plus grand axe atteint 7 μ au maximum ; leur nucléole mesure 2 μ de diamètre, la zone périnucléolaire 3,5 μ environ.

D'autre part, dans la partie profonde de l'épiderme cicatriciel, les cellules épidermiques subissent un important remaniement ; elles ne possèdent plus les signes d'activation observés précédemment ; leur noyau, petit, sphérique (3,5 à 4 μ de diamètre) est dépourvu de nucléole. En outre, elles différencient un réseau de fibres qui s'insinuent parmi celles provenant de l'extrémité sectionnée de la chaîne nerveuse ventrale. Nous pensons que ces cellules, constituent la première ébauche des ganglions cérébroïdes.

La plupart des cellules du massif mésodermique ont repris un aspect normal ; la taille du noyau est analogue à celle des noyaux quiescents, la chromatine est uniformément répartie dans le nucléoplasme et le nucléole n'est plus visible. Cependant, certaines d'entre elles présentent encore quelques indices d'activation : leur noyau contient un petit nucléole (1 μ de diamètre) entouré

d'une zone claire relativement peu développée ($2\ \mu$ de diamètre). A ce stade, le massif mésodermique est beaucoup moins compact qu'il ne l'était auparavant ; les cellules se sont éloignées les unes des autres tout en restant reliées entre elles par de nombreux prolongements cytoplasmiques, de sorte que le massif mésodermique présente maintenant un aspect lacuneux. Néanmoins, il reste appliqué contre la basale qui le sépare de la zone ectoneurale du blastème ; à ce niveau il constitue une assise cellulaire continue dont l'épaisseur varie entre $20\ \mu$ (zone axiale du blastème) et $5\ \mu$ (base du blastème).

L'extrémité antérieure des vaisseaux sanguins soudés devant l'intestin bourgeonne un vaisseau qui s'allonge vers le front de section. L'épithélium intestinal ne manifeste aucune activité.

6) 6 jours après la section

La prolifération épidermique se traduit par un allongement du blastème et l'apparition des ébauches des palpes et des antennes. Les ganglions cérébroïdes et le collier périoesophagien sont différenciés et reliés à la chaîne nerveuse du tronçon. Les cellules mésodermiques provenant du massif mésodermique recouvrent complètement les parois du blastème ; elles possèdent un noyau ovoïde quiescent et un cytoplasme clair. Certaines d'entre elles se glissent dans les ébauches de palpes ; à ce niveau, elles sont activées (fig. 6).

7) 7 jours après la section

Le prostomium est complètement différencié ; les taches pigmentaires oculaires sont apparues, les antennes et les palpes ont atteint leur taille normale. Les cellules épidermiques de la base du régénérat se divisent activement, permettant ainsi son allongement. Les cellules du massif mésodermique glissent sous l'épiderme régénéré où elles constituent un revêtement de faible épaisseur qui le sépare de la cavité coelomique ; elles assureront la reconstitution des structures mésodermiques des nouveaux segments. Le tube digestif est toujours placé en retrait du niveau d'amputation. Seul le vaisseau sanguin issu de la fusion des vaisseaux ventral et dorsal du tronçon pénètre dans le régénérat ; il en occupe la partie axiale et se prolonge jusqu'au prostomium où il est étroitement appliqué contre le feuillet mésodermique qui recouvre la face interne des ganglions cérébroïdes (fig. 7). Bien que l'intestin soit éloigné de l'extrémité

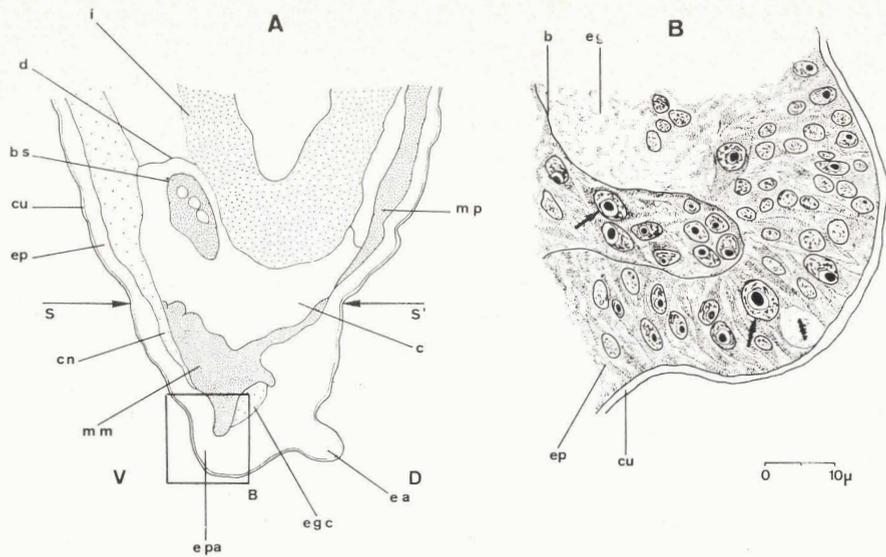


FIG. 6 — Régénération antérieure chez *S. amica* (6 jours après la section).
Coupe sagittale.

A. Vue d'ensemble de l'extrémité antérieure du tronçon.

B. Vue de détail de l'ébauche d'une palpe. Remarquer les cellules activées (flèches).

b : basale; *bs* : bulbe sétigère; *cn* : chaîne nerveuse; *cu* : cuticule; *D* : face dorsale; *d* : dissépinent; *ea* : ébauche d'antenne; *egc* : ébauche de ganglions cérébroïdes; *ép* : épiderme; *épe* : ébauche de palpe; *i* : intestin; *mm* : massif mésodermique; *mp* : muscles pariétaux; *SS'* : niveau de section; *V* : face ventrale.

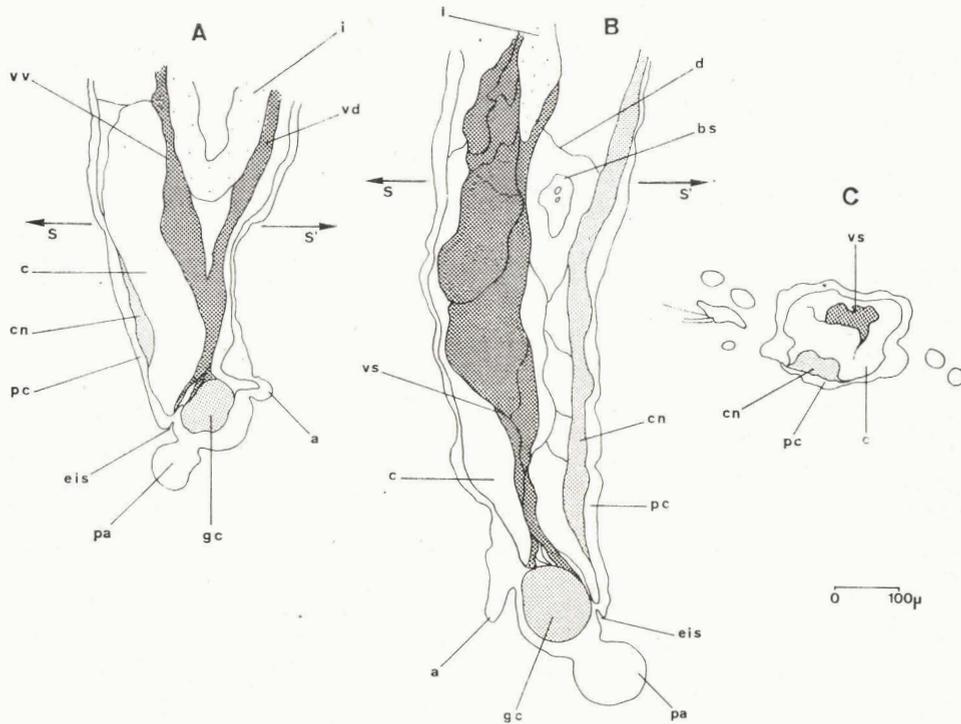


FIG. 7 — Régénération antérieure chez *S. amica*.

A. 15 jours après la section. Coupe sagittale (prostomium + péristomium + 1 segment).

B. 45 jours après la section. Coupe sagittale (prostomium + péristomium + 5 segments).

C. 50 jours après la section. Coupe transversale du régénérat (prostomium + péristomium + 5 segments).

a : antenne; *bs* : bulbe sétigère; *c* : cœlome; *cn* : chaîne nerveuse; *d* : dissépinent; *eis* : ébauche de l'invagination stomodéale; *gc* : ganglions cérébroïdes; *i* : intestin; *pa* : palpe; *pc* : paroi du corps; *SS'* : niveau de section; *vd* : vaisseau dorsal; *vs* : vaisseau sanguin; *vv* : vaisseau ventral.



antérieure du régénérat une courte invagination stomodéale reliée au vaisseau par l'intermédiaire de cellules mésodermiques, se forme au niveau de la face ventrale du péristomium (fig. 7). Cette observation suggère que la différenciation de l'invagination stomodéale est indépendante de la présence de l'intestin.

III - DISCUSSION

L'étude histologique de la régénération céphalique et caudale chez S. amica nous amène à souligner les points communs et les différences existant entre ces deux types de morphogenèse. Nous considérerons donc successivement, (A) l'évolution des tissus intéressés par la section, (B) l'origine des cellules de régénération et (C) leur évolution.

A) EVOLUTION DES TISSUS INTERESSES PAR LA SECTION

Chez S. amica, immédiatement après la section, le déroulement des événements est identique dans les tronçons antérieur et postérieur ; la paroi du corps s'infléchit sous l'action des fibres musculaires pariétales circulaires situées au niveau du front de section et assure l'obturation de la cavité coelomique par rapprochement des bords de la plaie ; corrélativement, l'intestin se rétracte à l'intérieur du segment blessé. Une extrusion du tube digestif peut se produire au niveau du front de section ; cet incident, peu fréquent, est indépendant de la régénération du tronçon qui ne survient généralement qu'après la résorption de l'extrusat.

C'est à partir du deuxième jour suivant l'amputation que des différences apparaissent dans l'évolution des tissus intéressés par la section. Elles concernent principalement l'épithélium intestinal du tube digestif sectionné et la paroi des vaisseaux sanguins dorsal et ventral.

- Dans la régénération caudale, l'extrémité cicatrisée de l'intestin s'allonge en direction du front de section et se soude à l'épiderme cicatriciel ; la splanchnopleure peut donc entrer en contact avec la zone en néoformation et participer à la régénération. Les vaisseaux sanguins ne pénètrent pas dans le blastème.

- Dans la régénération céphalique, la continuité de l'intestin avec l'épiderme n'est jamais rétablie. L'extrémité de l'intestin sectionné cicatrise mais ne s'allonge pas en direction du front de section ; la splanchnopleure, éloignée de la zone cicatricielle, ne peut pas participer à la régénération et reste inactive. Par contre, les vaisseaux sanguins, dorsal et ventral, fusionnent et constituent un vaisseau important qui s'allonge dans le sens postéro-antérieur jusqu'au niveau du revêtement mésodermique recouvrant la face interne des ganglions cérébroïdes néoformés.

Cependant, il semble que le comportement de l'intestin dans les tronçons postérieurs varie en fonction du niveau de section. Lors d'une section intersegmentaire, passant entre le 50^{ème} et le 51^{ème} métamères (niveau SS' de la fig. 8, correspondant au cas décrit) l'extrémité du tube digestif sectionné, uniquement maintenue par le dissépiment 51/52 se rétracte à l'intérieur du segment 51 et se trouve donc éloignée du front de section. Lors d'une section interdissépimentaire (niveau TT' de la fig. 8) ou prédissépimentaire (niveau UU' de la fig. 8), la rétraction de l'intestin à l'intérieur du segment lésé est moins importante que dans le cas précédent de sorte qu'il se maintient à proximité de la zone en néoformation. Dans ce cas, l'extrémité de l'intestin s'évagine et se met parfois en rapport avec une invagination stomodéale située sur la face ventrale du péristomium (fig. 9 et 10). Cette observation nous permet de supposer que l'extrémité antérieure de l'intestin réagit à un stimulus émanant de la zone en néoformation, à condition d'être située dans le voisinage immédiat de la section.

Néanmoins, il apparaît clairement que la présence du tube digestif n'est pas indispensable à la différenciation du blastème céphalique : un régénérat antérieur peut être édifié sans que l'intestin intervienne (cas d'une section intersegmentaire). Par contre, dans la régénération postérieure, l'intestin participe constamment à l'édification du régénérat et semble jouer un rôle important dans la différenciation du blastème de régénération.

Les autres tissus intéressés par la section, qu'ils correspondent à des structures d'origine ectodermique (épiderme, chaîne nerveuse) ou mésodermique (musculature, endothéliums coelomiques) évoluent de façon analogue dans les deux types de régénération. Les fibres nerveuses sectionnées s'allongent et pénètrent

FIG. 8 — Localisation des sections transversales par rapport au dissépiment.

SS' : sections intersegmentaires ou dissépimentaires; TT' : section interdissépimentaire; UU' : section prédissépimentaire; c : cœlome; d : dissépiment; i : intestin; pc : paroi du corps; 50, 51, 52 : numéro d'ordre des segments de l'avant vers l'arrière.

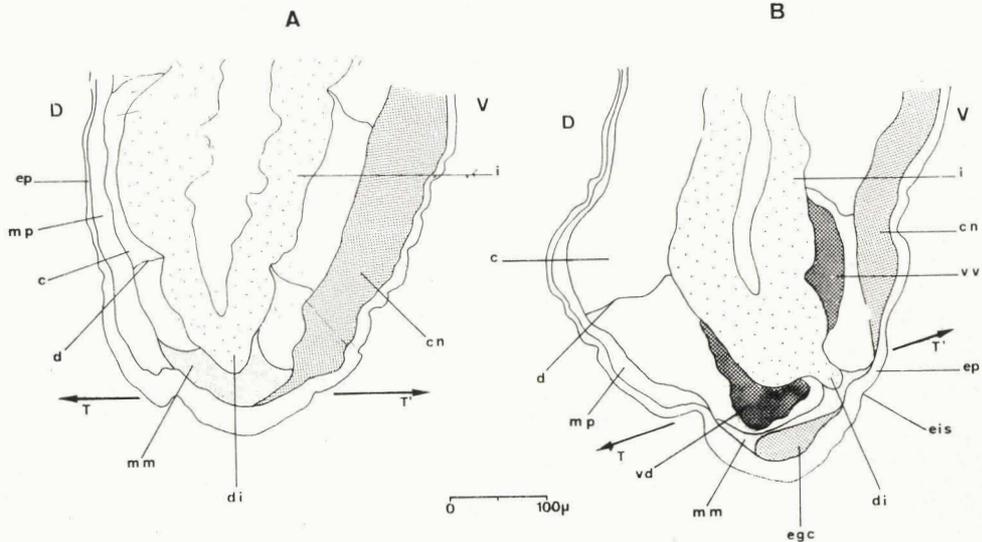
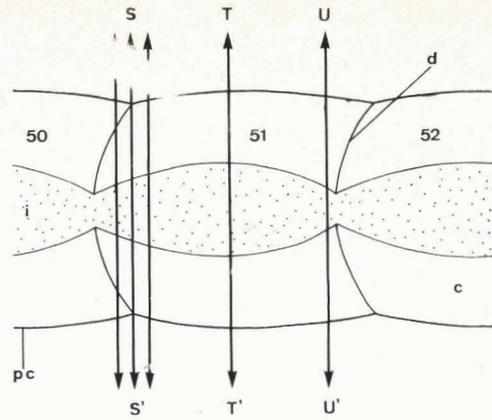


FIG. 9 — Régénération antérieure chez *S. amica* après section interdissépimentaire.

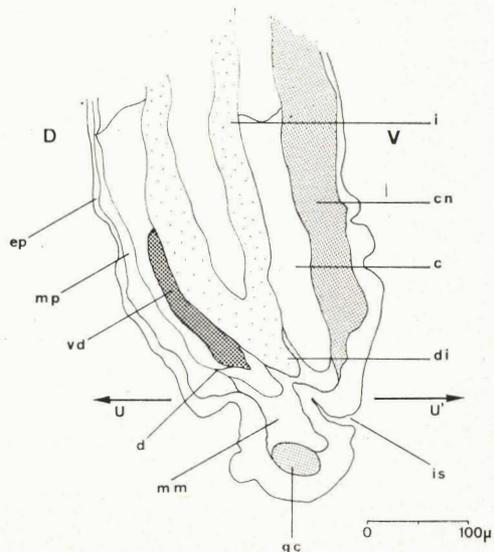
A. 4 jours après la section (coupe sagittale). Remarquer le diverticule intestinal. Une ressemblance frappante existe entre ce stade et celui décrit dans la régénération postérieure 48 heures après la section (fig. 1); seul l'épiderme pluristratifié de l'ébauche du blastème céphalique se distingue de l'épiderme cicatriciel unistratifié limitant la néoformation caudale.

B. 6 jours après la section (coupe sagittale). Remarquer le diverticule intestinal orienté vers l'ébauche d'invagination stomodéale.

c : cœlome; cn : chaîne nerveuse; D : face dorsale; di : diverticule intestinal; egc : ébauche des ganglions cérébroïdes; ep : épiderme; i : intestin; mm : massif mésodermique; mp : musculature pariétale; TT' : niveau de section; V : face ventrale; vd : vaisseau dorsal; vv : vaisseau ventral.

FIG. 10 — Régénération antérieure chez *S. amica* après section prédissépimentaire. 7 jours après la section. La jonction entre le diverticule intestinal et l'invagination stomodéale est pratiquement assurée.

c : cœlome; cn : chaîne nerveuse; D : face dorsale; d : dissépiment; di : diverticule intestinal; ep : épiderme; gc : ganglion cérébroïde; i : intestin; is : invagination stomodéale; mm : massif mésodermique; mp : musculature pariétale; V : face ventrale; vd : vaisseau dorsal; UU' : niveau de section.



BUS LILLE

dans le blastème. Les fragments anucléés des fibres musculaires lésées lors de l'amputation dégèrent rapidement et disparaissent dans un délai de 3 à 4 jours après la blessure. L'épiderme bordant la plaie et les endothéliums coelomiques situés à proximité du front de section assurent les restaurations respectives des structures ectoneurales et mésodermiques.

B) ORIGINE DES CELLULES DE REGENERATION

La régénération des structures amputées est assurée par l'épiderme, les épithéliums coelomiques et l'épithélium intestinal de la souche. Toutefois, chacun de ces trois tissus ne participe qu'à la restauration des formations correspondant au feuillet dont il est issu.

Dans la régénération caudale :

- l'épiderme restitue les formations ectoneurales du régénérat ;
- les endothéliums coelomiques pariétal, péri-intestinal et dissé-
pimentaire sont à l'origine des structures mésodermiques néoformées ;
- l'épithélium intestinal rétablit seul son intégrité.

Dans la régénération céphalique :

- l'épiderme assume le même rôle que dans la régénération caudale ;
- l'endothélium coelomique pariétal, dissé-
pimentaire et parfois péri-intestinal (lorsque l'intestin est suffisamment proche du front de section) fournit les cellules nécessaires au rétablissement des formations mésodermiques amputées ;

- l'épithélium intestinal ne se reconstitue pas.

D'autre part dans les deux cas, pour l'épiderme, les épithéliums coelomiques et l'épithélium intestinal, seules les cellules placées à proximité immédiate du front de section participent à la régénération.

Il existe donc trois catégories de cellules régénératrices chez S. amica:

- des cellules régénératrices ectodermiques (provenant de l'épi-
derme bordant la plaie) ;
- des cellules régénératrices mésodermiques (provenant des épi-
théliums coelomiques proches de la section) ;
- des cellules régénératrices endodermiques (provenant de l'épi-
thélium intestinal de l'extrémité blessée de l'intestin).

L'origine des cellules blastogénétiques est donc identique dans les deux types de morphogenèse : dans chacun des deux cas, elles proviennent des mêmes formations tissulaires. Néanmoins, la position de ces dernières par rapport au front de section peut introduire des différences en ce qui concerne leur participation à l'édification du blastème (cas de l'endothélium coelomique péri-intestinal dans la régénération antérieure après section intersegmentaire).

C) EVOLUTION DES CELLULES DE REGENERATION

Dès le début de l'histogenèse, les cellules de régénération évoluent de façon différente suivant qu'elles participent à l'édification d'un blastème caudal ou d'un blastème céphalique. L'évolution des cellules de régénération constitue donc le premier indice de la détermination morphogénétique du régénérat.

1) Cellules régénératrices ectodermiques

Certes, dans les deux tronçons, antérieur et postérieur, la cicatrisation s'effectue suivant des processus identiques. Les cellules épidermiques bordant la plaie s'étirent à la surface des masses musculaires pariétales, obstruant l'extrémité blessée du tronçon, et les recouvrent totalement en 48 heures environ ; elles constituent un épiderme cicatriciel unistratifié dont les éléments ne vont pas tarder à s'activer.

Néanmoins, lors du 2ème - 3ème jour suivant l'amputation, moment correspondant au déclenchement des mitoses au niveau de l'épiderme cicatriciel, l'orientation des fuseaux de division par rapport à la surface du tégument apporte le premier indice histologique de la polarité du futur régénérat.

Dans le cas d'une régénération postérieure, les fuseaux sont orientés parallèlement à la surface de l'épiderme cicatriciel de sorte qu'il ne peut s'accroître que dans les directions favorisant son étalement.

Par contre, dans la régénération antérieure, les fuseaux sont placés parallèlement ou perpendiculairement à la surface de l'épiderme cicatriciel ; comme dans la régénération postérieure l'orientation des fuseaux de division parallèlement à la surface de l'épiderme cicatriciel permet à ce dernier de s'accroître dans le sens d'un étalement assurant ainsi l'allongement du blastème ; les fuseaux placés perpendiculairement à la surface de l'épiderme cicatriciel entraîne une pluristratification de celui-ci. L'épaississement de l'épiderme cicatriciel, caractéristique des blastèmes céphaliques, est probablement en

rapport avec la différenciation nerveuse de ses éléments profonds qui constitueront les futurs ganglions cérébroïdes.

Une pluristratification de l'épiderme cicatriciel peut aussi être observée dans la zone axiale de la face ventrale des régénérats caudaux au niveau où se différencient les neurones de la chaîne nerveuse néoformée ; d'autre part, l'activation intense et durable observée dans l'épiderme des blastèmes céphaliques et de la zone axio-ventrale des régénérats caudaux semble également en rapport avec la différenciation du tissu nerveux.

2) Cellules régénératrices mésodermiques

Les cellules de régénération mésodermiques s'accumulent derrière l'épiderme cicatriciel et subissent une activation analogue à celle des cellules de régénération ectodermiques dans chacun des deux tronçons considérés. L'évolution ultérieure des cellules de régénération mésodermiques varie suivant la détermination morphogénétique du blastème dans l'édification duquel elles sont impliquées.

Dans les blastèmes céphaliques, les cellules mésodermiques perdent leurs caractères de cellule activée environ 5 jours après la section et constituent un massif d'aspect lacuneux qui occupe toute la cavité coelomique du blastème, et dont les éléments différencieront les structures mésodermiques du régénérat.

Dans les blastèmes caudaux, les cellules mésodermiques évoluent suivant deux voies apparemment opposées. La fraction la plus importante d'entre elles évoluent comme celles des blastèmes céphaliques, c'est-à-dire dans le sens d'une différenciation précoce. Un petit nombre d'entre elles (une trentaine environ), situées dans la zone ventrale de la cavité coelomique de l'extrémité du tronçon semblent ne pas prendre part à la reconstitution des structures mésodermiques du régénérat, tout au moins dans les premières phases de la régénération ; ces éléments volumineux, très activés, analogues aux néoblastes décrits chez les Planaires (DUBOIS, 1949) et les Oligochètes (RANDOLPH, 1892 ; HERLANT-MEEWIS, 1946 a et b ; STEPHAN-DUBOIS, 1954), se divisent peu ; on les rencontre constamment dans l'extrémité caudale de vers non sectionnés où ils constituent une réserve de cellules mésodermiques indifférenciées, destinées à fournir les éléments mésodermiques nécessaires à la croissance de l'animal.

3) Cellules régénératrices endodermiques

Les cellules de l'épithélium intestinal de l'extrémité blessée du tube digestif n'interviennent que dans la morphogenèse caudale et, en conséquence, ne subissent une activation que dans les blastèmes caudaux. Dans la régénération antérieure, elles ne manifestent aucune activité ; leur comportement est analogue à celui des cellules intestinales d'un ver non sectionné (tout au moins après section intersegmentaire).

IV - CONCLUSION

En résumé, chez S. amica, il existe trois catégories de cellules régénératrices (ectodermiques, mésodermiques, endodermiques) provenant respectivement de l'épiderme, des épithéliums coelomiques et de l'épithélium intestinal situés à proximité immédiate du front de section. Chacune d'entre elles assure uniquement la régénération des structures amputées correspondant au feuillet dont elle **est** issue.

CHAPITRE II

OBSERVATIONS ULTRASTRUCTURALES SUR LES PREMIERS STADES DE LA REGENERATION CEPHALIQUE ET CAUDALE DE S. AMICA

Jusqu'à présent, l'histogenèse régénératrice n'a été que relativement peu étudiée au microscope électronique. En particulier, chez les Annélides, aucune étude ultrastructurale n'est venue préciser les données recueillies jusqu'à présent. Or, l'étude des problèmes fondamentaux posés par l'histogenèse régénératrice, et, plus précisément, la dédifférenciation et la différenciation, suppose une connaissance approfondie du comportement des cellules régénératrices que seule la microscopie électronique peut apporter.

Dans ce chapitre, nous nous attacherons à présenter une vue d'ensemble des principaux phénomènes histogénétiques se déroulant depuis le moment de la section jusqu'à l'époque où le blastème est édifié.

I - OBSERVATIONS

L'étude ultrastructurale de la régénération de S. amica montre qu'au cours des premières phases de l'histogenèse, l'évolution des tissus participant à l'édification du régénérat est identique, qu'il s'agisse d'une morphogenèse céphalique ou caudale.

Avant d'envisager les transformations subies par les tissus intéressés par la section et plus particulièrement par les cellules impliquées dans les processus de régénération, nous examinerons l'ultrastructure de ces tissus au moment de la section.

A) ULTRASTRUCTURE DES TISSUS INTERESSES PAR LA SECTION

1) Epiderme

L'épiderme de la zone intéressée par la section est constitué de cellules épithéliales banales dont certains aspects ultrastructuraux ont été rapportés récemment (BOILLY, 1967_b).

Ces cellules se caractérisent essentiellement par la présence de très nombreux tonofilaments groupés en faisceaux et orientés perpendiculairement à la surface du tégument (Pl. V, fig. c).

D'autre part, deux types de formations à position constante retiennent l'attention : des vacuoles de taille plus ou moins importante et des inclusions fusiformes (Pl. V, fig. a).

Les vacuoles sont groupées en grand nombre dans la partie apicale de la cellule ; leur contenu est d'autant moins dense aux électrons que la taille de la vacuole est élevée. Ces éléments semblent résulter de l'activité de l'appareil de Golgi qui, dans ce type de cellule, est toujours placé dans la zone supra-nucléaire ; ils interviendraient vraisemblablement dans l'élaboration de la cuticule (BOILLY, 1967_b).

Les inclusions fusiformes sont très denses, et toujours placées dans la partie basale de la cellule. On les rencontre constamment dans les épithéliums d'origine ectodermique riches en pigments ; elles représentent probablement des granules pigmentaires.

Le noyau, de contour irrégulier, est situé dans la partie basale de la cellule, il contient un petit nucléole (0,5 à 1 μ).

Les cellules épidermiques, emboîtées les unes dans les autres par de profondes invaginations de leurs membranes adjacentes, constituent un épithélium unistratifié séparé de la musculature sous-jacente par une basale (Pl. V, fig. a).

2) Parois coelomiques et musculature

Le coelome est limité par un épithélium très mince dont les cellules (Pl. V, fig. b et d) se caractérisent essentiellement par l'abondance de petites vésicules claires, réparties dans tout le cytoplasme, et d'organites le plus souvent sphériques, parfois de grande taille, très denses, résultant probablement de l'activité phagocytaire de ces cellules ; un certain nombre d'inclusions étoilées et vraisemblablement de nature lipidique figurent aussi parmi ces corps denses. Le reticulum endoplasmique est relativement bien développé et se présente généralement sous forme vésiculeuse ; les mitochondries sont peu abondantes. Quelques dictyosomes, placés à proximité du noyau, complètent l'équipement de ces cellules qui, d'autre part, contiennent peu de ribosomes.

Le noyau est souvent lobé et pourvu d'un petit nucléole.

En ce qui concerne la musculature, seule l'architecture de la zone contenant le matériel contractile des fibres longitudinales a été étudiée (WISSOCQ, 1967). Par contre, l'aspect de la fibre musculaire au niveau des zones dépourvues de myofilaments (extrémités de la fibre) n'est pas connu. Nos observations montrent à ce sujet que bien que dépourvues de myofilaments, ces zones peuvent, le plus souvent, être reconnues comme appartenant à une fibre musculaire et distinguées des cellules mésodermiques voisines (Pl. V, fig. b et d). A ce niveau, le sarcoplasme, d'aspect granuleux, contient essentiellement des mitochondries de grande taille allongées parallèlement à l'axe de la fibre, des ribosomes et quelques faisceaux de filaments dont l'aspect est voisin de celui des tonofilaments (Pl. V, fig. e).

3) Epithélium intestinal

Il est formé d'une couche de cellules prismatiques de grande taille reposant sur une basale qui les sépare de la musculature péri-intestinale (BOILLY, 1965_b). Deux types cellulaires peuvent être observés :

- des cellules glandulaires volumineuses contenant principalement des vacuoles claires, généralement anastomosées, et de taille importante ;
- des cellules vraisemblablement absorbantes dont le bord apical est pourvu d'une bordure en brosse et d'une ciliature bien développée ; leur cytoplasme est caractérisé par la présence d'urosphériles (BOILLY, 1967_c) et d'inclusions à contour irrégulier, très denses, de nature probablement lipidique.

B) EVOLUTION DES TISSUS INTERESSES PAR LA SECTION

1) 24 heures à 48 heures après la section

Vingt quatre heures après la section, l'épiderme bordant la plaie apparaît complètement désorganisé ; les cellules sont étirées en direction de la blessure et disposées de façon apparemment anarchique (Pl. VI, fig. a). Leur cytoplasme a déjà subi de profonds remaniements. La plupart des granules pigmentaires ont disparu. De nombreuses vacuoles très denses, de taille variable et présentant une structure complexe sont réparties dans tout le cytoplasme.

: Ces formations nouvelles contiennent essentiellement un matériel filamenteux

sous forme de pelotons, des zones très denses astructurées, des plages claires ; on peut aussi y reconnaître des faisceaux de filaments et des mitochondries plus ou moins déformées ; la présence d'organites cytoplasmiques à l'intérieur de ces formations témoigne donc en faveur de leur nature cytolysomiale (Pl. VI, fig. a et b). Le réseau de tonofibrilles est relativement peu développé dans ces cellules en remaniement ; il est constitué de faisceaux de tonofilaments très courts dont le nombre varie beaucoup d'une cellule à l'autre. De même, les organites cytoplasmiques sont représentés de façon diverse ; le plus souvent, et corrélativement à la disparition de l'appareil de Golgi et du réticulum endoplasmique, on assiste à l'envahissement du cytoplasme par de nombreuses microvésicules dérivant peut-être de la fragmentation de ces organites (Pl. VI, fig. a, b et d).

Les cellules épidermiques tendent à recouvrir la plaie suivant un processus d'épithélialisation analogue à celui décrit chez les Mammifères (JOHNSON, 1964). Les cellules cicatricielles, en contact direct avec le milieu ambiant, développent rapidement un important système de microvillosités (Pl. VI, fig. b et c). Le cytoplasme sous-jacent acquiert en même temps une structure caractéristique (Pl. VI, fig. b) ; finement granuleux, il ne contient que des organites de petite taille (microvésicules, corps multivésiculaires) ; les cytolysomes et les tonofilaments font généralement défaut à ce niveau. Puis la cuticule est ébauchée (48 heures après la section) ; elle est très mince (de l'ordre de $0,2 \mu$) et constituée d'un lacis très serré de fibres denses allongées parallèlement à la surface de l'épiderme (Pl. VII, fig. c).

Entre 24 et 48 heures apparaissent un certain nombre de ribosomes le plus souvent associés en chaînettes simples, spiralées, ou fermées sur elles-mêmes ; les polysomes circulaires sont généralement groupés à l'extrémité ou à proximité immédiate des faisceaux de tonofilaments (Pl. VI, fig. d). Le réticulum endoplasmique commence à réapparaître sous la forme allongée ; les appareils de Golgi se manifestent en un groupement de vésicules réparties autour de quelques saccules allongés (Pl. VI, fig. b, c et d). Le noyau des cellules épidermiques cicatricielles s'arrondit, le nucléole augmente de taille (1 à $1,5 \mu$ de diamètre).

De nombreuses fibres nerveuses sont déjà présentes au niveau du front de section ; elles sont placées sous l'épiderme cicatriciel et en contact direct avec celui-ci (Pl. VI, fig. a et c).

Les cellules péritonéales situées à proximité du front de section s'étirent en direction de la plaie (Pl. VII, fig. c) suivant un processus décrit antérieurement (BOILLY, 1965_b) ; à ce stade leur ultrastructure reste inchangée.

Le devenir des fibres musculaires sectionnées est très complexe. En particulier, les fragments anucléés dégénèrent (sarcolytes) ; la sarcolyse débute d'abord par une désorganisation des myofibrilles et par l'apparition d'un matériel granuleux à la périphérie du sarcolyte et de corps denses au sein des myofilaments (Pl. VII, fig. a). Toute structure semble disparaître rapidement à l'intérieur du sarcolyte à l'exception toutefois de quelques formations lamellaires, d'origine et de signification inconnues, noyées au milieu d'une substance finement granuleuse (Pl. VII, fig. b). L'évolution des fragments musculaires nucléés est complexe ; on assiste en particulier à l'apparition de structures périodiques analogues à celles décrites par TAYLOR (1967) dans la musculature du jabot d'une blatte après section du nerf récurrent (Pl. VIII, fig. a) ; nous n'avons, par contre, jamais observé de dédifférenciation musculaire comme dans le membre de la salamandre après amputation (HAY, 1959_a et _b, 1962).

Les cellules de l'épithélium intestinal proches de la plaie ne présentent pratiquement aucune modification. Certaines d'entre elles toutefois semblent subir une évolution nucléaire analogue à celle des cellules épidermiques cicatricielles ; le noyau, sphérique, contient un nucléole relativement volumineux ; le cytoplasme se caractérise par la présence de nombreuses mitochondries à crêtes courtes et d'un ergastoplasme bien développé (Pl. VIII, fig. b).

2) 48 heures à 3 jours après la section

L'épiderme cicatriciel recouvre complètement la plaie ; il est séparé du milieu extérieur par une cuticule mince (Pl. IX, fig. a) constituée essentiellement de fibres denses, empilées parallèlement à la surface ; des microvillosités traversant la cuticule maintiennent les cellules épidermiques en contact avec l'eau de mer environnante.

Les cellules épidermiques cicatricielles sont allongées perpendiculairement à la surface et disposées côte à côte sans engrenement de leurs membranes adjacentes. Leur noyau, ovoïde, est situé dans la partie basale de la cellule. Le nucléole, sphérique, volumineux, apparaît constitué de deux zones de structure

différente : une zone interne dense et de nature fibrillaire, une zone externe présentant de nombreuses expansions dans le nucléoplasme et constituée par un matériel granulaire (150 à 200 Å de diamètre) sur une épaisseur correspondant au quart ou au cinquième du diamètre total du nucléole. Des formations denses et de taille variable composées de plusieurs granules analogues à ceux du nucléole dont ils semblent provenir, peuvent être observées dans le nucléoplasme à une distance plus ou moins grande du nucléole. Le nucléoplasme ne présente aucune particularité à l'exception toutefois de la zone périnucléolaire où il apparaît parfois peu dense aux électrons et dépourvu de chromatine (Pl. VIII, fig. c et Pl. IX, fig. a).

Le cytoplasme des cellules épidermiques cicatricielles se caractérise par l'abondance des ribosomes ; ces éléments, le plus souvent associés entre eux par petits groupes, occupent toute l'aire cytoplasmique. Un certain nombre d'entre eux sont fixés sur le réticulum endoplasmique qui, à ce stade, est encore peu développé ; en particulier, le réticulum granulaire est constitué d'éléments relativement courts, dispersés dans tout le cytoplasme ; par contre le réticulum lisse n'est pratiquement pas représenté (Pl. IX, fig. a).

Les dictyosomes sont nombreux (jusqu'à 6 par section de cellule) et toujours groupés en cercle au-dessus et à proximité du noyau ; un grand nombre de microvésicules s'en échappent et semblent se diriger vers la zone apicale de la cellule où elles voisinent avec des vacuoles claires de plus grande taille (Pl. IX, fig. a).

La plupart des cytolysomes ont acquis une forme sphérique et une taille plus uniforme (Pl. IX, fig. a) ; leur contenu, très dense, semble plus homogène. A ce stade, la majorité de ces formations occupe la partie basale des cellules épidermiques. Les tonofibrilles sont plus développées que précédemment mais encore en nombre relativement restreint ; on les rencontre principalement dans la zone infranucléaire (Pl. VIII, fig. c).

L'épiderme cicatriciel est en contact direct avec les fibres nerveuses ou les cellules régénératrices mésodermiques sans interposition de basale (Pl. VIII, fig. c).

Les cellules mésodermiques constituant les parois coelomiques du segment contigu à la plaie présentent pour la plupart une ultrastructure inchangée ;

certaines d'entre elles, et plus précisément les cellules pariétopleurales, contiennent des débris de fibres musculaires et souvent un certain nombre de résidus divers résultant vraisemblablement de leur activité phagocytaire (Pl. VIII, fig. d). Les cellules péritonéales, situées à proximité du front de section ont acquis une forme plus ramassée et présentent généralement l'aspect de massue (Pl. IX, fig. b) ; elles s'allongent et glissent en direction de la blessure où elles s'accumulent derrière l'épiderme cicatriciel ; à ce niveau leur ultrastructure est le plus souvent identique à celle des cellules mésodermiques n'ayant pas encore quitté les parois coelomiques. La plupart sont allongées et constituent une sorte de feutrage ; toutefois, certaines d'entre elles présentent un aspect tout à fait différent : il s'agit vraisemblablement des cellules d'allure "néoblastique" repérées au microscope photonique à proximité de l'extrémité de la chaîne nerveuse (BOILLY, 1967_d) ; leur nucléole est volumineux et semblable à celui des cellules cicatricielles, le cytoplasme contient de nombreux ribosomes libres ou groupés en chaînettes, quelques éléments d'ergastoplasme, des mitochondries éparses et des inclusions de nature lipidique.

3) 4 à 7 jours après la section

L'épiderme cicatriciel s'accroît considérablement par division de ses cellules. Une basale séparant les cellules mésodermiques de l'épiderme néoformé et des fibres nerveuses sous-jacentes apparaît dès le quatrième jour après l'amputation. Elle est d'épaisseur constante (de l'ordre de 700 Å) et constituée d'un matériel finement granuleux dans lequel sont incluses des zones opaques aux électrons. Celles-ci se présentent sous la forme de disques aplatis, homogènes, mal délimités et de faibles dimensions (de 600 à 1000 Å de diamètre) ; elles sont alignées en une seule couche sur l'axe médian de la basale (Pl. X, fig. a).

A l'intérieur de la basale, on distingue aussi de nombreux granules de 230 Å de diamètre que nous avons déjà décrits comme étant des particules plasmatiques représentant vraisemblablement le pigment respiratoire du sang (BOILLY, 1964) ; dans la régénération céphalique, ces particules passent de la basale dans les espaces intercellulaires de l'épiderme néoformé (Pl. X, fig. c) où elles s'agglomèrent souvent sous la forme de pseudo-cristaux.

Les sections de fibres nerveuses situées à proximité de la basale se caractérisent par un contenu clair dans lequel on peut observer de nombreuses vésicules de taille variable, de petites mitochondries et parfois des figures lamellaires de type myélinique (Pl. X, fig. a).

L'épiderme néoformé est séparé du milieu ambiant par une cuticule qui, bien que relativement peu épaisse à ce stade (Pl. XI, fig. b), possède toutes les caractéristiques d'une cuticule normale.

Les cellules épidermiques du blastème de régénération se sont allongées; la plupart présentent maintenant un système tonofibrillaire bien développé, allongé parallèlement à l'axe de la cellule (Pl. XI, fig. b et c). Les dictyosomes sont toujours situés dans la partie supérieure de la cellule; toutefois ils apparaissent moins nombreux que précédemment et ne sont plus situés à proximité du noyau; ils sont en outre dispersés et orientés suivant le plus grand axe de la cellule. Les lamelles ergastoplasmiques, plus abondantes qu'aux stades antérieurs, se localisent préférentiellement dans toute la moitié supérieure de la cellule où elles adoptent la même orientation que l'appareil de Golgi; elles sont flexueuses, souvent anastomosées et d'épaisseur variable. Les mitochondries, par contre, sont dispersées dans tout le cytoplasme (Pl. XI, fig. b).

Les ribosomes sont toujours très abondants et associés entre eux sous des formes diverses dont les plus curieuses ont été observées autour du noyau. A ce niveau les ribosomes forment des colliers se superposant exactement aux pores nucléaires (Pl. XI, fig. a). Toutefois, dès le cinquième jour suivant la section, les ribosomes, malgré leur abondance, ne couvrent plus la totalité de l'aire cytoplasmique comme précédemment; ils sont le plus souvent répartis sous forme de polysomes autour d'espaces clairs (Pl. XI, fig. a et c, et Pl. XII, fig. a et b), dans lesquels un grossissement plus élevé permet de distinguer un matériel filamenteux très ténu (Pl. XIII, fig. a).

La plupart des cytolysomes ont disparu; les granules pigmentaires ont fait leur apparition à la base des cellules épidermiques.

L'épiderme des blastèmes caudaux est soudé à l'épithélium intestinal au niveau de l'anus; le passage entre les deux épithéliums se fait sans aucune transition (Pl. XII, fig. b).

L'épithélium intestinal s'allonge par division de ses cellules ; au niveau du blastème il ne contient que des cellules de type absorbant dont les caractères ultrastructuraux sont analogues à ceux des cellules correspondantes de l'intestin ancien (Pl. XII, fig. b).

Les cellules mésodermiques se présentent sous deux aspects suivant leur position dans le blastème. Celles situées ventralement évoluent pratiquement de la même façon que les cellules épidermiques. A ce stade, elles possèdent de nombreuses mitochondries, un ergastoplasme serpentiforme assez peu développé, et quelques **dictyosomes**. Les ribosomes sont abondants et associés en polysomes ; comme dans les cellules épidermiques, ils ont tendance à délimiter des lacunes contenant un matériel filamenteux (Pl. XIII, fig. b). Les noyaux de ces cellules se caractérisent toujours par un volume important et un nucléole de grande taille (Pl. XIII, fig. b) dont l'aspect est identique à celui des cellules épidermiques du blastème (Pl. XIII, fig. a). En particulier, il présente une périphérie mal délimitée et au niveau de laquelle on observe des granules dont la taille est voisine de celle des ribosomes (Pl. XIII, fig. a, b et c). Ce matériel granulaire constitue un cortex dont l'épaisseur apparaît beaucoup moins importante qu'aux stades précédents ; par contre, la zone interne, de nature fibrillaire, s'est considérablement développée. Comme précédemment, des fragments de matériel granulaire semblent se détacher de la périphérie nucléolaire. Le nucléoplasme périnucléolaire est généralement plus dense et dépourvu d'amas chromatiniens ; dans certains cas, une trame filamenteuse apparaît orientée radialement par rapport au nucléole et à proximité immédiate de celui-ci (Pl. XIII, fig. a, b et c).

Les cellules mésodermiques situées plus dorsalement à l'intérieur du blastème ne présentent plus ces particularités ; leur cytoplasme contient par contre de nombreux myofilaments. Cette myogenèse constitue la première manifestation de la différenciation des cellules mésodermiques ; elle apparaît dès le quatrième jour suivant l'amputation et concerne essentiellement les cellules situées contre la basale (Pl. XII, fig. a).

II - DISCUSSION

L'étude ultrastructurale des premiers stades de la régénération chez S. amica permet de distinguer trois phases dans l'évolution des cellules épidermiques et mésodermiques de la base impliquées dans l'histogenèse du régénérat :

- une phase de dédifférenciation cellulaire consistant essentiellement en la perte des éléments figurés caractéristiques du type cellulaire considéré ;
- une phase d'"activation" au cours de laquelle la cellule réalise une synthèse importante d'ARN ;
- une phase de différenciation se traduisant principalement par l'acquisition d'une structure caractéristique et la synthèse de protéines spécifiques.

Les cellules intestinales semblent évoluer différemment : bien que nous ayons observé un phénomène d'activation au niveau de certaines cellules de l'épithélium digestif à proximité de la plaie, aucun indice de dédifférenciation n'a pu être décelé jusqu'à présent. Toutefois, il convient d'accueillir cette hypothèse avec réserve car il n'est pas impossible que certaines transformations aient pu nous échapper. En effet, les modalités de la régénération de l'épithélium digestif (BOILLY, 1967_d) sont telles que le nombre de cellules intestinales en transformation dans un espace déterminé est relativement faible. Dans ces conditions, il est difficile de suivre l'évolution de ces cellules, d'autant plus que la structure de l'extrémité sectionnée du tube digestif est complètement bouleversée.

A) LA DEDIFFERENCIATION

Avant d'étudier cet aspect de l'évolution des cellules régénératrices, il importe d'apprécier le degré de différenciation de chacune des catégories cellulaires impliquées dans la régénération.

Parmi les cellules participant à l'histogenèse, les cellules de l'épiderme et de l'épithélium intestinal représentent des éléments hautement différenciés. En ce qui concerne l'épiderme, l'abondance des tonofilaments sous la forme de tonofibrilles, la présence de granules pigmentaires, le mode de liaison entre cellules voisines et le développement des microvillosités dans la zone apicale des cellules constituent les principaux éléments de la différenciation

morphologique des cellules épidermiques banales ; pour ce qui est de l'épithélium intestinal, la ciliature et la bordure en brosse apicales en représentent les éléments les plus significatifs. D'autre part, à ces éléments permanents de la différenciation morphologique des cellules épidermiques et intestinales, il faut ajouter certains aspects ultrastructuraux liés à une activité métabolique spécifique, tels que le système vacuolaire apical des cellules épidermiques, et les urosphérites des cellules absorbantes de l'intestin.

Les cellules mésodermiques revêtant les parois coelomiques ne recèlent aucun indice de différenciation morphologique ; seule la présence de vacuoles à contenu dense plaide en faveur d'une différenciation physiologique liée à l'activité phagocytaire de ces cellules.

Chez S. amica la dédifférenciation est rapide et débute vraisemblablement aussitôt après l'amputation. Elle est particulièrement évidente au niveau des cellules épidermiques cicatricielles où elle se traduit essentiellement par la disparition des granules pigmentaires et de la majorité (ou la totalité) des tonofibrilles. Ce processus de dédifférenciation est accompagné de la formation de nombreux cytolysomes (NOVIKOFF 1960, 1963) que nous considérons comme étant à l'origine de la résorption des éléments figurés caractéristiques de la cellule épidermique. Ce mécanisme est d'ailleurs commun à toute cellule en dédifférenciation et se manifeste le plus souvent par l'apparition de figures de type myélinique plus ou moins développées (HAY, 1959_a et _b ; KARASAKI, 1964 ; CHAPRON, 1966 ; WISSOCQ, 1967).

D'autre part, l'importance de la résorption des éléments figurés caractéristiques d'un type cellulaire est difficilement appréciable. A tous les stades observés, nous avons en particulier constaté la présence de tonofilaments ; toutefois nous ne savons pas s'il s'agit d'éléments anciens ou néoformés. Il est possible que la résorption ne soit que partielle ; dans ce cas, il faut admettre le principe d'une dédifférenciation rapide (dans les 24 heures suivant la section) comme le suggèrent SALPETER et SINGER (1960_a) ou encore un passage au stade indifférencié **très fugace**.

Chez S. amica, la dédifférenciation concerne aussi certains organites cytoplasmiques et se traduit par une fragmentation suivie d'une disparition quasi-totale du réticulum endoplasmique d'une part et par une vésiculation

de l'appareil de Golgi d'autre part. Des transformations semblables ont déjà été rapportées par d'autres auteurs étudiant la régénération à l'échelle ultra-structurale (HAY, 1958, 1959_a et _b ; SALPETER et SINGER, 1960_a ; KARASAKI, 1964 ; DAVIES et al, 1966).

Les changements ultrastructuraux subis par les cellules régénératrices mésodermiques sont peu importants ; ils intéressent uniquement le réticulum endoplasmique et l'appareil de Golgi qui évoluent comme dans les cellules épidermiques.

La dédifférenciation apparaît donc comme résultant d'une élimination de structures caractéristiques par digestion intracellulaire, et de la transformation de certains organites cytoplasmiques (réticulum endoplasmique et appareil de Golgi en particulier). Il s'agit d'un phénomène rapide, affectant les cellules placées à proximité immédiate du front de section et impliquées dans la régénération des structures amputées.

B) L'ACTIVATION

Peu après la section, les cellules régénératrices subissent des transformations importantes aboutissant à l'acquisition d'une morphologie caractéristique (BOILLY, 1967_d) ; le noyau et le nucléole sont volumineux, le nucléole est entouré d'une zone claire de largeur variable, le cytoplasme présente une basophilie intense. Les processus métaboliques conduisant à cet état sont souvent désignés sous le terme d'"activation" (ABELOOS, 1932, 1955).

Les observations ultrastructurales effectuées sur S. amica permettent de préciser la nature de ces transformations et d'envisager leur signification. Nous considérerons successivement, le nucléole, la zone périnucléolaire, le noyau, le cytoplasme.

1) Le nucléole

Deux modifications sont à considérer : l'accroissement de volume, l'apparition d'un cortex granulaire.

a) Accroissement du volume nucléolaire

Il est important et rapide (le diamètre de cet organite passe de 0,5 - 1 μ à 2 - 3 μ en l'espace de 2 à 3 jours). Il s'agit d'une augmentation réelle de la masse nucléolaire car aucune vacuolisation n'apparaît à l'intérieur du nucléole au cours de cet accroissement.

b) Apparition d'un cortex granulaire

La répartition spatiale des composants nucléolaires des cellules activées est très caractéristique ; le matériel granulaire est placé à la périphérie du nucléole (zone corticale) alors que le composant fibrillaire en occupe la partie centrale (zone médullaire). Une disposition analogue a déjà été décrite dans divers types cellulaires (MARINOZZI, 1964). Toutefois la présence d'un cortex nucléolaire de nature granulaire semble particulièrement fréquente dans les cellules présentant une synthèse active d'ARN telles que les cellules embryonnaires (KARASAKI, 1965 ; LE MOIGNE, 1966 ; LENTZ et TRINKAUS, 1967) et les cellules régénératrices (KARASAKI, 1964).

D'autre part, l'évolution de la zone corticale granulaire des nucléoles de cellules en activation est intéressante à considérer. On observe en effet des variations de l'épaisseur de cette zone et dans l'aspect de sa surface de contact avec le nucléoplasme. C'est au moment correspondant à l'apparition massive des ribosomes (3 jours après la section) que le cortex nucléolaire granulaire est le plus épais et présente le contour le plus irrégulier ; puis la zone granulaire s'amincit et sa surface extérieure se régularise. L'interprétation de ces modifications reste délicate. On peut cependant penser que l'aspect irrégulier, inhabituel, de la surface nucléolaire observé dans les premiers stades de l'activation est en relation avec un départ important de substance nucléolaire matérialisé le plus souvent par des émissions de granules dans le nucléoplasme.

2) La zone périnucléolaire

La présence d'une zone périnucléolaire claire dans les cellules activées d'Annélides en régénération a été rarement signalée, bien qu'elle figure souvent sur les photographies ou les dessins rapportés par les auteurs ayant étudié l'histogénèse régénératrice de ces animaux par les techniques classiques.

Chez S. amica, l'étude histologique de la régénération montre que la zone périnucléolaire claire apparaît dès le début de l'activation et dans toutes les cellules régénératrices ; cette zone, dépourvue de chromatine, s'accroît rapidement en même temps d'ailleurs que le nucléole. Par contre, elle n'apparaît jamais sur les coupes observées au microscope électronique ; en particulier, nous n'avons pas remarqué de différence de densité entre le nucléoplasme périnucléolaire et celui placé près de l'enveloppe nucléaire. Le nucléoplasme périnucléolaire se caractérise uniquement par l'absence d'amas chromatiniens et la disposition particulière d'un matériel filamenteux (protéines de structure?) qui semble rayonner à partir du nucléole. Le fait que cette disposition n'apparaît qu'au niveau des cellules activées suggère qu'elle correspond à un processus caractéristique de l'activation et plus précisément du métabolisme nucléolaire. On peut en particulier se demander dans quelle mesure le déplacement de matériel nucléolaire en direction du cytoplasme ne déterminerait pas cette orientation ; dans le cadre de cette hypothèse, on peut aussi penser que, au cours de son déplacement, le matériel nucléolaire repousserait la chromatine vers la zone externe du noyau.

Ces considérations nous amènent à supposer que la zone périnucléolaire claire des cellules activées observée au photomicroscope serait déterminée par l'activité du nucléole, et que le seul élément permettant d'expliquer l'aspect clair de cette zone serait lié à la répartition de la chromatine. La faible épaisseur des coupes observées au microscope électronique comparée à celle des préparations utilisées en microscopie photonique rendrait compte de l'absence de différence de densité existant sur coupe ultra-fine, entre la zone périnucléolaire et le nucléoplasme environnant. Dans ces conditions, la zone périnucléolaire claire des cellules activées correspondrait à une réalité au même titre d'ailleurs que le "halo" périnucléolaire des noyaux des plantes étudiées par CHAYEN, DAVIES et MILES (1953).

3) Le noyau

Les noyaux des cellules en activation atteignent un volume important. Leur forme est caractéristique : ils sont soit sub-sphériques (cellules mésodermiques) soit ovoïdes (cellules épidermiques) et leur membrane est dépourvue de replis. Cet aspect rendrait compte du caractère prépondérant des

activités anaboliques du noyau par rapport à celles du cytoplasme au cours de l'activation.

4) Le cytoplasme

Le cytoplasme des cellules en activation se caractérise par l'acquisition de très nombreux ribosomes. Ces éléments, très vraisemblablement à l'origine de la basophilie cytoplasmique, apparaissent précocement et envahissent rapidement tout le cytoplasme.

Une évolution semblable a été décrite dans d'autres cellules régénératrices (HAY, 1958 ; KARASAKI, 1964). Dans tous les cas, l'apparition de ribosomes est corrélative d'une augmentation importante du volume nucléolaire et nucléaire. Toutefois la biogenèse des ribosomes reste mal connue. En effet, bien que l'origine nucléolaire de l'ARN ribosomal soit établie (PERRY, 1964) et illustrée par de nombreuses observations (BROWN, 1966), l'édification de ribosomes à partir de matériel nucléolaire n'a pas encore été démontrée au microscope électronique. En particulier, l'aspect morphologique sous lequel l'ARN ribosomal (ou son précurseur) parviendrait jusqu'au cytoplasme est encore hypothétique.

Chez S. amica, le comportement du cortex nucléolaire et la présence, dans le nucléoplasme, de granules analogues à ceux du nucléole, constituent les seuls indices morphologiques de ce qu'on pourrait considérer comme représentant un transfert d'ARN nucléolaire. Cependant, la filiation pouvant exister entre ces granules et les ribosomes cytoplasmiques reste difficile à établir et, jusqu'à présent, indémontrée. D'autre part, la relative rareté, dans le nucléoplasme, de particules analogues à celles du nucléole au moment de l'apparition massive des ribosomes suggère que l'ARN ribosomal (ou son précurseur) parviendrait jusqu'au cytoplasme sous une autre forme, beaucoup plus discrète.

L'activation peut donc être considérée comme l'ensemble des transformations cellulaires en relation avec une synthèse importante et rapide d'ARN. Ce phénomène serait vraisemblablement sous la dépendance des fibres nerveuses proches de la plaie (BOILLY, 1967_d) dont les extrémités apparaissent toujours, comme chez Amblystoma (HAY, 1960), riches en vésicules (synaptiques ?) et

mitochondries, et en contact avec les cellules régénératrices.

La plupart des transformations relatives à l'activation des cellules régénératrices de S. amica, et en particulier l'augmentation de taille du nucléole et du noyau, et l'apparition de très nombreux ribosomes cytoplasmiques sont semblables à celles décrites dans la régénération des membres d'Amblystoma (HAY, 1958, 1959, 1962) et du cristallin de Triturus (KARASAKI, 1964).

Les cellules participant à la néoformation des structures amputées acquièrent donc, au terme de leur dédifférenciation, les mêmes caractères ultrastructuraux quelque soit le degré de différenciation auquel elles se trouvaient avant leur mobilisation. A ce stade, leur aspect rappelle celui des cellules embryonnaires (BAKER, 1964 ; KARASAKI, 1965 ; LE MOIGNE et al., 1966) et des cellules blastogénétiques à caractères embryonnaires telles que les néoblastes des Planaires (PEDERSEN, 1959 ; SAUZIN, 1966 ; LE MOIGNE et al., 1966 ; LENTZ, 1967) et les cellules interstitielles des Hydres (LENTZ, 1965).

L'identité de structure existant entre ces cellules d'origine diverse est le reflet d'une identité de fonction dont la nature est liée en partie à la synthèse des protéines nécessaires à leur multiplication et leur différenciation.

C) LA DIFFERENCIATION

Les cellules régénératrices se différencient précocement. Les premières manifestations de la différenciation cellulaire se traduisent par des changements affectant la forme, la structure ou la répartition de certains organites cytoplasmiques puis par l'apparition d'éléments figurés caractéristiques d'un type cellulaire donné.

1) Les organites cytoplasmiques

Les modifications les plus caractéristiques de la différenciation des cellules régénératrices de S. amica concernent la répartition des ribosomes, l'aspect du réticulum endoplasmique et de l'appareil de Golgi.

- Répartition des ribosomes. Dès leur apparition, les ribosomes s'associent par petits groupes sous la forme de rosettes ou de chaînettes (polysomes), ou se fixent sur les membranes du réticulum endoplasmique.

La présence de nombreux polyribosomes implique une synthèse active de protéines (MARKS et al., 1963 ; WARNER et al., 1963). Chez S. amica, nos

observations suggèrent que deux types de protéines apparaissent presque simultanément : (1) des protéines de structure nécessaires à la multiplication des cellules régénératrices figurées vraisemblablement par le matériel filamentueux observé entre les polysomes, (2) des protéines spécifiques comme celles constituant les tonofilaments et les myofilaments représentant les premiers indices de la différenciation cellulaire. Les ribosomes associés au réticulum, relativement peu nombreux, assureraient peut-être la synthèse de substances extracellulaires comme le pense KARASAKI à propos de la régénération du cristallin de triton (1964) ; dans cette hypothèse, ils élaboreraient le matériel nécessaire à la constitution des basales et participeraient en particulier à la genèse de la substance cuticulaire des cellules épidermiques.

- Evolution du réticulum endoplasmique et de l'appareil de Golgi

Corrélativement à l'apparition des ribosomes, le réticulum endoplasmique passe de la forme vésiculaire lisse à la forme allongée granulaire ; d'autre part, il s'accroît sans toutefois atteindre un développement important, et présente de nombreuses anastomoses entre sacs ergastoplasmiques voisins ou avec la citerne périnucléaire. L'appareil de Golgi vésiculeux des cellules différenciées reprend un aspect caractéristique : saccules allongés et empilés, vésicules à l'extrémité des saccules. Une évolution analogue a été observée dans de nombreuses cellules en différenciation (CARASSO et FAVARD, 1961 ; BEHNKE et MOE, 1964 ; LENTZ, 1967) et en particulier au cours de la régénération (HAY, 1958 ; SALPETER et SINGER, 1960_a ; KARASAKI, 1964) ; elle traduit vraisemblablement une mise en fonction de ces organites en relation avec l'élaboration de matériel nécessaire à la différenciation de la cellule.

2) Les éléments figurés caractéristiques d'un type cellulaire

L'apparition d'éléments figurés caractéristiques d'un type cellulaire donné tels que les tonofilaments, les myofilaments, etc... constitue la manifestation la plus visible de la différenciation cellulaire, mais, en fait, n'en représente que l'aboutissement. Le premier acte de la différenciation se joue vraisemblablement au niveau de certains cistrons dont la mise en activité, déclenchée peut-être comme dans l'embryogenèse par des substances inductrices (WOLFF, 1967), entraînerait l'édification de structures spécifiques (BRACHET, 1965). Chez S. amica, l'apparition de ces formations est précoce (au 4ème jour

après la section) : le blastème de régénération ne représente donc pas une masse de tissus indifférenciés. La présence d'une basale dans le blastème traduit aussi cet état de fait : chez S. amica, comme chez les Batraciens (HAY, 1958 ; SALPETER et SINGER, 1960_p), l'apparition de cette formation n'a lieu qu'au moment de la différenciation des tissus qu'elle sépare.

III - CONCLUSION

L'étude ultrastructurale des premiers stades de la régénération céphalique et caudale de S. amica confirme l'existence de trois types de cellules régénératrices (ectodermiques, mésodermiques, endodermiques) provenant respectivement de l'épiderme, des épithéliums coelomiques et de l'épithélium intestinal situés à proximité de la section. Ces cellules, issues de tissus plus ou moins différenciés perdent généralement (cas de l'épiderme et des épithéliums coelomiques) leur aspect différencié (dédifférenciation) et sont le siège d'une synthèse active d'ARN (activation) avant de manifester leur nature de cellule régénératrice. Toutefois, en dépit d'une dédifférenciation parfois importante, chaque type de cellule impliquée dans la régénération des structures amputées conserve toujours sa spécificité histogénétique : il ne restitue que des tissus correspondant au feuillet embryonnaire dont il est issu.

XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX

CONCLUSION DE LA PREMIERE PARTIE

Chez Syllis amica Quatrepages, il n'existe pas de cellules basales ou de remplacement, voire même de néoblastes, comme c'est le cas chez la plupart des Oligochètes. Les tissus anciens situés à proximité de la plaie (l'épiderme, les épithéliums coelomiques, l'épithélium intestinal) régénèrent les structures amputées conformément aux potentialités histogénétiques des feuilletts embryonnaires dont ils sont issus. Les cellules provenant de ces tissus subissent une dédifférenciation plus ou moins poussée puis une activation avant de se différencier ; les cellules régénératrices ectodermiques et mésodermiques, presque complètement dédifférenciées peuvent donc être considérées comme des blastocytes au sens de STOLTE (1933).

DEUXIEME PARTIE

RECHERCHES EXPERIMENTALES SUR LA NATURE HISTOLOGIQUE ET
L'INDEPENDANCE HISTOGENETIQUE DES TISSUS A L'ORIGINE DES CELLULES DE
REGENERATION CHEZ S. AMICA

Les résultats de l'étude histologique et ultrastructurale de la régénération chez S. amica nous amènent donc à considérer trois tissus, indépendants sur le plan histogénétique, (l'épiderme, les épithéliums coelomiques, l'épithélium intestinal), comme étant à l'origine des cellules de régénération.

Nous nous proposons maintenant de vérifier, par la méthode expérimentale, la nature des tissus dont sont issues les cellules régénératrices et d'évaluer leur degré d'indépendance histogénétique.

La méthode utilisée consiste à éliminer ou remplacer successivement chacun des tissus considérés comme étant à l'origine des cellules de régénération.

1) Vérification de la nature des tissus à l'origine des cellules régénératrices. La filiation entre un tissu donné et une catégorie de cellules régénératrices peut être établie en éliminant ce tissu des processus morphogénétiques.

2) Evaluation du degré d'indépendance histogénétique des tissus à l'origine des cellules de régénération. L'élimination d'un tissu à l'origine de cellules régénératrices, accompagnée ou non de son remplacement par un tissu de nature différente, permet non seulement d'apprécier les compétences du tissu éliminé, mais aussi de délimiter les potentialités histogénétiques des autres tissus impliqués dans la régénération. En particulier, en examinant les possibilités, pour ces derniers, de suppléer le tissu éliminé, on peut évaluer le degré d'indépendance histogénétique de chacun d'entre eux.

L'expérimentation n'a porté que sur les épithéliums coelomiques et l'épithélium intestinal, aucune technique valable ne nous ayant permis d'éliminer l'épiderme des processus morphogénétiques.

CHAPITRE III

NATURE DU TISSU A L'ORIGINE DES CELLULES DE REGENERATION MESODERMIQUES CHEZ S. AMICA.

Etant donné leur mode de répartition à l'intérieur de l'organisme, les épithéliums coelomiques, présumés être à l'origine des cellules de régénération mésodermiques, ne peuvent faire l'objet d'une ablation élective et, a fortiori, d'un remplacement tissulaire.

La seule façon d'éliminer ce tissu consiste donc à le détruire sur place. Deux méthodes ont été utilisées : les irradiations X totales des tronçons en régénération d'une part, et l'intoxication des cellules péritonéales par le "Thorotrast" d'autre part.

Nous examinerons successivement les résultats obtenus par chacune de ces deux méthodes.

I - EFFETS DES IRRADIATIONS X SUR LA REGENERATION CEPHALIQUE ET CAUDALE DE S. AMICA

A) INTRODUCTION

L'utilisation des radiations ionisantes, et plus spécialement des rayons X, s'est révélée depuis longtemps comme étant une méthode de choix dans l'étude de l'origine des cellules de régénération. De nombreux chercheurs l'ont appliquée dans les groupes zoologiques les plus variés. Tous ont constaté qu'une irradiation convenable, d'intensité variable suivant les espèces étudiées, peut inhiber les processus de régénération au niveau de la zone irradiée. Cependant, les résultats obtenus ont donné lieu à diverses interprétations selon les groupes et même les espèces envisagés.

Chez les Annélides en particulier, le mode d'action des rayons X sur la régénération, bien que pratiquement élucidé chez les Oligochètes (STEPHAN-DUBOIS, 1954) serait, chez les Polychètes, différent suivant l'espèce étudiée.

Selon STEPHAN-DUBOIS (1958), l'inhibition de la régénération caudale de Nereis diversicolor O.F.M. par irradiation X serait due à la radiosensibilité particulière de certaines cellules coelomiques libres que l'auteur interprète comme étant à l'origine de tous les tissus du régénérat. Par contre, d'après THOUVENY (1964), la vulnérabilité de l'épiderme à l'égard des rayons X serait responsable de l'arrêt de la régénération chez Polydora flava Clap.

L'examen de ce problème chez S. amica méritait donc d'être considéré avec beaucoup de prudence ; dans ce but, nous avons étudié l'influence de différentes doses de rayons X, administrées selon des modalités variées, sur la régénération céphalique et caudale de cette Annélide avant d'aborder l'étude du mode d'action du rayonnement X à l'échelle cellulaire.

B) REMARQUE PREALABLE RELATIVE A LA RADIOSENSIBILITE DES ANNELIDES

Les Annélides se caractérisent par une radiorésistance relativement élevée mais variable suivant les espèces et certains états physiologiques. Selon PEARSON (BACQ et ALEXANDER, 1955), une irradiation de 90 000 r administrés en 3 doses est sans effet sur Enchytraeus. Par contre, chez Ophryotrocha puerilis (GRIERSON et QUERNER, 1965), la DL 50/30 s'élève à 50 000 r pour des animaux de 20 segments ; pour ceux n'ayant que 10 segments, elle n'est que de 20 000 r. L'utilisation des radiations ionisantes (corpusculaires et électromagnétiques) chez les Annélides a été plus généralement destinée à étudier certains aspects de la régénération ; ici encore, la dose nécessaire pour obtenir un effet déterminé (et en particulier l'inhibition de la régénération) varie avec l'espèce. Ce fait est bien illustré par les résultats que nous avons obtenus chez divers Polychètes (Syllis amica Q. ; Nereis diversicolor O.F.M. ; Aricia foetida Clap.) irradiés dans les mêmes conditions ; les doses nécessaires pour bloquer la régénération chez ces Annélides sont les suivantes : Syllis amica, 30 000 r (BOILLY, 1962_a, 1965_a) ; Nereis diversicolor, 22 500 r (BOILLY, 1965_c) ; Aricia foetida, 10 000 r.

C) TECHNIQUES OPERATOIRES

1) Section

La section est réalisée au niveau de l'intersegment 50/51.

2) Irradiation

a) Caractéristiques du rayonnement

Le rayonnement X utilisé provient d'un "Transfoleix 90 x 20 Massiot". La tension appliquée aux bornes du tube est de 85 KV ; l'intensité correspondante est limitée à 1,5 mA. Le faisceau de rayons X n'est pas filtré.

b) Modalités de l'exposition

Les individus à irradier sont anesthésiés dans le chlorure de magnésium à 77,7 g par litre d'eau distillée et placés sur une feuille de papier buvard imbibée de la solution anesthésique et reposant sur un support en matière plastique. La distance séparant les animaux du foyer est réglée à l'aide d'un dispositif de déplacement micrométrique équipant la tablette support. La plupart des irradiations ont été réalisées à 5 cm de la fenêtre soit 10,4 cm de l'anticathode. Le temps d'exposition est compris entre 30 minutes et 3 heures. Lors des irradiations prolongées, un arrêt de 15 à 30 minutes est ménagé au cours de l'irradiation afin d'éviter un échauffement exagéré du tube ; d'autre part, la solution anesthésique est renouvelée régulièrement au cours de l'exposition. La dose de rayons X est délivrée soit en une seule séance (irradiation unique) soit en plusieurs séances (irradiation fractionnée). L'exposition des Syllis aux rayons X est pratiquée avant ou après la section.

c) Dosimètre

Toutes les doses sont exprimées en "roentgens". Les débits ont été mesurés avec un "dosimètre universel Philips"⁽¹⁾ ou un "microdosimètre de protection Massiot Philips". A 5 cm de la fenêtre, le débit est de l'ordre de 170 r/mn.

(1) Monsieur GIAUX, Chef de Service au Centre Anticancéreux de Lille, a eu l'amabilité d'étalonner notre appareil.

d) Champ

Le champ utilisé est un cercle de 3,5 cm de diamètre. Des mesures effectuées de part et d'autre du centre ont montré que l'intensité du rayonnement varie peu à l'intérieur de ce cercle. D'autre part, afin d'éviter au maximum les variations d'intensité dans le champ utilisé, nous avons disposé les vers suivant des directions radiales, l'extrémité blessée étant placée vers le centre.

e) Doses appliquées

Les doses employées sont comprises entre 5 000 et 30 000 r, délivrées 48 heures après la section en une seule ou plusieurs séances séparées chacune de 24 heures. Les animaux étudiés sont répartis en 10 lots suivant la dose reçue :

- Irradiation unique : 5 000 r (temps d'exposition 30 minutes) ; 10 000 r (1 heure) ; 15 000 r (1 heure 30) ; 20 000 r (2 heures) ; 25 000 (2 heures 30) ; 30 000 (3 heures).

- Irradiation fractionnée : 10 000 r (2 fois 5 000 r) ; 15 000 r (2 fois 7 500 r ; 3 fois 5 000 r) ; 20 000 r (4 fois 5 000 r).

Des doses de 30 000 r ont aussi été délivrées avant la section (24 heures , 6, 14, 22, 90 jours avant) et 24 heures après la section.

D) RESULTATS

1) Etude expérimentale

a) Influence de la dose de rayons X (Tableaux 5 et 6, fig. 11 et 12).

Les résultats obtenus montrent que les rayons X perturbent considérablement la croissance régénératrice et que, dans l'ensemble, les effets obtenus par irradiation augmentent avec la dose dans chaque type de morphogenèse.

Dans tous les cas étudiés, le premier segment ^{à être régénéré} (pygidium ou prostomium) est réformé ; cependant le temps nécessaire à son édification est d'autant plus long que la dose est élevée.

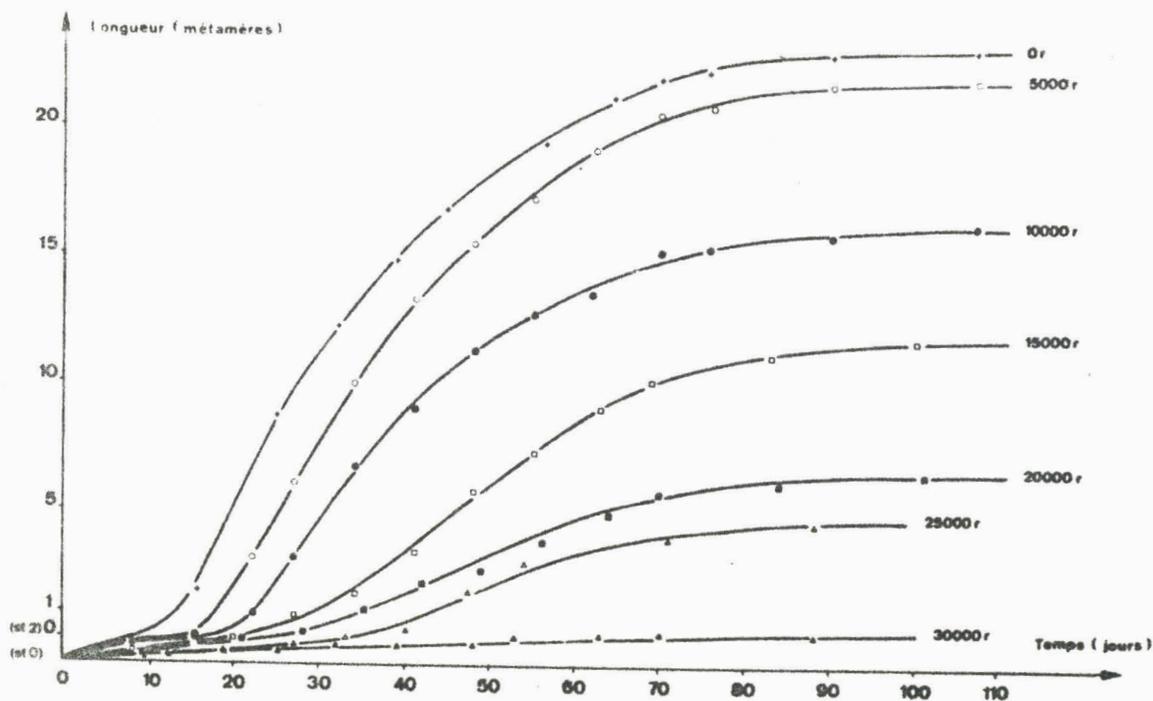


Fig. 11 - Influence de la dose de rayons X sur la croissance du régénérat caudal de S. amica ; st. 0 : cicatrisation ; st. 2 : cirres pygidiaux différenciés.

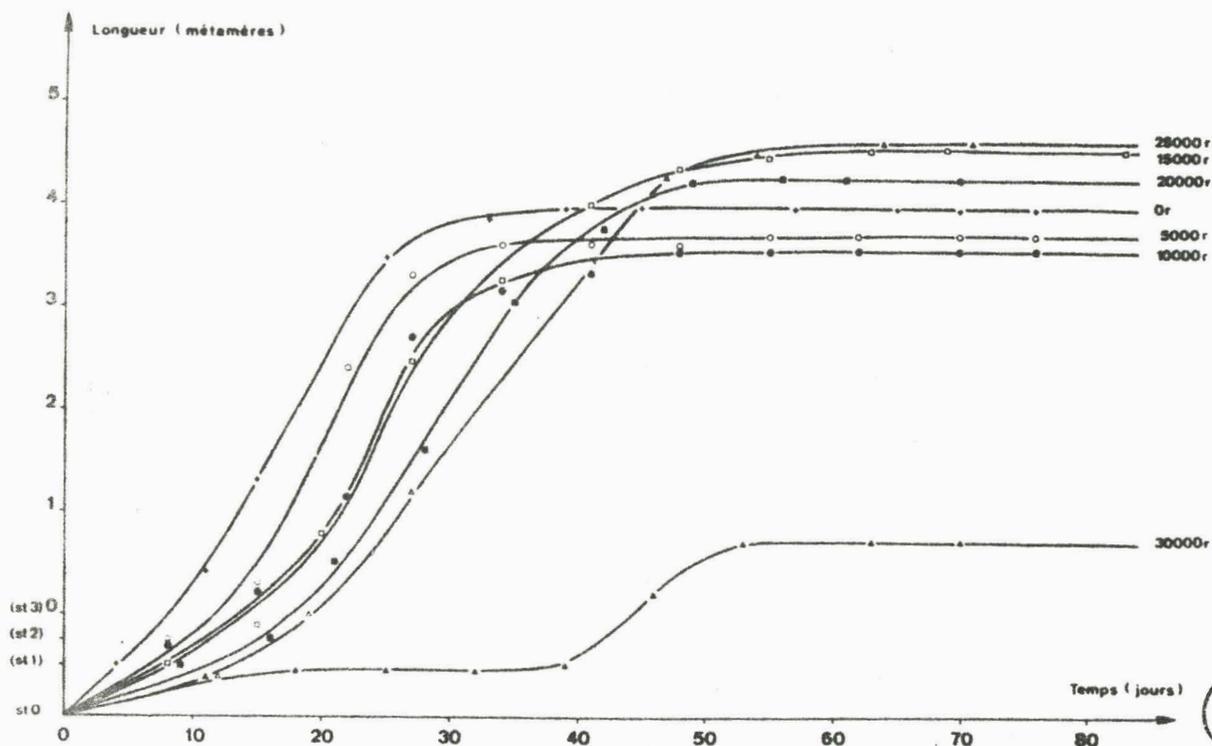


Fig. 12 - Influence de la dose de rayons X sur la croissance du régénérat céphalique de S. amica ; st. 0 : cicatrisation ; st. 1 : blastème indifférencié ; st. 2 : appendices prostomiaux différenciés ; st. 3 : yeux différenciés.



Tableau 5

Influence de la dose de rayons X sur la longueur moyenne (en métamères) du régénérat caudal de *S. amica* en fonction du temps (en jours).

Tempo	8	15	19 - 22	25 - 28	32 - 35	39 - 42	46 - 49	54 - 57	62 - 65	69 - 72	84 - 90
Doses											
0 r (témoins non anesthésiés)	0 (st. 2) (60) 100	1,8 ± 0,4 (59) 30	-	8,7 ± 0,8 (57) 0	12,2 ± 1,0 (56) 0	14,8 ± 1,2 (47) 0	16,8 ± 1,4 (46) 0	19,4 ± 1,8 (42) 0	21,1 ± 2,2 (39) 0	21,9 ± 2,3 (38) 0	22,8 ± 2,3 (37) 0
0 r (témoins anesthésiés)	0 (st. 1) (20) 100	2,0 ± 0,3 (18) 5	-	7,9 ± 1,5 (16) 0	11,1 ± 2,0 (15) 0	14,0 ± 2,5 (13) 0	15,6 ± 2,8 (13) 0	17,0 ± 3,2 (13) 0	17,9 ± 3,6 (13) 0	18,9 ± 4,3 (13) 0	19,3 ± 4,6 (13) 0
5 000 r	0 (st. 2) (10) 100	0,1 ± 0,2 (10) 90	3,1 ± 0,8 (10) 0	6,1 ± 1,5 (10) 0	10,0 ± 2,4 (9) 0	13,3 ± 2,4 (9) 0	15,5 ± 2,7 (9) 0	17,3 ± 3,2 (9) 0	19,1 ± 4,0 (8) 0	20,5 ± 5,3 (7) 0	21,7 ± 5,8 (7) 0
10 000 r	0 (st. 2) (23) 100	0 (st. 2) (22) 100	1,0 ± 0,5 (20) 50	3,1 ± 1,0 (19) 21	6,7 ± 1,6 (19) 0	9,0 ± 2,1 (19) 0	11,3 ± 2,4 (19) 0	12,7 ± 2,7 (18) 0	13,5 ± 3,1 (18) 0	15,2 ± 3,4 (18) 0	15,8 ± 3,8 (17) 0
15 000 r	0 (st. 1) (24) 100	0 (st. 1) (20) 100	0 (st. 2) (20) 100	0,9 ± 0,7 (20) 65	1,8 ± 1,0 (16) 37	3,4 ± 1,7 (16) 18	5,8 ± 1,9 (16) 12	7,5 ± 2,6 (16) 12	9,0 ± 3,1 (16) 12	10,1 ± 3,3 (16) 0	11,1 ± 3,4 (16) 0
20 000 r	0 (st. 1) (16) 100	0 (st. 1) (15) 100	0 (st. 2) (15) 100	0,2 ± 0,3 (15) 80	1,2 ± 0,9 (15) 60	2,2 ± 1,2 (15) 33	2,6 ± 1,5 (13) 30	3,8 ± 1,9 (12) 25	5,0 ± 2,4 (12) 25	5,7 ± 2,8 (12) 25	6,5 ± 3,4 (12) 25
25 000 r	0 (st. 1) (20) 100	0 (st. 1) (20) 100	0 (st. 1) (19) 100	0 (st. 1) (18) 100	0 (st. 2) (16) 100	0,3 ± 0,3 (16) 75	1,8 ± 1,3 (15) 40	3,0 ± 1,9 (15) 40	3,4 ± 2,1 (15) 40	4,0 ± 2,6 (15) 40	4,5 ± 2,7 (15) 40
50 000 r	0 (st. 1) (20) 100	0 (st. 1) (19) 100	0 (st. 1) (19) 100	0 (st. 1) (19) 100	0 (st. 1) (18) 100	0 (st. 1) (18) 100	0 (st. 1) (18) 100	0,1 ± 0,2 (18) 94	0,2 ± 0,4 (18) 94	0,3 ± 0,6 (17) 94	0,3 ± 0,6 (17) 94

Les chiffres placés entre parenthèses sont relatifs au nombre de tronçons observés ; à côté de ce nombre figure le pourcentage d'individus dont le régénérat ne présente pas de métamérisation (à gauche du trait épais : 100 %, à droite : < 100 %) ; les tirets correspondent à des observations non effectuées ; st. 1 : blastème indifférencié ; st. 2 : cirres anaux différenciés.

Tableau 6

Influence de la dose de rayons X sur la longueur moyenne (en métamères) du régénérat céphalique de *S. amica* en fonction du temps (en jours).

Tempo	8	15	19 - 22	25 - 28	32 - 35	39 - 42	46 - 49	54 - 57	62 - 65	69 - 72	84 - 90
Doses											
0 r (témoins non anesthésiés)	0 (st. 3) (72) 100	1,3 ± 0,1 (72) 13	-	3,4 ± 0,2 (72) 0	3,8 ± 0,2 (65) 0	3,9 ± 0,2 (65) 0	3,9 ± 0,2 (65) 0	3,9 ± 0,2 (65) 0	3,9 ± 0,2 (65) 0	3,9 ± 0,2 (65) 0	3,9 ± 0,2 (65) 0
0 r (témoins anesthésiés)	0 (st. 1) (22) 100	0,6 ± 0,2 (21) 28	-	2,2 ± 0,4 (21) 0	2,9 ± 0,4 (21) 0	3,1 ± 0,5 (21) 0	3,4 ± 0,6 (20) 0	3,4 ± 0,6 (20) 0	3,4 ± 0,6 (20) 0	3,4 ± 0,6 (20) 0	3,4 ± 0,6 (20) 0
5 000 r	0 (st. 2) (10) 100	0,3 ± 0,3 (10) 70	2,4 ± 0,4 (10) 0	3,3 ± 1,0 (10) 0	3,6 ± 0,8 (10) 0	3,6 ± 0,8 (10) 0	3,6 ± 0,8 (10) 0	3,7 ± 0,9 (10) 0			
10 000 r	0 (st. 2) (22) 100	0,1 ± 0,1 (22) 81	1,1 ± 0,3 (22) 13	2,7 ± 0,4 (20) 0	3,1 ± 0,4 (20) 0	3,3 ± 0,4 (20) 0	3,5 ± 0,4 (20) 0	3,5 ± 0,4 (20) 0	3,5 ± 0,4 (20) 0	3,5 ± 0,4 (20) 0	5 ± 0,4 (9) 0
15 000 r	0 (st. 1) (23) 100	0 (st. 1) (23) 100	0,7 ± 0,3 (23) 43	2,4 ± 0,7 (23) 21	3,2 ± 0,7 (23) 8	4,0 ± 0,6 (23) 4	4,3 ± 0,4 (23) 0	4,4 ± 0,4 (23) 0	4,5 ± 0,4 (23) 0	4,5 ± 0,4 (23) 0	4,5 ± 0,4 (23) 0
20 000 r	0 (st. 1) (21) 100	0 (st. 2) (21) 100	0,5 ± 0,2 (21) 52	1,6 ± 0,5 (21) 9	3,0 ± 0,5 (21) 4	3,7 ± 0,4 (21) 0	4,2 ± 0,5 (19) 0	4,2 ± 0,5 (19) 0	4,2 ± 0,5 (19) 0	4,2 ± 0,5 (19) 0	4,2 ± 0,5 (19) 0
25 000 r	0 (st. 1) (16) 100	0 (st. 1) (15) 100	0 (st. 3) (15) 100	1,2 ± 0,6 (15) 40	1,9 ± 0,6 (15) 13	3,4 ± 0,6 (15) 6	4,3 ± 0,6 (15) 0	4,4 ± 0,6 (15) 0	4,6 ± 0,5 (15) 0	4,7 ± 0,5 (15) 0	4,7 ± 0,5 (15) 0
30 000 r	0 (st. 1) (18) 100	0 (st. 1) (18) 100	0 (st. 1) (17) 100	0 (st. 1) (16) 100	0 (st. 1) (16) 100	0 (st. 1) (16) 100	0,2 ± 0,4 (15) 95	0,7 ± 0,9 (15) 80			

Les chiffres placés entre parenthèses sont relatifs au nombre de tronçons observés ; à côté de ce nombre figure le pourcentage d'individus dont le régénérat ne présente pas de métamérisation (à gauche du trait épais : 100 %, à droite : < 100 %) ; les tirets correspondent à des observations non effectuées ; st. 1 : blastème indifférencié ; st. 2 : appendices protoconiaux différenciés ; st. 3 : yeux différenciés.

BUS LILLE

Tableau 7

Retard de la métamérisation du régénérat en fonction de la dose
de rayons X (d'après les figures 11 et 12)

Doses	Régénération caudal.		Régénération céphalique	
	Nombre de jours séparant : la section des premières : manifestations de la : segmentation :	Retard de la : segmentation : (en jours)	Nombre de jours séparant : la section des premières : manifestations de la : segmentation :	Retard de la : segmentation : (en jours)
0 r	8	-	7	-
5 000 r	12	+ 4	10	+ 3
10 000 r	15	+ 7	13	+ 6
15 000 r	21	+ 13	14	+ 7
20 000 r	24	+ 16	17	+ 10
25 000 r	34	+ 26	20	+ 13

En ce qui concerne la régénération des segments suivants, il y a lieu de distinguer les deux types de régénération.

- Régénération postérieure. La vitesse de segmentation du régénérat décroît régulièrement à mesure que la dose s'élève ; pratiquement elle s'annule lorsque la dose atteint 30 000 r. D'autre part, et étant donné que la segmentation du régénérat ne se produit qu'après l'achèvement du premier segment, l'apparition des premiers indices de la métamérisation est d'autant plus tardive que la dose est élevée (Tableau 7).

- Régénération antérieure. Jusqu'à 25 000 r, la vitesse de segmentation du régénérat apparaît pratiquement indépendante de la dose ; par contre, à 30 000 r, le pouvoir de segmentation disparaît presque totalement. Comme dans la régénération caudale, le retard apporté dans la segmentation du régénérat est d'autant plus grand que la dose est plus élevée ; toutefois, à dose égale il est toujours inférieur à celui observé dans la régénération postérieure (Tableau 7).

D'autre part, les résultats obtenus après anesthésie prolongée (3 heures 30) (Tableaux 5 et 6) ou irradiations prolongées (3 heures) à des doses comprises entre 5 000 et 30 000 r montrent que seule la quantité de rayonnement reçue par les animaux est responsable des perturbations occasionnées par les rayons X.

30 000 r semble donc constituer la dose minimale nécessaire pour bloquer aussi bien la segmentation d'un régénérat céphalique que celle d'un régénérat caudal. L'inhibition de la segmentation semble définitive ; aucune des observations prolongées (jusqu'à 110 jours après la section) effectuées sur des tronçons dont la segmentation était bloquée après irradiation à 30 000 r, n'a permis de déceler le moindre indice de métamérisation tardive au-delà du 70ème jour suivant l'amputation.

b) Influence du fractionnement de la dose de rayons X
(Tableaux 8 et 9, fig. 13 et 14).

Les résultats obtenus montrent que, pour une dose donnée, le fractionnement de celle-ci ne modifie pas l'intensité du pouvoir régénérateur en direction céphalique.

Par contre, il peut diminuer de façon significative la sensibilité

Tableau 8

Influence du fractionnement de la dose de rayons X sur la longueur moyenne (en micromètres)
du régénérat caudal de *S. amica* en fonction du temps (en jours).

Doses	Temps		20 - 22	27 - 28	34 - 35	41 - 42	48 - 49	55 - 56	62 - 64	69 - 70	84 - 90
	8	15									
10 000 r	0 (st.2) ⁺ (23) 100	0 (st.2) ⁺ (22) 100	1,0 ± 0,5 (20) 50	3,1 ± 1,0 (19) 21	6,7 ± 1,6 (19) 0	9,0 ± 2,1 (19) 0	11,3 ± 2,4 (19) 0	12,7 ± 2,7 (18) 0	13,5 ± 3,1 (18) 0	15,2 ± 3,4 (18) 0	15,8 ± 3,8 (17) 0
2 fois 5000r	0 (st.2) ⁺ (10) 100	0 (st.2) ⁺ (9) 100	1,0 ± 1,0 (9) 66	3,2 ± 1,9 (8) 12	6,2 ± 3,0 (7) 0	9,2 ± 3,2 (7) 0	11,5 ± 3,7 (7) 0	13,1 ± 3,8 (7) 0	15,3 ± 4,3 (6) 0	16,8 ± 4,9 (6) 0	17,6 ± 4,7 (6) 0
15 000 r	0 (st.1) ⁺ (24) 100	0 (st.1) ⁺ (20) 100	0 (st.2) ⁺ (20) 100	0,9 ± 0,7 (20) 65	1,8 ± 1,0 (16) 37	3,4 ± 1,7 (16) 18	5,8 ± 1,9 (16) 12	7,3 ± 2,6 (16) 12	9,0 ± 3,1 (16) 12	10,1 ± 3,3 (16) 0	11,1 ± 3,4 (16) 0
2 fois 7500r	0 (st.1) ⁺ (10) 100	0 (st.1) ⁺ (10) 100	0,2 ± 0,4 (10) 90	0,7 ± 1,0 (10) 80	3,2 ± 2,3 (10) 40	6,8 ± 2,5 (10) 10	9,5 ± 3,6 (10) 10	13,7 ± 4,2 (7) 0	15,8 ± 4,3 (7) 0	18,6 ± 5,7 (6) 0	20,6 ± 5,2 (6) 0
5 fois 5000r	0 (st.1) ⁺ (10) 100	0 (st.2) ⁺ (10) 100	0,6 ± 0,6 (9) 55	4,0 ± 1,8 (9) 22	7,4 ± 2,1 (9) 0	11,0 ± 2,8 (8) 0	14,0 ± 3,2 (8) 0	15,7 ± 3,1 (8) 0	18,5 ± 2,9 (8) 0	18,8 ± 2,8 (8) 0	20,0 ± 3,1 (8) 0
20 000 r	0 (st.1) ⁺ (16) 100	0 (st.1) ⁺ (15) 100	0 (st.2) ⁺ (15) 100	0,2 ± 0,3 (15) 80	1,2 ± 0,9 (15) 60	2,2 ± 1,2 (15) 33	2,6 ± 1,5 (13) 30	3,8 ± 1,9 (12) 25	5,0 ± 2,4 (12) 25	5,7 ± 2,8 (12) 25	6,5 ± 3,4 (12) 25
4 fois 5000r	0 (st.1) ⁺ (8) 100	0 (st.1) ⁺ (7) 100	0 (st.2) ⁺ (7) 100	0,8 ± 1,7 (7) 71	2,5 ± 3,3 (7) 57	4,6 ± 5,2 (7) 33	6,0 ± 6,3 (6) 16	7,5 ± 7,5 (6) 16	8,6 ± 8,5 (6) 16	9,1 ± 9,0 (6) 16	9,8 ± 9,8 (6) 16

Les chiffres placés entre parenthèses sont relatifs au nombre de tronçons observés ; à côté de ce nombre figure le pourcentage d'individus dont le régénérat ne présente pas de métamorphose (à gauche du trait épais : 100 %, à droite : < 100 %) ; st. 1 : blastème indifférencié ; st. 2 : cirrus cygillaires différenciés.

Tableau 9

Influence du fractionnement de la dose de rayons X sur la longueur moyenne (en micromètres)
du régénérat céphalique de *S. amica* en fonction du temps (en jours).

Doses	Temps		20 - 22	27 - 28	34 - 35	41 - 42	48 - 49	55 - 56	62 - 64	69 - 70	84 - 90
	8	15									
10 000 r	0 (st.2) ⁺ (22) 100	0,1 ± 0,1 (22) 81	1,1 ± 0,3 (22) 13	2,7 ± 0,4 (20) 0	3,1 ± 0,4 (20) 0	3,3 ± 0,4 (20) 0	3,5 ± 0,4 (20) 0				
2 fois 5000r	0 (st.2) ⁺ (10) 100	0 (st.3) ⁺ (10) 100	1,4 ± 0,6 (9) 11	2,2 ± 0,2 (9) 11	2,6 ± 0,6 (9) 0	3,0 ± 0,8 (9) 0	3,1 ± 0,7 (9) 0	3,3 ± 0,2 (9) 0	3,4 ± 0,7 (9) 0	3,4 ± 0,7 (9) 0	3,4 ± 0,7 (9) 0
15 000 r	0 (st.1) ⁺ (23) 100	0 (st.1) ⁺ (23) 100	0,7 ± 0,3 (23) 45	2,4 ± 0,7 (23) 21	3,2 ± 0,7 (23) 8	4,0 ± 0,6 (23) 4	4,3 ± 0,4 (23) 0	4,4 ± 0,4 (23) 0	4,5 ± 0,4 (23) 0	4,5 ± 0,4 (23) 0	4,5 ± 0,4 (23) 0
2 fois 7500r	0 (st.1) ⁺ (10) 100	0 (st.2) ⁺ (10) 100	0,3 ± 0,3 (10) 70	1,6 ± 0,8 (10) 20	2,5 ± 0,6 (10) 0	3,4 ± 0,9 (10) 0	3,6 ± 0,8 (9) 0	3,8 ± 0,8 (9) 0	4,0 ± 0,8 (9) 0	4,0 ± 0,8 (9) 0	4,0 ± 0,8 (9) 0
5 fois 5000r	0 (st.1) ⁺ (10) 100	0 (st.3) ⁺ (10) 100	1,2 ± 0,2 (10) 0	3,0 ± 0,5 (10) 0	3,6 ± 0,6 (9) 0	3,7 ± 0,6 (9) 0					
20 000 r	0 (st.1) ⁺ (21) 100	0 (st.2) ⁺ (21) 100	0,5 ± 0,2 (21) 52	1,6 ± 0,3 (21) 9	3,0 ± 0,5 (21) 4	3,7 ± 0,4 (21) 0	4,2 ± 0,5 (19) 0				
4 fois 5000r	0 (st.1) ⁺ (9) 100	0 (st.2) ⁺ (8) 100	0,2 ± 0,3 (8) 74	2,0 ± 0,6 (8) 12	3,2 ± 0,9 (8) 0	4,1 ± 0,9 (8) 0					

Les chiffres placés entre parenthèses sont relatifs au nombre de tronçons observés ; à côté de ce nombre figure le pourcentage d'individus dont le régénérat ne présente pas de métamorphose (à gauche du trait épais : 100 %, à droite : < 100 %) ; st. 1 : blastème indifférencié ; st. 2 : appendices postorbitaux différenciés ; st. 3 : yeux différenciés.



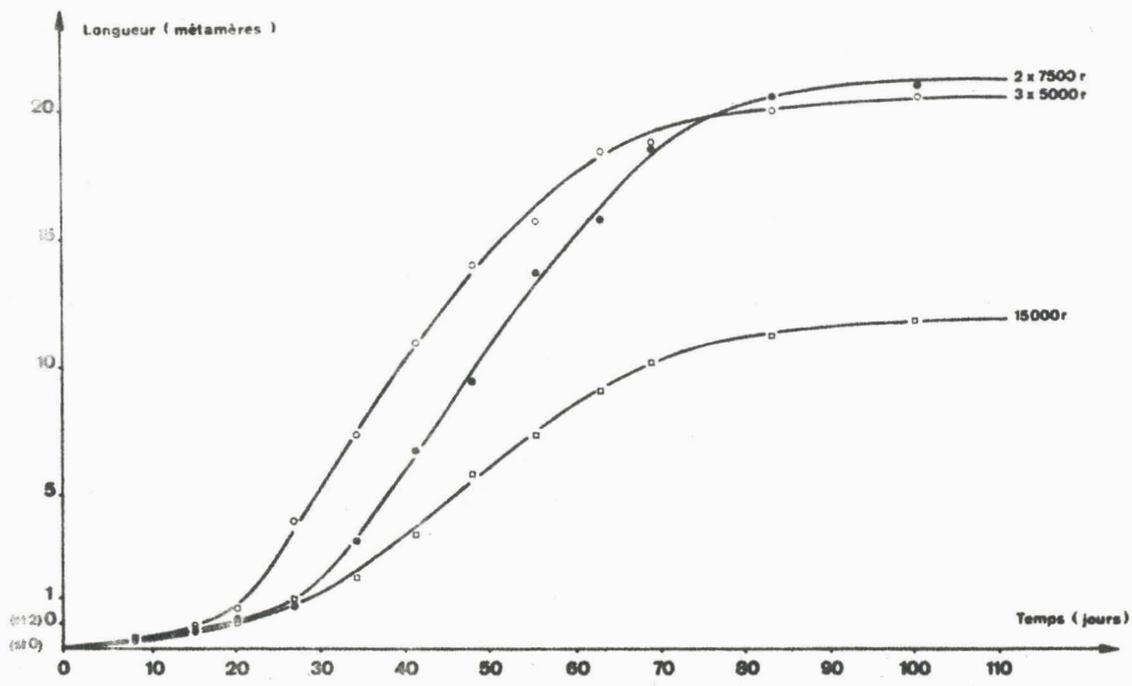


Fig. 13 - Influence du fractionnement de la dose de rayons X (15000 r) sur la croissance du régénérat caudal de S. amica ; st. 0 : cicatrisation ; st. 2 : cirres pygidiaux différenciés.

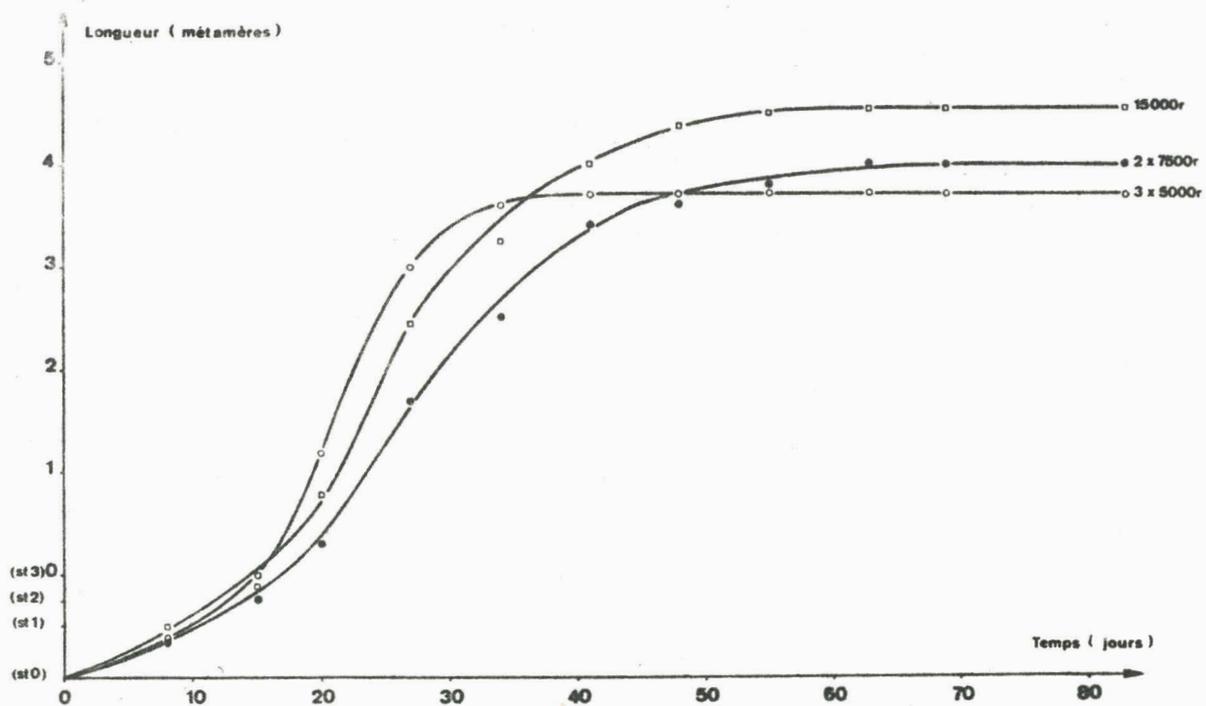


Fig. 14 - Influence du fractionnement de la dose de rayons X (15000 r) sur la croissance du régénérat céphalique de S. amica ; st. 0 : cicatrisation ; st. 1 : blastème indifférencié ; st. 2 : appendices prostomiaux différenciés ; st. 3 : yeux différenciés.

des régénérats caudaux vis-à-vis d'une irradiation d'intensité donnée. Ce résultat n'a été obtenu que pour la dose de 15 000 r ; il semble que 10 000 r constitue une dose trop peu efficace pour permettre de distinguer une modification significative de la radiosensibilité des régénérats caudaux ; à 20 000 r, la différence existant entre le pouvoir régénérateur des deux lots considérés n'est pas significative (bien que du même ordre de grandeur que celle mise en évidence pour 15 000 r) en raison de l'importance des variances affectant les moyennes comparées.

c) Influence du moment de l'irradiation par rapport à la section

Les potentialités régénératrices de Syllis irradiés peuvent varier suivant le moment de l'irradiation par rapport à la section.

Il apparaît qu'une dose de 30 000 r est incapable de bloquer la régénération céphalique si elle est délivrée 24 heures après la section ou 24 heures, 6, 14, 22, 90 jours avant celle-ci, que ce soit sur un ver entier ou déjà en régénération. L'apparition des premiers indices de la métamérisation est d'ailleurs d'autant moins tardive que le temps séparant l'irradiation de la section est plus long. Par contre, la même dose (30 000 r), administrée dans les mêmes conditions, s'avère toujours suffisante pour inhiber la régénération caudale. Ces résultats impliquent donc l'existence d'un phénomène de restauration des lésions occasionnées par l'irradiation, tout au moins dans la régénération céphalique.

L'abolition de toute métamérisation en direction céphalique par irradiation avant la section (ou 24 heures après celle-ci) exige donc l'utilisation de doses supérieures à 30 000 r ; nous avons constaté que lorsque l'irradiation est pratiquée 24 heures avant la section, 35 000 r suffisent pour inhiber la régénération céphalique. D'autre part, il convient de signaler que, dans ces conditions, le rétablissement du pouvoir régénérateur céphalique ne s'observe que si la section concerne un segment non impliqué dans un processus de régénération ; l'ablation d'un régénérat antérieur dont la métamérisation est bloquée n'entraîne pas en effet le recouvrement des potentialités régénératrices.

Nos résultats montrent donc que, pour des conditions identiques (doses uniques ou doses fractionnées), l'action des rayons X sur la régénération se manifeste par des effets de deux types dont l'intensité est proportionnelle à la dose :

- un retard du déclenchement de la métamérisation
- un ralentissement dans la néoformation des métamères.

Les rayons X interviennent donc sur la régénération en inhibant la segmentation du régénérat ; de ce fait, si l'on considère le pourcentage d'individus dont la métamérisation est inhibée après irradiation, on constate qu'il est d'autant plus important que la dose est élevée (Tableaux 5 et 6, fig. 15 et 16). Ces effets se traduisent en définitive par un affaiblissement du pouvoir régénérateur moyen des tronçons irradiés, proportionnel à la dose.

Cependant, bien que les modifications provoquées par une irradiation X sur la régénération soient analogues dans les deux types de morphogenèse, il convient de souligner le fait que, dans tous les cas étudiés, la régénération céphalique apparaît moins sensible à l'action des rayons X que la régénération caudale. Cette radiosensibilité différentielle peut être mise en évidence en considérant les variations du pouvoir régénérateur en fonction de la dose et, à dose égale, en fonction des modalités de l'irradiation (fractionnement de la dose) et du moment de l'irradiation par rapport à la section.

Variations du pouvoir régénérateur en fonction de la dose.

On peut apprécier ces variations dans les deux types de morphogenèse en considérant le moment du déclenchement de la segmentation, la vitesse de segmentation, le pourcentage d'individus dont la métamérisation est inhibée.

. Moment du déclenchement de la segmentation. Les premiers indices de la segmentation d'un régénérat céphalique apparaissent toujours plus précocement que dans la régénération caudale ; d'autre part, l'augmentation du retard enregistré dans la segmentation du régénérat est généralement moins importante dans la régénération céphalique lorsque la dose s'élève (Tableau 7).

. Vitesse de segmentation. Pratiquement, quelles que soient les modalités de l'irradiation, la vitesse de segmentation d'un régénérat céphalique est indépendante de la dose ; même à 30 000 r, les quelques régénérats antérieurs présentant une métamérisation se segmentent à vitesse normale. Par contre, la

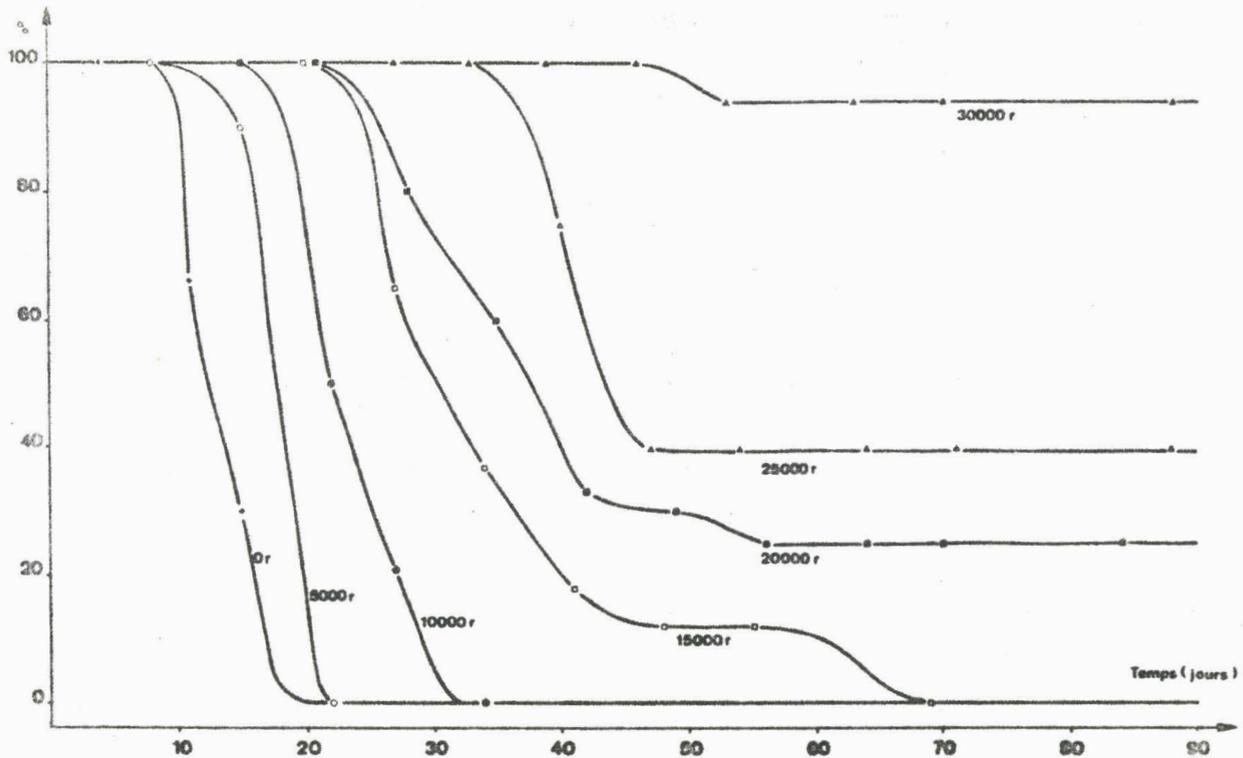


Fig. 15 - Influence de la dose de rayons X sur le pourcentage de *S. amica* dont la métamérisation du régénérat caudal est inhibée, en fonction du temps.

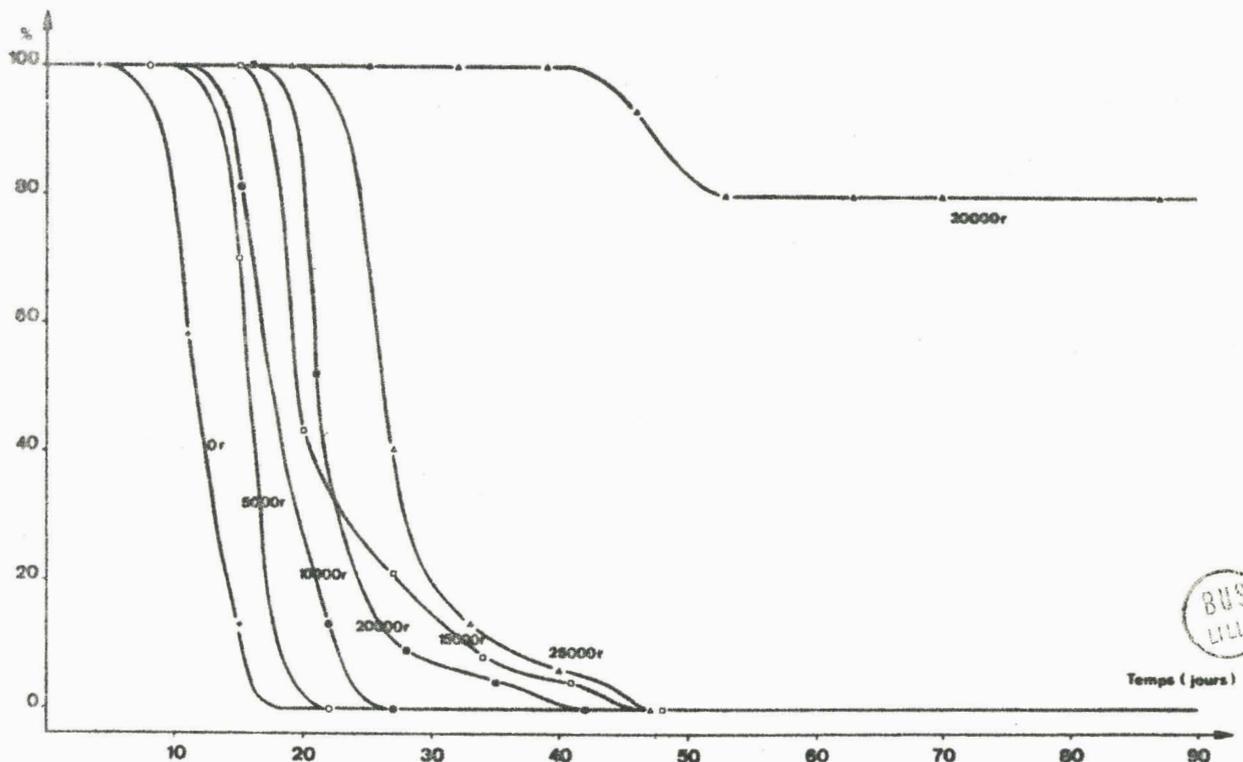


Fig. 16 - Influence de la dose de rayons X sur le pourcentage de *S. amica* dont la métamérisation du régénérat céphalique est inhibée, en fonction du temps.

BUS LILLE

vitesse de segmentation des régénérats caudaux est toujours inférieure à celle des témoins et inversement proportionnelle à la dose.

. Pourcentage d'individus dont la métamérisation est inhibée.

Bien que ce pourcentage croisse avec l'intensité de l'irradiation, il est toujours plus faible dans la régénération céphalique que dans la régénération caudale (fig. 15 et 16).

Variations du pouvoir régénérateur en fonction des modalités de l'irradiation. Alors que l'irradiation de Syllis par dose unique peut, par rapport à une irradiation fractionnée de même intensité, abaisser le pouvoir régénérateur caudal, elle ne se révèle pas plus efficace dans le cas de la régénération céphalique (fig. 13 et 14 ; tableaux 8 et 9).

Variations du pouvoir régénérateur en fonction du moment de l'irradiation par rapport à la section. Le fait de retarder la section par rapport à l'irradiation (irradiation 24 heures, 6, 14, 22, 90 jours avant la section) ou d'irradier 24 heures seulement après la section peut entraîner une diminution de l'efficacité de l'irradiation sur un régénérat céphalique, mais reste sans effet sur la régénération caudale.

Ces résultats permettent donc de supposer que l'intensité d'une irradiation suffisante pour bloquer la métamérisation d'un régénérat céphalique est probablement supérieure à celle exigée par un régénérat caudal ; malheureusement, l'imprécision des mesures de doses absorbées et la variabilité du pouvoir régénérateur des Syllis après irradiation ne nous ont pas permis de vérifier cette probabilité. Néanmoins, l'étude comparée des effets des rayons X sur les deux types de morphogenèse dans différentes conditions plaide suffisamment en faveur de cette hypothèse pour affirmer l'existence d'un seuil d'irradiation différent suivant le type de morphogenèse considéré et au-delà duquel la métamérisation du régénérat est inhibée. Des observations analogues ont déjà été rapportées par d'autres auteurs (JANCA, 1935 ; O'BRIEN, 1942 ; THOUVENY, 1964); l'interprétation de ce phénomène sera abordée après l'exposé des résultats histologiques.

2) Etude morphologique des régénérats édifiés par des Syllis irradiés

a) Morphologie du premier segment néoformé (pygidium ou prostomium)

Deux cas sont à envisager.

Lorsque la segmentation du régénérat peut encore se produire après l'irradiation, le premier segment néoformé est morphologiquement identique à celui régénéré par des individus non irradiés.

Par contre, lorsque la métamérisation est inhibée, la morphogenèse du premier segment peut être perturbée. Les malformations intéressent essentiellement les appendices céphaliques (antennes, palpes) et pygidiaux (cirres anaux). Le plus souvent ces organes ne se différencient pas (Pl. XIV, fig. a) ou sont simplement représentés par une ébauche de petite taille ; parfois ils présentent des bifurcations caractéristiques (Pl. XIV, fig. b) ou apparaissent en surnombre (Pl. XIV, fig. c). D'autre part, ces régénérats se caractérisent généralement par une pigmentation particulièrement importante ; les taches oculaires peuvent aussi se développer considérablement et apparaître en grand nombre sur la face dorsale du prostomium (Pl. XIV, fig. d). De tels régénérats maintiennent leur intégrité pendant toute la durée de l'expérience. Exceptionnellement, nous avons observé une régression du bourgeon de régénération. Il semble cependant que celle-ci entre dans le cadre d'une involution affectant toute l'extrémité du tronçon, tissus anciens compris ; elle se manifeste d'abord par l'élimination des cirres dorsaux suivie de celle des soies, puis par la réduction des parapodes jusqu'à disparition totale, et enfin, par une diminution notable de la taille du segment ainsi que de celle du régénérat ; ce phénomène, relativement rare, concerne généralement le dernier et, parfois, l'avant-dernier segment (Pl. XIV, fig. e).

b) Morphologie des métamères néoformés

Dans le cas où des métamères sont néoformés, ils sont analogues à ceux d'un régénérat normal ; ils ne présentent pas en particulier de différences de taille notables à l'exception de quelques rares cas (3 régénérats antérieurs provenant d'un même lot (Pl. XIV, fig. f). D'autre part, ils ne présentent jamais le moindre signe de régression.

3) Etude histologique

Le mode d'action des rayons X sur les Syllis en régénération est identique dans les deux types de morphogenèse. Nous examinerons successivement le comportement de chacun des tissus impliqués dans la néoformation des structures amputées, après irradiation à 30 000 r.

a) Epiderme

L'épiderme bordant la plaie des individus irradiés évolue de façon pratiquement normale. Ses cellules s'activent rapidement (Pl. XV, fig. a), se divisent et ne manifestent à aucun moment de signes de dégénérescence; tout au plus présentent-elles dans certains cas un cytoplasme granuleux. La prolifération de ces éléments permet la mise en place d'un blastème de régénération analogue à celui édifié par des individus non irradiés. Comme chez ces derniers, la prolifération épidermique est accompagnée d'une différenciation cellulaire aboutissant à la formation de cellules épidermiques banales et de cellules nerveuses.

- Les cellules épidermiques

Au microscope photonique, les manifestations les plus visibles de la différenciation des cellules de régénération ectodermiques en cellules épidermiques résident dans la sécrétion d'une cuticule et la synthèse de pigments caractéristiques de l'épiderme. Le plus souvent, la quantité de pigment synthétisée est nettement plus importante que dans l'épiderme de blastèmes sains ; par contre, la cuticule est d'épaisseur normale. Les cellules épidermiques du régénérat et, plus particulièrement, celles situées dans sa partie ventrale, se maintiennent à l'état activé pendant toute la durée des observations.

Au microscope électronique, l'épiderme néoformé apparaît comme celui des blastèmes édifiés par des Syllis non irradiés. Il est constitué de cellules prismatiques allongées perpendiculairement à la surface et reposant sur une basale qui les sépare du mésoderme sous-jacent. La plupart de ces cellules présentent une ultrastructure analogue à celle décrite dans la régénération normale ; en particulier, le cytoplasme est très riche en ribosomes, dictyosomes, mitochondries, et possède de nombreux tonofilaments groupés en faisceaux (Pl. XVI, fig. a et b). Certaines cellules épidermiques sont toutefois moins denses aux électrons et relativement pauvres en organites cytoplasmiques ; quelques unes contiennent

de nombreux cytolysomes (Pl. XVI, fig. a).

- Les cellules nerveuses

Comme chez les témoins, la différenciation des cellules épidermiques profondes des blastèmes céphaliques en cellules nerveuses aboutit à la mise en place des ganglions cérébroïdes (Pl. XV, fig. b) ; toutefois, l'apparition des premiers éléments nerveux néoformés est plus tardive (vers le 10ème jour après la section).

L'innervation des blastèmes caudaux est, dans la plupart des cas, assurée par des fibres régénérées à partir de la chaîne nerveuse ancienne suivant un processus analogue à celui décrit chez les témoins ; elles sont placées en particulier entre les cellules épidermiques à proximité de la basale (Pl. XVI, fig. b).

b) Epithéliums coelomiques

De la même manière que chez les témoins, les cellules péritonéales de l'extrémité du segment blessé s'accumulent derrière l'épiderme cicatriciel où elles constituent un massif relativement important dans un délai de cinq jours après la section ; l'irradiation n'entrave donc pas le déplacement des cellules mésodermiques. Cependant, leur évolution est très particulière. Un certain nombre d'entre elles ne tardent pas à manifester un début d'activation ; le nucléole apparaît mais est toujours de petite taille (1μ de diamètre), la zone périnucléolaire se développe rarement et la basophilie cytoplasmique est toujours discrète. Le nombre de cellules à aspect "néoblastique" caractéristique des régénérats caudaux est généralement très faible, voire même nul. En outre, un certain nombre de caractères les distinguent des blastocytes mésodermiques sains.

En particulier, leur cytoplasme est anormalement granuleux ; les granulations sont de petite taille, généralement jaunâtres, mais parfois très denses (Pl. XV, fig. g) ; l'observation au microscope électronique de cellules pariétopleurales irradiées permet de supposer que ces éléments représentent des cytolysomes (Pl. XVI, fig. a et Pl. XVII, fig. a).

L'aspect des noyaux des blastocytes mésodermiques et leur évolution après irradiation constituent, cependant, la manifestation la plus caractéristique de l'activité destructrice des rayons X. Dès le 7ème jour suivant la section,

la limite du noyau apparaît sinueuse (Pl. XV, fig. c) ; la chromatine se condense sous l'enveloppe nucléaire ou en gros amas répartis irrégulièrement dans le nucléoplasme. La taille du noyau et son affinité vis-à-vis des colorants basiques sont très variables. Certains d'entre eux atteignent un volume relativement important et se distinguent par leur faible colorabilité (Pl. XV, fig. c) ; d'autres, de taille réduite et caractérisés par une densité optique importante, sont manifestement en pycnose (Pl. XV, fig. d). Ce processus de dégénérescence nucléaire aboutit à la disparition progressive des noyaux au sein du massif mésodermique. Dans les cas où cette involution est particulièrement rapide, le massif mésodermique n'est représenté que par un matériel granuleux pratiquement dépourvu de noyaux et représentant vraisemblablement les débris cellulaires (Pl. XV, fig. f). Généralement, la dégénérescence du massif mésodermique aboutit rarement à une disparition complète des cellules de régénération mésodermiques. Celles qui survivent à l'irradiation constituent un épithélium limitant le coelome du blastème ; cependant aucune organisation n'apparaît au sein de ce mésoderme néoformé (Pl. XV, fig. e).

L'étude de ce tissu au microscope électronique montre néanmoins que certaines cellules mésodermiques peuvent encore assurer la différenciation de myofilaments (à proximité de la basale) (Pl. XVI, fig. a et Pl. XVII, fig. a et b), mais la plupart ne contiennent aucune structure différenciée ; en outre, elles sont pauvres en organites cytoplasmiques et, en particulier, en ribosomes ; leur cytoplasme apparaît parfois vide (Pl. XVI, fig. b) mais, le plus souvent, il contient de très nombreux cytolysomes (Pl. XVI, fig. a et Pl. XVII, fig. a).

D'autre part, il semble que les cellules péritonéales des individus irradiés ne soient plus capables d'assurer efficacement la phagocytose des débris musculaires ; il faut attendre 10 jours après la section pour ne plus trouver^{trace} de ces éléments (alors que 3 à 4 jours suffisent chez les témoins).

c) Epithélium intestinal

Après irradiation, un certain nombre de cellules intestinales sont rejetées dans la lumière du tube digestif. Corrélativement, l'épithélium digestif s'amincit (Pl. XV, fig. b et c) mais conserve ses propriétés caryocinétiques et morphogénétiques. Dans la régénération caudale en particulier,

l'épithélium digestif, dont les cellules proches du front de section s'activent dans un délai normal, s'évagine en direction de la blessure et se soude à l'épiderme cicatriciel. Bien que ce processus soit plus lent que chez les individus sains, il aboutit néanmoins au percement d'un anus fonctionnel (15 jours après la section environ). Au microscope électronique, les cellules de l'épithélium intestinal apparaissent comme étant identiques à celles d'un blastème de Syllis non irradié (Pl. XVII, fig. a et b).

L'étude histologique de la régénération d'individus irradiés à dose inférieure à 30 000 r montre que, dans ce cas, le nombre de cellules mésodermiques radiolésées est inférieur à celui observé après irradiation à 30 000 r et semble, grosso modo, proportionnel à l'intensité de l'irradiation. D'autre part, les cellules non nécrosées (d'autant plus nombreuses que la dose est faible) sont capables, après un certain temps de latence dont la durée est proportionnelle à la dose, de se différencier et d'édifier des structures mésodermiques normales.

E) DISCUSSION

Les résultats obtenus après irradiation X de Syllis en régénération nous conduisent à considérer le rôle des rayons X dans l'inhibition de la régénération. Au préalable, nous examinerons le problème de la radiosensibilité différentielle des tissus à l'origine des cellules régénératrices et nous considérerons le comportement des cellules de régénération irradiées.

1) Problème de la radiosensibilité différentielle des tissus à l'origine des cellules régénératrices

L'étude histologique de Syllis irradiés montre que, aux doses utilisées, l'épithélium intestinal et l'épiderme ne semblent pas affectés par le rayonnement ionisant. Par contre, les épithéliums coelomiques à l'origine du mésoderme néoformé sont très radiosensibles.

La loi ⁽¹⁾ de BERGONIE et TRIBONDEAU (1906) rend compte de la radiosensibilité particulière de ce tissu peu différencié. La réaction des épithéliums coelomiques de Syllis à une irradiation est d'ailleurs semblable à celle de cellules à caractère embryonnaires décrite dans divers groupes d'Invertébrés et notamment les Hydres (BRIEN et RENIERS-DECOEN, 1955), les Planaires (DUBOIS, 1949) et les Oligochètes (STEPHAN-DUBOIS, 1954). Les tissus tels que l'épiderme et l'épithélium intestinal, plus différenciés, échappent à la destruction aux doses envisagées.

2) Comportement des cellules de régénération irradiées

a) Cellules provenant de l'épiderme et de l'épithélium intestinal

Ces éléments se comportent pratiquement comme chez les témoins non irradiés; en particulier, ils sont capables d'assurer l'édification de structures différenciées et viables. Toutefois, leur activité semble légèrement perturbée; la vitesse de régénération des structures amputées est notamment plus faible chez les irradiés que chez les témoins; d'autre part, la synthèse de pigments caractéristiques de l'épiderme est souvent anormalement élevée dans les blastèmes des individus irradiés.

b) Cellules provenant des épithéliums coelomiques.

Nous envisagerons deux cas :

- Cas d'une irradiation à 30 000 r

Les cellules de régénération mésodermiques irradiées se déplacent en direction du front de section et s'accumulent derrière l'épiderme cicatriciel; l'irradiation semble donc sans effet sur ce processus. Cependant, peu après, la plupart des blastocytes mésodermiques présentent des radiolésions caractéristiques (augmentation de la taille du noyau, plissement de

(1) Bien que cette loi souffre de nombreuses exceptions, elle demeure souvent valable (TUBIANA et al., 1963); les variations de la radiosensibilité cellulaire ont été formulées ainsi: "Les rayons X agissent avec d'autant plus d'intensité sur les cellules que l'activité reproductrice de ces cellules est plus grande, que leur devenir caryocinétique est plus long, que leur morphologie et leurs fonctions sont moins définitivement fixées".

l'enveloppe nucléaire, pycnose, abondance de cytolysomes) les conduisant vers une mort plus ou moins rapide. Les cellules non nécrosées forment un tissu dans lequel aucune organisation n'apparaît.

- Cas d'une irradiation à dose inférieure à 30 000 r

Dans ce cas, les cellules non nécrosées réacquièrent leurs propriétés morphogénétiques après un certain temps de latence. Ce phénomène de restauration, bien connu en radiobiologie, explique la diminution de l'effet de l'irradiation avec l'étalement de la dose et en particulier après fractionnement (régénération caudale uniquement). Les épithéliums coelomiques de Syllis peuvent donc être considérés comme appartenant à la deuxième catégorie de Regaud (ROUX, 1960) groupant des tissus dont les cellules présentent des phénomènes de restauration très actifs tendant à effacer les radiolésions.

3) Rôle des rayons X dans l'inhibition de la régénération

L'étude morphologique et histologique des bourgeons de régénération de Syllis irradiés à dose efficace montre que leur développement ne dépasse pas en moyenne celui d'un blastème sain de 5 à 6 jours. L'irradiation n'inhibe donc pas complètement la régénération mais empêche uniquement la segmentation du régénérat. STONE (1933), STEPHAN-DUBOIS (1955, 1956), THOUVENY (1964), ont effectué les mêmes observations sur leur matériel ; toutefois les deux derniers auteurs ont signalé une régression du bourgeon de régénération allant jusqu'à disparition complète, la mort des vers irradiés survenant généralement dans un délai de un mois à un mois et demi. Par contre, chez S. amica, le bourgeon de régénération ne régresse pas et la dose utilisée n'est pas létale. Il est donc possible, chez cette espèce, d'aborder dans de bonnes conditions l'étude du mode d'action des rayons X sur la régénération.

L'inhibition de la régénération par les rayons X peut être la conséquence de deux types d'action :

- l'irradiation perturbe les capacités morphogénétiques du tronçon ;

- l'irradiation détruit uniquement les cellules régénératrices ou les potentialités histogénétiques de celles-ci.

Les capacités morphogénétiques des tronçons irradiés ne peuvent être appréciées qu'en soumettant des cellules de régénération saines à l'action

morphogène du segment blessé. Malheureusement, la petitesse des Syllis ne nous a pas permis de procéder efficacement à des greffes de tissus sains dans des tronçons irradiés. Néanmoins, la mise en place d'un bourgeon de régénération après irradiation à dose efficace permet déjà de supposer que les capacités morphogénétiques de la base ne sont pas abolies ; des travaux antérieurs (DUBOIS, 1949 ; BRIEN et RENIERS-DECOEN, 1955 ; LAZARD, 1965) ont d'ailleurs déjà montré que les rayons X ne détruisent pas le pouvoir organisateur de la base. D'autre part, l'inhibition de la régénération ne peut être due à un défaut d'activation lié à une insuffisance de la base puisque certaines cellules (épidermiques) s'activent normalement en dépit de l'irradiation ; elle ne résulte pas non plus d'une destruction éventuelle des cellules neurosécrétrices comme le supposent GERSCH et WOHLRABE (1965) étant donné que seul l'état du segment contigu à la plaie (BOILLY, 1962_a, 1965_a) conditionne la régénération.

D'autre part, les conditions expérimentales permettant de tester les potentialités histogénétiques des cellules de régénération irradiées sont difficilement réalisables. Cependant, les observations histologiques montrent que celles des cellules d'origine ectodermique ou endodermique ne sont pas altérées ; seules celles des blastocytes mésodermiques ayant survécu à l'irradiation semblent abolies.

L'inhibition de la régénération par irradiation X chez S. amica semble donc liée à la radiosensibilité particulière des blastocytes mésodermiques ; elle doit être attribuée à la dégénérescence de ces éléments après irradiation et à l'abolition des propriétés histogénétiques de ceux ayant échappé à la destruction.

II - ACTION DU "THOROTRAST" EN INJECTION INTRACOELOMIQUE SUR LA REGENERATION CEPHALIQUE ET CAUDALE DE S. AMICA

A) INTRODUCTION

Le "Thorotrast" est une **substance** à base de thorium, généralement utilisée en radiographie et dont la toxicité a fait l'objet de nombreuses études, dans le domaine médical en particulier. Introduit dans l'organisme

"il réalise un véritable "blocage" définitif du mésenchyme actif" avec lequel il entre en contact (FRUHLING et al, 1956).

Il s'agit d'une substance inerte, facilement absorbée par certaines cellules. Elle intervient essentiellement en provoquant des lésions cytoplasmiques d'autant plus étendues que la surcharge thorotrastique de la cellule est importante.

Ces résultats et les particularités anatomiques propres aux Annélides permettent de penser qu'il est possible de "bloquer" électivement le tissu péritonéal en injectant du "Thorotrast" dans la cavité coelomique. Nous avons donc appliqué cette technique à l'étude de l'origine des cellules de régénération mésodermiques chez S. amica (BOILLY, 1967_a).

B) TECHNIQUES OPERATOIRES

1) Section

La section est pratiquée au niveau de l'intersegment 50/51 après injection de "Thorotrast".

2) Injection de "Thorotrast"

Le "Thorotrast" (1) (suspension colloïdale de dioxyde de thorium stabilisée par la dextrine) est injecté à l'aide d'une microseringue Hamilton dans le coelome des Syllis soit 48 heures, soit 3 ou 4 jours avant la section. Le volume injecté (2 à 4 μ l) reste localisé dans 3 ou 4 segments. Diverses concentrations ont été employées : 1/1 (pur), 1/2, 1/4, 1/8 ; dans les trois derniers cas, le "Thorotrast" a été dilué dans de l'eau de mer. Une quantité analogue de solvant (eau de mer, eau dextrinée) a été injectée dans les mêmes conditions afin d'en tester l'influence indépendamment de celle de l'oxyde de thorium.

C) RESULTATS

1) Etude expérimentale

a) Influence du solvant

Les résultats obtenus après **injection intracoelomique** d'eau de mer ou d'eau dextrinée (Tableau 10) montrent que le solvant du

(1) "Thorotrast" Testagar and Co, Détroit, Michigan

Tableau 10
Influence du solvant du "Thorotrast" injecté dans le coelome de S. amica
sur la longueur moyenne (en métamères) du régénérat en fonction du temps (en jours).

		Temps	11	17	23	32	46	60
		Solvants						
Régénération postérieure	Témoins non injectés	0 (st. 2 ⁺)	2,7 ± 1,3 (9)	7,8 ± 1,6 (8)	10,6 ± 3,1 (6)	14,6 ± 3,0 (5)	17,4 ± 3,9 (5)	
	eau de mer	0 (st. 2 ⁺)	3,3 ± 0,5 (12)	7,0 ± 1,1 (10)	11,8 ± 2,7 (8)	14,5 ± 2,8 (6)	17,4 ± 5,4 (5)	
	eau dextrinée	0 (st. 2)	1,8 ± 2,5 (5)	5,6 ± 4,1 (5)	13,2 ± 7,0 (4)	15,0 ± 6,0 (4)	17,5 ± 7,8 (4)	
Régénération antérieure	Témoins non injectés	0 (st. 2)	1,3 ± 0,4 (8)	3,4 ± 0,7 (7)	4,0 ± 0,9 (7)	4,2 ± 1,1 (7)	4,2 ± 1,1 (7)	
	eau de mer	0,1 ± 0,1 (12)	1,1 ± 0,4 (10)	1,8 ± 0,6 (10)	2,8 ± 0,8 (7)	3,2 ± 1,2 (7)	3,2 ± 1,2 (7)	
	eau dextrinée	0 (st. 2 ⁻)	0,8 ± 1,3 (5)	3,4 ± 1,0 (5)	3,6 ± 1,5 (5)	3,6 ± 1,5 (5)	3,6 ± 1,5 (5)	

Les chiffres placés entre parenthèses sont relatifs au nombre de tronçons observés ; st. 2 : appendices du premier segment néoformé (pygidium ou prostemium) différenciés.

Tableau 11
Influence de la concentration du "Thorotrast" injecté dans le coelome de S. amica
sur la longueur moyenne (en métamères) du régénérat en fonction du temps (en jours).

		Temps	11	17	23	32	46	60
		Concentrations						
Régénération postérieure	1/8	0 (st. 2 ⁺)	2,8 ± 0,8 (10)	6,7 ± 1,2 (9)	12,3 ± 1,4 (6)	14,5 ± 2,5 (6)	17,3 ± 4,7 (6)	
	1/4	0 (st. 2 ⁺)	2,6 ± 1,8 (11)	5,8 ± 2,2 (10)	8,7 ± 2,7 (10)	12,2 ± 3,5 (10)	14,9 ± 4,2 (10)	
	1/2	0 (st. 2 ⁺)	2,4 ± 1,0 (7)	3,2 ± 1,0 (7)	4,7 ± 1,3 (7)	7,1 ± 3,2 (7)	8,8 ± 4,8 (7)	
Régénération antérieure	1/8	0 (st. 3)	1,4 ± 0,3 (10)	2,4 ± 0,3 (10)	3,0 ± 0,5 (10)	3,1 ± 0,6 (10)	3,1 ± 0,6 (10)	
	1/4	0 (st. 3)	0,9 ± 0,6 (11)	2,0 ± 0,9 (11)	2,9 ± 1,1 (11)	3,5 ± 0,9 (11)	3,6 ± 1,0 (11)	
	1/2	0 (st. 3)	1,2 ± 0,4 (7)	1,5 ± 0,5 (7)	2,2 ± 0,7 (7)	2,8 ± 1,2 (7)	3,0 ± 1,4 (7)	

Les chiffres placés entre parenthèses sont relatifs au nombre de tronçons observés ; st. 2 : cirres pygidiaux différenciés ; st. 3 : yeux différenciés.

"Thorotrast" employé est sans effet sur la croissance régénératrice céphalique ou caudale de S. amica.

b) Influence du "Thorotrast" en fonction de la concentration (Tableau 11, fig. 17 et 18)

Quelle que soit la concentration utilisée, l'injection intracoelomique de "Thorotrast" n'empêche pas l'édification d'un blastème. Cependant, l'administration d'une quantité importante de ce produit (correspondant à une injection de "Thorotrast" pur) peut en perturber la différenciation et bloquer la croissance et la segmentation du bourgeon de régénération ; toutefois, les résultats obtenus sont inconstants : nous n'avons jamais obtenu systématiquement l'inhibition de la régénération dans ces conditions.

L'injection d'une quantité moins importante de cette substance ("Thorotrast" dilué) ne retarde pas le déclenchement de la segmentation, quelle que soit la dilution employée ou le type de morphogenèse considéré. Toutefois, elle ralentit la vitesse de segmentation du régénérat caudal d'autant plus que la quantité de "Thorotrast" administrée est plus importante ; par contre, elle apparaît comme étant sans effet appréciable sur la vitesse de segmentation du régénérat céphalique.

2) Etude morphologique

Les régénérats édifiés par des Syllis ayant reçu une injection intracoelomique de "Thorotrast" dilué sont, à évolution égale, morphologiquement identiques à ceux édifiés par des vers sains, et ne présentent pas de signes d'involution.

Cependant, après injection d'une quantité importante de "Thorotrast" (entraînant en particulier l'inhibition de la segmentation du régénérat) la différenciation du premier segment (pygidium ou prostomium) peut être incomplète ; le plus souvent, les appendices n'apparaissent pas. Comme après injection de "Thorotrast" dilué, ces régénérats ne régressent pas.

(1) Etant donné que le volume de la solution de "Thorotrast" injectée est pratiquement semblable dans tous les cas étudiés, on peut considérer que la valeur de la concentration de la solution exprime la quantité de "Thorotrast" introduite dans le coelome.

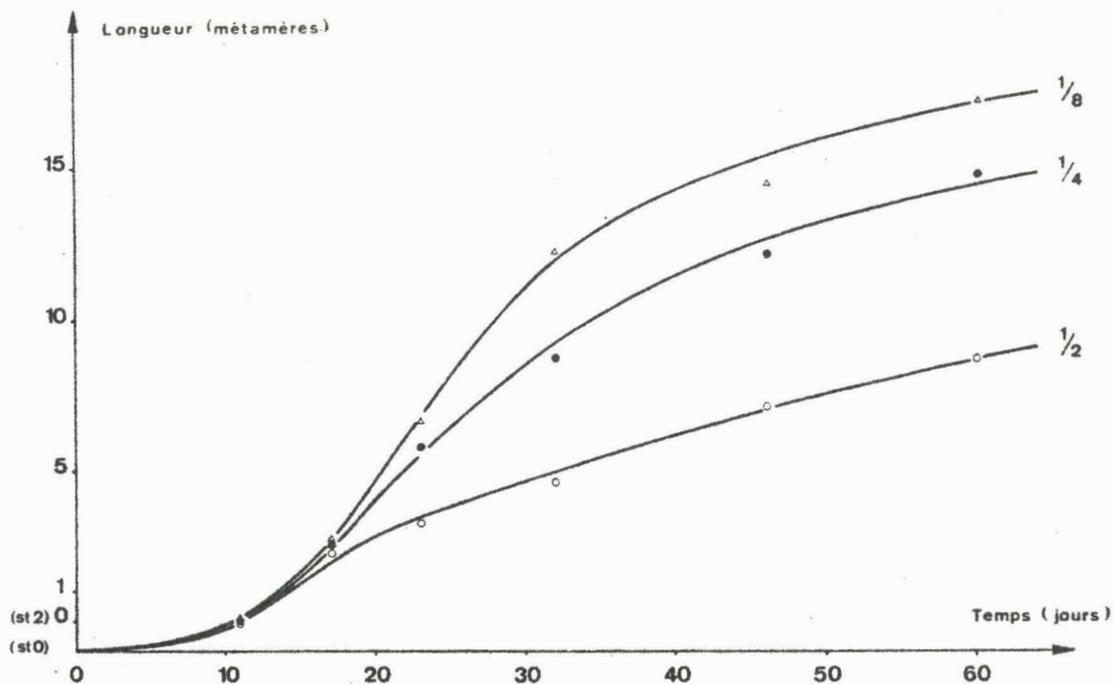


Fig. 17 - Influence de la concentration du "Thorotrast" injecté dans le coelome sur la croissance du régénérat caudal de S. amica ; st. 0 : cicatrisation ; st. 2 : cirres pygidiaux différenciés.

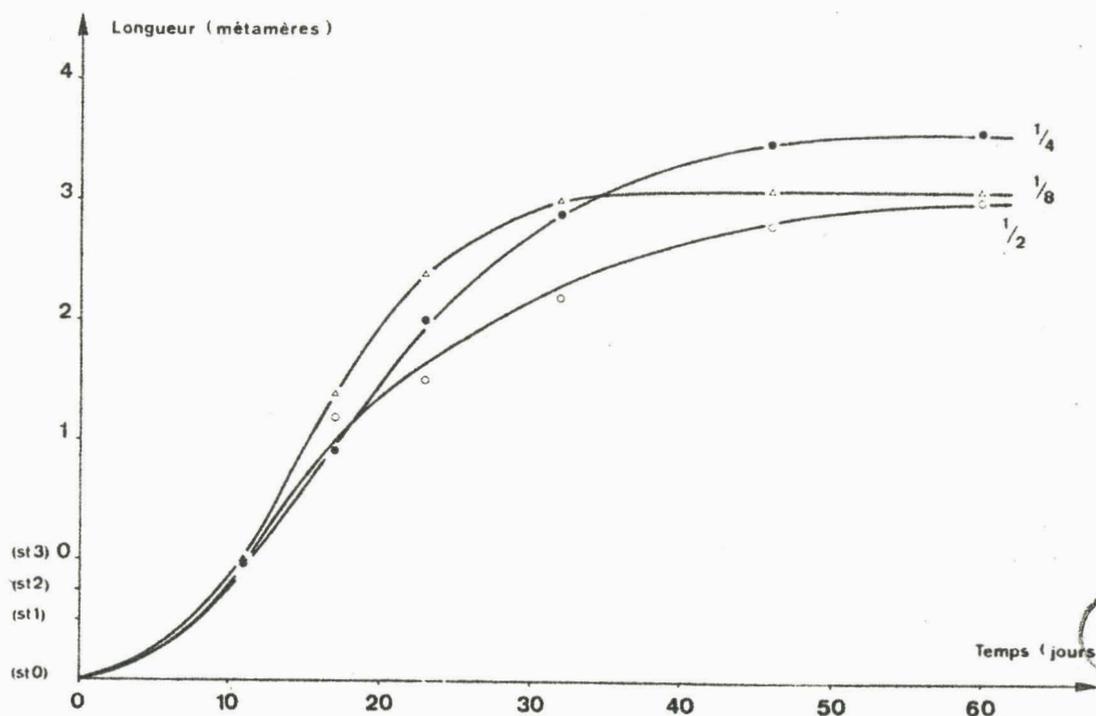


Fig. 18 - Influence de la concentration du "Thorotrast" injecté dans le coelome sur la croissance du régénérat céphalique de S. amica ; st. 0 : cicatrisation ; st. 1 : blastème indifférencié ; st. 2 ; cirres prostomiaux différenciés ; st. 3 : yeux différenciés.

3) Etude histologique et ultrastructurale

a) Les Syllis non amputés, fixés après injection de "Thorotrast", se caractérisent histologiquement par la présence d'un matériel brunâtre, granuleux, réparti tout autour de la cavité coelomique et de certains tissus ou organes faisant saillie dans le coelome, c'est-à-dire partout où existe un épithélium coelomique (Pl. XVIII, fig. a). L'examen histologique de la musculature sectionnée obliquement montre d'ailleurs que cette substance n'est présente qu'au niveau de l'épithélium coelomique la recouvrant, les fibres musculaires elles-mêmes n'en contenant pas (Pl. XVIII, fig. b).

L'étude ultrastructurale confirme ces données. Seules, les cellules péritonéales limitant la cavité coelomique absorbent les particules de thorium présentes dans le coelome (Pl. XIX, fig. a) ; les fibres musculaires ne présentent aucune affinité vis-à-vis de cette substance (Pl. XIX, fig. b). L'incorporation du thorium dans les cellules péritonéales est rapide et intéresse tous les épithéliums coelomiques en contact avec celui-ci. Le thorium est enfermé dans des vacuoles à l'intérieur desquelles apparaissent rapidement des systèmes lamellaires concentriques de type myélinique (Pl. XX, fig. a et b). Les vacuoles atteignent une taille importante, probablement par fusion de plusieurs d'entre elles et annexion de territoires cytoplasmiques : la plupart de ces formations représentent de véritables cytolysomes. Les cellules ayant une charge importante en thorium contiennent de nombreux cytolysomes de grande taille (Pl. XX, fig. c). Un certain nombre d'entre elles dégèrent et s'agglomèrent jusqu'à former des amas importants (particulièrement au niveau des parapodes) (Pl. XVIII, fig. b et c).

b) L'étude de Syllis dont la segmentation est bloquée, par l'injection du "Thorotrast" montre que les régénérats édifiés en présence de cette substance résultent uniquement de l'activité de l'épiderme bordant la plaie. Les blastocytes mésodermiques contiennent du thorium ; ils sont d'ailleurs peu nombreux et ne semblent pas se différencier (Pl. XVIII, fig. d). Les structures nerveuses sont régénérées comme chez les témoins à partir de l'épiderme néoformé (Pl. XVIII, fig. d).

c) L'étude de Syllis dont la segmentation n'est pas inhibée par l'injection de "Thorotrast" montre que, dans ce cas, les cellules de régénération mésodermiques participant aux processus histogénétiques sont exemptes de thorium ou en contiennent très peu.

D) DISCUSSION

L'utilisation du "Thorotrast" permet d'intervenir uniquement au niveau des épithéliums coelomiques. Les particules de thorium présentes dans le coelome sont incapables de traverser les basales et, de ce fait, ne peuvent parvenir à proximité des cellules intestinales et épidermiques. L'inhibition de la régénération par injection intracoelomique de "Thorotrast" ne peut donc être liée qu'à l'intoxication des cellules péritonéales par le thorium.

Les résultats obtenus montrent néanmoins que, suivant la quantité administrée, le thorium n'est pas absorbé uniformément par toutes les cellules péritonéales de la zone injectée. En particulier, parmi les cellules mésodermiques susceptibles de participer à la régénération, il y a lieu d'en distinguer trois types suivant leur degré d'intoxication.

Le premier type est représenté par des cellules dépourvues de thorium ou en contenant très peu : ces éléments ne s'observent que lorsque la quantité de "Thorotrast" injectée est faible et sont à l'origine des structures mésodermiques néoformées ; l'activité de ces cellules explique l'absence de retard dans le déclenchement de la segmentation après injection de "Thorotrast" dilué.

Les deux autres types concernent les cellules ayant absorbé une quantité importante de thorium. Un certain nombre d'entre elles, les plus touchées, dégèrent. Les autres survivent mais sont incapables d'éliminer le thorium absorbé ; d'autre part, elles ne peuvent ni se diviser, ni se différencier.

La variabilité de l'intensité d'absorption du "Thorotrast" par les cellules d'une zone contenant cette substance permet d'interpréter l'inconstance des résultats obtenus après injection de "Thorotrast" pur. Des observations analogues ont d'ailleurs été rapportées récemment (DRIESSENS et al, 1965) dans une étude sur le blocage du système réticulo-endothélial chez le rat.

L'inhibition de la régénération par injection intracoelomique de "Thorotrast" doit donc résulter de la dégénérescence et de l'inactivation des blastocytes mésodermiques par absorption de thorium.

III - DISCUSSION GENERALE

Les résultats obtenus par destruction des épithéliums coelomiques à l'aide des rayons X ou du "Thorotrast" nous permettent de considérer ce tissu comme étant à l'origine des cellules de régénération mésodermiques. En outre, ils nous autorisent à affirmer l'indépendance histogénétique de ces épithéliums et rendent possible l'appréciation du rôle du mésoderme dans la morphogenèse régénératrice. Nous envisagerons chacun de ces trois problèmes.

A) NATURE DU TISSU A L'ORIGINE DES BLASTOCYTES MESODERMIQUES

Nos observations montrent que les rayons X ou le "Thorotrast" ne lèsent que les épithéliums coelomiques ; dans les conditions de nos expériences, les fibres musculaires ne sont pas sensibles à l'action de ces agents. Etant donné que la destruction élective des cellules péritonéales suffit pour abolir toute néoformation mésodermique, la participation de fibres musculaires différenciées à la morphogenèse régénératrice ne peut donc être retenue chez S. amica. Seuls, les épithéliums coelomiques doivent être considérés comme étant à l'origine du mésoderme néoformé.

B) INDEPENDANCE HISTOGENETIQUE DES EPITHELIUMS COELOMIQUES

L'élimination des épithéliums coelomiques des processus morphogénétiques permet de montrer qu'en leur absence aucune structure mésodermique n'est régénérée. Ce résultat implique que seules les cellules provenant de ce tissu sont capables d'édifier des structures ^{mésodermiques} et que les autres tissus non lésés (épiderme et épithélium intestinal en particulier) ne peuvent les suppléer.

D'autre part, le fait que, dans ces conditions, des structures ectoneurales et endodermiques puissent être édifiées, indique que les épithéliums coelomiques n'interviennent pas dans la mise en place de ces structures.

Dans la régénération, les épithéliums coelomiques sont donc indépendants sur le plan histogénétique.

C) ROLE DU MESODERME DANS LA MORPHOGENESE REGENERATRICE

Il a déjà été envisagé dans une courte note (BOILLY, 1967_e).

Deux cas peuvent être distingués suivant le nombre de blastocytes

mésodermiques éliminés des processus morphogénétiques.

1) Elimination d'une partie des blastocytes mésodermiques

L'élimination d'une partie des blastocytes mésodermiques (par irradiation X inférieure à 30 000 r ou par injection intracoelomique de "Thorotrast" dilué) retentit sur la vitesse de segmentation du régénérat caudal mais reste sans effet sur celle d'un régénérat céphalique.

a) Régénération caudale

Dans la régénération caudale, la vitesse de segmentation est d'autant plus faible que la quantité de radiations reçues ou de "Thorotrast" absorbé par les cellules est grande. Dans ce cas, la vitesse de segmentation semble donc dépendre du nombre de cellules mésodermiques disponibles.

Les résultats obtenus par STEPHAN-DUBOIS (1954) permettent de penser que, dans la régénération postérieure des Oligochètes microdriles, un appauvrissement en néoblastes (obtenu par irradiation localisée) retentit de façon analogue sur la vitesse de segmentation.

b) Régénération céphalique

L'indépendance de la vitesse de segmentation céphalique à l'égard d'un appauvrissement en blastocytes mésodermiques suggère que le nombre de ces éléments nécessaire à la segmentation du régénérat est peu important ; ce fait est peut-être en relation avec la faible intensité du pouvoir régénérateur céphalique.

2) Elimination de la totalité des blastocytes mésodermiques

L'élimination de la totalité des blastocytes mésodermiques (par irradiation à 30 000 r ou injection intracoelomique de "Thorotrast" pur) n'empêche pas la mise en place d'un bourgeon de régénération assimilable à une ébauche de pygidium ou de prostomium et dans lequel les cellules d'origine ectodermique évoluent normalement.

Toutefois, ce traitement entraîne généralement des malformations dans la morphogenèse des appendices (lorsqu'ils apparaissent) et inhibe la croissance ainsi que la segmentation du régénérat.

Ces observations montrent que l'ectoderme seul peut assurer l'édification de l'ébauche du premier segment et se différencier en l'absence de

mésoderme ; par contre, la différenciation des appendices prostomiaux ou pygidiaux, de même que la croissance et la métamérisation du régénérat ne peuvent s'effectuer qu'en présence de mésoderme.

Des résultats analogues ont été obtenus chez les embryons de Tubifex par destruction des téloblastes ectodermiques ou mésodermiques à l'aide des rayons ultra-violets (PENNERS, 1937, 1938).

Chez les Annélides, bien que l'ectoderme soit capable d'une certaine autodifférenciation, le rôle directeur dans la genèse de la métamérie reviendrait donc au mésoderme.

IV - CONCLUSION

En résumé, les résultats obtenus chez S. amica par destruction in situ des épithéliums coelomiques à l'aide des rayons X ou du "Thorotrast" montrent que, dans la régénération, ce tissu est à l'origine des blastocytes mésodermiques et qu'il est indépendant sur le plan histogénétique. D'autre part, ils permettent d'affirmer que, en dépit d'une certaine autodifférenciation de l'ectoderme, le mésoderme est indispensable à la différenciation du blastème de régénération.

CHAPITRE IV

NATURE DU TISSU A L'ORIGINE DES CELLULES DE REGENERATION ENDODERMiques CHEZ SYLLIS AMICA.

L'élimination de l'épithélium intestinal des processus morphogénétiques peut être obtenue soit par ablation élective du tube digestif, soit par intoxication de ses cellules à l'aide du "Thorotrast".

D'autre part, l'épithélium intestinal peut être remplacé par un tissu d'origine ectodermique (l'épithélium pharyngien).

Les résultats obtenus par chacune de ces trois techniques seront exposés séparément.

I - ELIMINATION DE L'EPITHELIUM INTESTINAL PAR ABLATION DU TUBE DIGESTIF

A) TERMINOLOGIE - TECHNIQUES OPERATOIRES

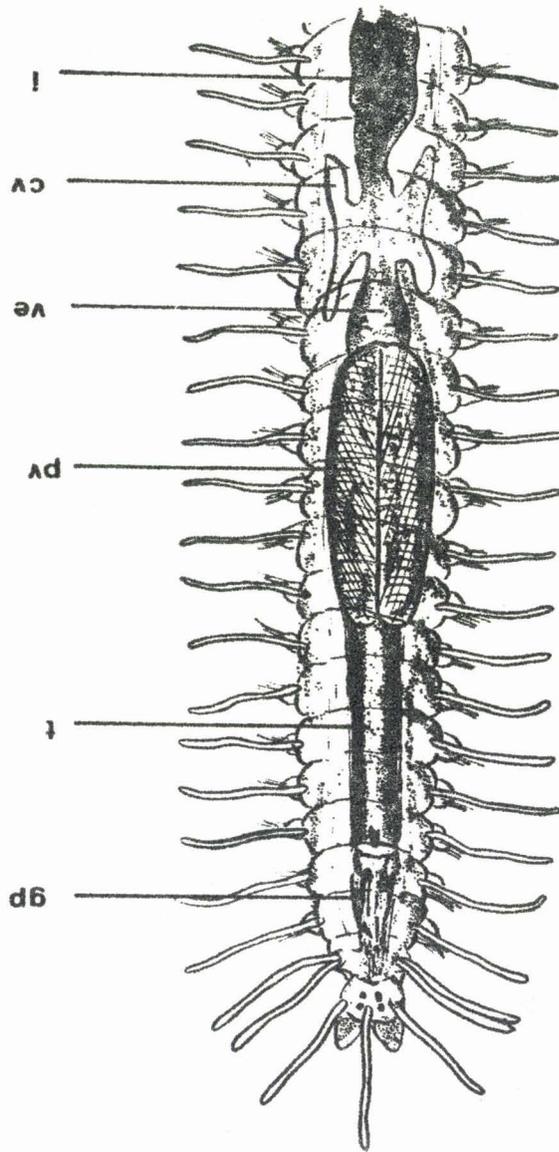
1) Terminologie

Nous rappellerons que la paroi du tube digestif des Annélides Polychètes est constituée par un épithélium monostratifié recouvert par deux couches de fibres musculaires (longitudinales et circulaires), et limitée extérieurement par un feuillet coelomique mince, la splanchnopleure. L'origine embryologique de l'épithélium interne permet de distinguer trois régions dans le tube digestif : une région antérieure (stomodeum) et une région postérieure (proctodeum) formées par invagination de l'ectoderme, une région moyenne (entéron) dérivée de l'endoderme.

Chez les Syllidiens, le stomodeum constitue un pharynx très différencié, comprenant d'avant en arrière les formations suivantes : la gaine pharyngienne, la trompe, le proventricule, le ventricule (fig. 19) ; toutes proviennent de la transformation du pharynx larvaire issu de l'invagination stomodéale (MALAQUIN, 1893 ; PIERANTONI, 1903 ; HERPIN, 1926 ; ALLEN, 1964). L'entéron est représenté par un intestin moniliforme qui prend naissance immédiatement après le ventricule et débouche à l'extérieur par l'anus au niveau d'une très courte



Fig. 19 - Partie antérieure de *Syllis amica* Quatrefoes. cv: caecum
ventriculaire; gp: gaine pharyngienne; i: intestin; pv: proven-
tricule; t: trompe; ve: ventricule.



invagination proctodéale.

2) Techniques opératoires

L'ablation du tube digestif est réalisée soit au niveau de la zone médiane du corps (ablation de l'intestin), soit dans la zone pharyngienne (ablation du pharynx).

a) Ablation de l'intestin

Deux techniques ont été employées.

- Après incision longitudinale de la paroi dorsale du corps, la portion d'intestin sous-jacente est dégagée des dissépiments, isolée par sections transversales aux deux extrémités et prélevée à l'aide de pinces.

- Après section transversale du corps, l'extrémité libre de l'intestin est amenée à l'extérieur, étirée au maximum et sectionnée au niveau de l'extrémité du tronçon.

Dans les deux cas, l'extraction de l'intestin est considérablement gênée par la fragilité des tissus le constituant et la présence des dissépiments auxquels il est solidement attaché ; l'ablation de l'intestin n'a donc pu porter que sur une partie du corps relativement courte (3 à 5 segments dans les cas les plus favorables).

b) Ablation du pharynx

Les difficultés présentées par l'ablation de l'intestin nous ont conduit à opérer dans une zone où le tube digestif est particulièrement facile à enlever : la zone pharyngienne. A ce niveau, le tube digestif (= pharynx) n'est pas maintenu par les dissépiments. D'autre part, le pharynx est un organe dont les tissus, résistants, permettent une ablation totale. L'opération est réalisée suivant la technique de DURCHON (1959). La section est pratiquée au niveau d'un intersegment dans la zone dépourvue de tube digestif, 24 heures après ablation de l'intestin, ou 5 jours après ablation du pharynx.

B) RESULTATS

1) Etude expérimentale

a) Ablation de l'intestin

. Régénération postérieure. Dans tous les cas observés, l'intestin régénère en direction du front de section (Pl. XXI, fig. a). Généralement, le pygidium est édifié avant que le diverticule intestinal régénéré ne soit parvenu dans la zone d'amputation. Il semble cependant que la segmentation du régénérat ne se produise qu'après rétablissement de la continuité du tractus digestif (Pl. XXI, fig. a).

. Régénération antérieure. L'intestin ne régénère pas en direction céphalique ; par contre, le régénérat se différencie normalement.

b) Ablation du pharynx

Avant d'exposer les résultats obtenus, il convient de signaler que S. amica régénère facilement (en direction caudale ou céphalique) à tous les niveaux du corps même dans la zone pharyngienne et que, chez cette espèce, le pharynx excisé n'est pas régénéré.

Par contre, les régénérats édifiés dans la zone pharyngienne en l'absence de pharynx peuvent être incomplets.

. Régénération postérieure. La régénération des tronçons antérieurs dépourvus de tube digestif a été suivie au plus pendant 30 jours après la section. Tous les tronçons édifient un pygidium dans un délai normal (Pl. XXI, fig. b). Toutefois, les régénérats ne se segmentent pas ; dans quelques cas seulement, nous avons observé un début de métamérisation (apparition de la première paire de cirres parapodiaux dorsaux).

Le tube digestif ne réapparaît pas ; son emplacement est généralement occupé par un tissu d'aspect jaunâtre.

La présence d'un petit morceau d'intestin (équivalent à la portion de cet organe contenue dans 2 segments) à proximité du front de section, suffit pour assurer la segmentation du régénérat.

. Régénération antérieure. Un régénérat comprenant le prostomium, le péristomium et quelques segments sétigères est édifié dans un délai normal sans que l'extrémité antérieure du tube digestif intervienne (Pl. XXI, fig. d).

La cavité coelomique, dépourvue de tube digestif, est uniquement occupée par les vaisseaux sanguins dorsal et ventral (Pl. XXI, fig. c) qui, la plupart du temps, se développent considérablement (Pl. XXI, fig. d).

2) Etude histologique.

Seule la régénération après ablation du pharynx a été étudiée.

a) Régénération postérieure

Le comportement de l'épiderme et de l'épithélium coelomique proches de la plaie est identique à celui observé dans la régénération en présence d'un intestin dans les 6/7 premiers jours suivant l'amputation. En particulier, les cellules épidermiques bordant la plaie assurent la cicatrisation et, après activation, édifient un blastème typique pourvu d'une invagination anale généralement aveugle ; la formation du proctodeum semble donc indépendante de la présence du tube digestif.

Les cellules pariétopleurales s'accumulent derrière l'épiderme cicatriciel, s'activent et édifient un massif d'aspect diffus dans lequel aucune organisation n'apparaît. Toutefois, chez les individus ayant présenté un début de métamérisation externe, les cellules mésodermiques se répartissent en amas disposés métamériquement dans la cavité coelomique du régénérat ; il semble que certaines d'entre elles ébauchent des dissépiments, aucune autre différenciation n'a été détectée.

Dans tous les cas, le tube digestif n'est pas restitué. La cavité coelomique n'est occupée que par un tissu inorganisé de nature mésodermique ; cette formation, d'origine pariétopleurale, correspond vraisemblablement au tissu jaune observé sur le vivant.

b) Régénération antérieure

L'histogenèse des régénérats céphaliques est identique à celle observée après section dans la zone médiane du corps.

C) DISCUSSION

Il apparaît donc que si la morphogenèse régénératrice céphalique peut s'effectuer en l'absence du tube digestif, la régénération caudale ne peut dépasser le stade pygidium dans les mêmes conditions. Des résultats semblables

ont déjà **été rapportés** par de nombreux auteurs (Tableau 12) ; dans tous les cas, il semble que le tube digestif soit nécessaire à la croissance et à la segmentation du régénérat caudal.

Cependant, il arrive que l'absence du tube digestif n'empêche pas la croissance du régénérat caudal (Tableau 12) ; des conclusions analogues peuvent d'ailleurs être tirées des observations effectuées par OKADA (1929) et DURCHON (1959) sur la différenciation des deux moitiés de queue lors de la stolonisation de certains Syllidiens (Syllis prolifera et Syllis vittata). Il convient néanmoins de remarquer que, le plus souvent, la segmentation du régénérat se limite à l'édification de quelques métamères. Chez S. amica, il semble aussi que tout processus de segmentation ne soit pas aboli en l'absence du tube digestif ; cependant, dans ce cas, la différenciation du régénérat apparaît rarement et reste toujours discrète.

II - INTOXICATION DE L'EPITHELIUM INTESTINAL PAR LE "THOROTRAST"

A) TECHNIQUES OPERATOIRES

Les Syllis sont placés dans une boîte de Pétri contenant de l'eau de mer et du "Thorotrast" (1 partie de "Thorotrast" pour 75 d'eau de mer) pendant 48 heures. Ils subissent ensuite un séjour de plusieurs heures dans de l'eau de mer normale avant d'être sectionnés au niveau de l'intersegment 50/51. La régénération des tronçons ainsi obtenus est comparée à celle d'individus témoins.

B) RESULTATS

1) Etude expérimentale

Après immersion prolongée dans de l'eau de mer additionnée de "Thorotrast", les Syllis présentent certaines altérations au niveau de l'intestin. Dans la plupart des cas, la paroi de l'intestin apparaît très amincie et claire ; le liquide de la cavité intestinale contient toujours, dans ce cas, de nombreuses particules de tailles diverses en suspension.

Parfois, la paroi de l'intestin se rompt et libère des fragments de tissus dans le coelome ; dans certains cas, ce processus est accentué : on assiste

Tableau 12

Revue bibliographique relative au rôle du tube digestif
dans la régénération chez les Annéllides

Régénération caudale	Régénération céphalique
La régénération caudale ne peut s'effectuer en l'absence du tube digestif	La régénération céphalique ne peut s'effectuer en l'absence du tube digestif
<u>Oligochètes</u> Krecer (1910) <u>Tubifex</u> ; <u>Limnodrilus</u> Crowell (1937) <u>Allolobophora</u>	/
<u>Polychètes</u> Berrill et Nees (1936) <u>Sabella</u> Okada (1938) <u>Autolytus</u> Kiortsis et Moraitou (1965) <u>Spirographis</u>	
La régénération caudale peut s'effectuer en l'absence du tube digestif	La régénération céphalique peut s'effectuer en l'absence du tube digestif
<u>Oligochètes</u> Janda (1929) <u>Criodrilus</u> Kawakami (1961) <u>Eisenia</u>	<u>Oligochètes</u> Morgan (1902) <u>Allolobophora</u> Hunt (1919) <u>Helodrilus</u> ; <u>Eisenia</u> Painter (1940) <u>Allolobophora</u> Avel (1941) <u>Eisenia</u> Kawakami (1961) <u>Eisenia</u>
<u>Polychètes</u> Abelooa (1950) <u>Megalisa</u> Abelooa (1952) <u>Pterosyllis</u> Abelooa (1955) <u>Syllis</u>	<u>Polychètes</u> Okada (1934) <u>Myxicola</u> Kiortsis et Moraitou (1965) <u>Spirographis</u>



alors à une pulvérisation de l'intestin suivie de la mort de l'animal.

Les régénérats édifiés par les individus traités sont morphologiquement identiques à ceux des témoins.

. Régénération postérieure. Le traitement utilisé n'empêche ni ne retarde le déclenchement de la segmentation ; par contre, il ralentit considérablement la vitesse de segmentation (fig. 20). Le pouvoir régénérateur caudal des individus traités est significativement inférieur à celui des témoins (Tableau 13).

. Régénération antérieure. La plupart des individus traités régénèrent normalement en direction céphalique ; les premières manifestations de la segmentation apparaissent dans un délai normal et la vitesse de segmentation du régénérat est pratiquement semblable à celle des témoins (fig. 21). Le nombre de segments régénérés dans les deux cas ne diffère pas de façon significative (Tableau 13).

Quelques individus traités (4 sur 21) n'ont régénéré qu'une ébauche de prostomium.

2) Etude histologique et ultrastructurale

L'étude histologique et ultrastructurale de Syllis ayant séjourné dans une solution de "Thorotrast" montre que les cellules de l'épithélium intestinal absorbent rapidement des quantités importantes de thorium. Cependant, les amas thorotrastiques ne persistent pas longtemps dans les cellules ; on les retrouve, peu après l'absorption, dans la cavité digestive avec de nombreux débris cellulaires. Généralement 24 heures après l'ingestion de "Thorotrast", la plupart des dépôts de thorium ont disparu ; on n'observe pratiquement plus de trace de thorium aussi bien dans la cavité digestive que dans l'épithélium intestinal qui, à ce moment, présente une structure caractéristique. Il est très mince et constitué de cellules cubiques claires ; le volume et le nombre des cellules intestinales a considérablement diminué.

Le plus souvent, l'épithélium intestinal récupère une structure normale ; toutefois, dans quelques cas, il arrive que certaines zones gardent l'aspect observé au cours de la semaine suivant le séjour dans le "Thorotrast", pendant toute la durée des observations (jusqu'à 60 jours après l'ingestion de thorium).

Tableau 13

Influence d'un séjour de *S. amica* dans une solution de "Thorotrast" sur la longueur moyenne
(en métamères) du régénérat en fonction du temps (en jours)

Types d'expériences	Temps	11	17	23	32	46	60
Régénération postérieure	1 - Individus ayant séjourné dans une solution de "Thorotrast"	0 (st. 2) (25)	0,9 ± 0,4 (24)	3,6 ± 0,8 (24)	5,3 ± 1,2 (22)	6,9 ± 1,7 (21)	7,5 ± 2,0 (19)
	2 - Témoins	0 (st. 2*) (9)	2,7 ± 1,3 (9)	7,8 ± 1,6 (8)	10,6 ± 3,1 (6)	14,6 ± 3,0 (5)	17,4 ± 3,9 (5)
	Comparaison entre longueurs des régénérats obtenus en 1 et 2. valeur de "t".	0	(-)	5,38 ^{***}	4,01 ^{***}	4,32 ^{***}	5,15 ^{***}
Régénération antérieure	1 - Individus ayant séjourné dans une solution de "Thorotrast"	0 (st. 2*) (25)	1,0 ± 0,2 (20)	2,4 ± 0,4 (20)	3,3 ± 0,5 (20)	4,1 ± 0,4 (17)	4,2 ± 0,6 (17)
	2 - Témoins	0 (st. 2) (8)	1,3 ± 0,4 (8)	3,4 ± 0,7 (7)	4,0 ± 0,9 (7)	4,2 ± 1,1 (7)	4,2 ± 1,1 (7)
	Comparaison entre longueurs des régénérats obtenus en 1 et 2. valeur de "t".	0	1,0	2,50 ^{**}	1,48	0,22	0,01

Les chiffres placés entre parenthèses sont relatifs au nombre de tronçons observés. Le tiret entre parenthèses (-) indique que le calcul de "t" n'a pas été réalisé en raison de l'existence d'une différence significative entre les variances des deux moyennes comparées ; st. 1 : blastème indifférencié ; st. 2 : cirres anaux différenciés ; astérisque (s) : différence (entre les longueurs des régénérats) significative (** : 95 % ; *** : 99,9 %).



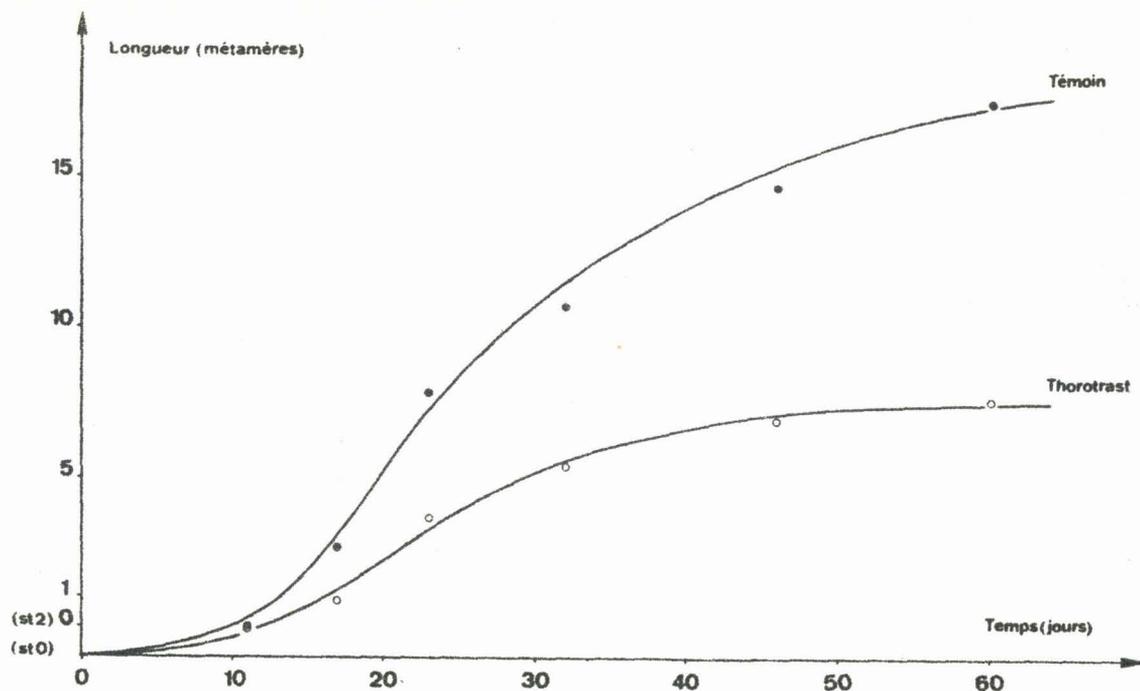


Fig. 20 - Influence d'un séjour de *S. amica* dans une solution de "Thorotrast" sur la croissance du régénérat caudal ; st. 0 : cicatrisation ; st. 2 : cirres pygidiaux différenciés.

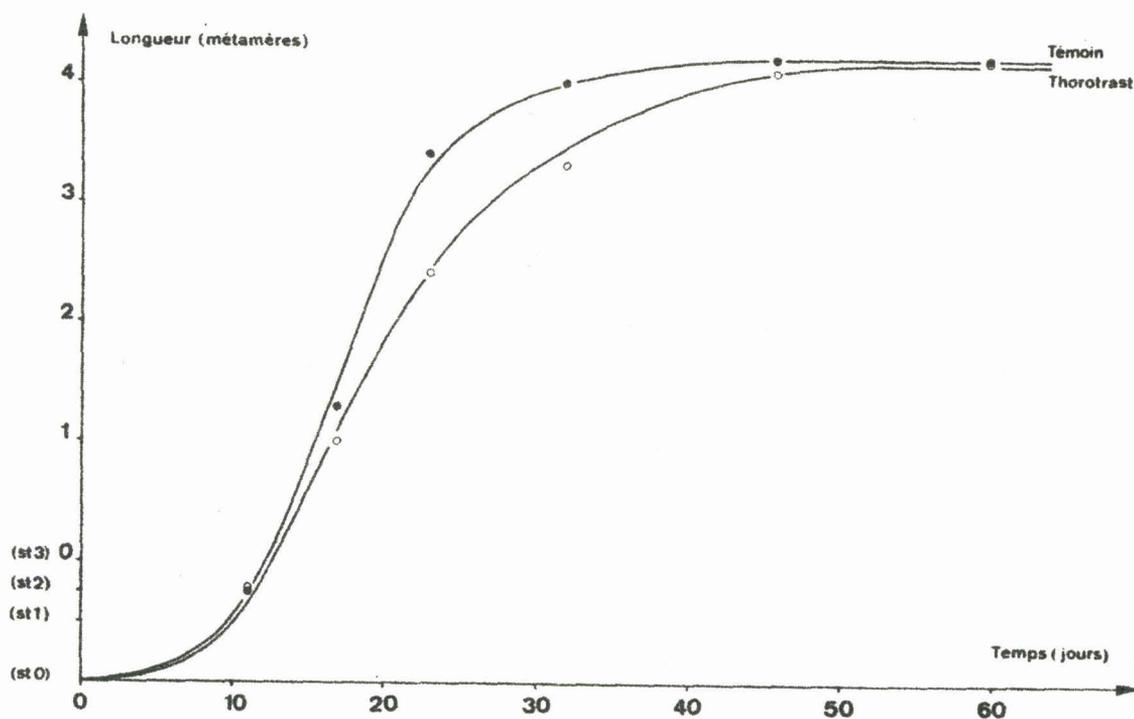


Fig. 21 - Influence d'un séjour de *S. amica* dans une solution de "Thorotrast" sur la croissance du régénérat céphalique ; st. 0 : cicatrisation ; st. 1 : blastème indifférencié ; st. 2 : appendices prostomiaux différenciés ; st. 3 : yeux différenciés.



Les régénérats édifiés par les vers ayant ingéré du "Thorotrast" sont identiques à ceux de vers normaux.

C) DISCUSSION

Le séjour de Syllis dans une solution de "Thorotrast" entraîne une intoxication élective de l'épithélium intestinal qui se traduit par une réduction importante du nombre de ses cellules. Aucun autre tissu n'étant lésé par le thorium, les perturbations enregistrées dans la régénération doivent donc être attribuées aux altérations observées au niveau de l'épithélium intestinal.

L'indépendance de la régénération céphalique à l'égard d'une ingestion de "Thorotrast" permet donc de supposer que le tube digestif ne joue aucun rôle dans la différenciation des régénérats antérieurs. Par contre, la manifestation du pouvoir régénérateur en direction caudale semble liée à l'intégrité de l'épithélium intestinal. Nous pensons que l'appauvrissement de l'intestin en cellules épithéliales d'origine endodermique entraîne un affaiblissement de ses propriétés restauratrices qui retentirait secondairement sur la vitesse de segmentation du régénérat caudal.

III - REMPLACEMENT DE L'EPITHELIUM INTESTINAL PAR L'EPITHELIUM PHARYNGIEN

Le remplacement de l'épithélium intestinal par l'épithélium pharyngien se trouve réalisé lorsque l'amputation du ver est pratiquée dans la zone pharyngienne. Dans ces conditions, une structure d'origine ectomésodermique (le pharynx) se trouve impliquée dans les processus régénérateurs à la place d'un matériel d'origine endomésodermique (l'intestin) et en l'absence complète de tissu endodermique.

A) TECHNIQUES OPERATOIRES

Les vers ont été sectionnés transversalement au niveau de la trompe ou du proventricule ; le tronçon antérieur ainsi isolé comprend de 7 à 18 segments.

Dans certains cas (section dans le proventricule en particulier), il est **indispensable** de réduire la longueur de la portion de pharynx qui sera

isolée dans le tronçon antérieur ; on pratique alors une ablation élective de la moitié ou des trois quarts postérieurs de la trompe ou du proventricule (fig. 22). Cette opération est effectuée généralement deux jours avant la section, suivant la technique de DURCHON (1959) ; elle permet d'éviter l'extrusion du pharynx sectionné et donc d'assurer une cicatrisation rapide, condition indispensable à la survie prolongée du tronçon.

B) RESULTATS

1) Régénération antérieure

La régénération céphalique est possible à tous les niveaux de la zone pharyngienne ; les phénomènes présidant à la mise en place des segments sont identiques à ceux observés après section dans la zone médiane du corps. Toutefois, le comportement du tube digestif est différent. Dans le cas présent, le pharynx sectionné régénère toujours (à l'exception du ventricule - Pl. XXI, fig. d) en direction céphalique. Le tube digestif néoformé est une trompe quand la section passe à travers la trompe ou le proventricule. La trompe provient de la prolifération des tissus de l'extrémité du pharynx. En particulier, l'épithélium pharyngien assure la restitution de l'épithélium interne de la trompe alors que les cellules splanchnopleurales en reconstituent les dérivés mésodermiques (musculature, feuillet coelomique). L'épithélium interne de la gaine pharyngienne provient de l'épiderme ventral de la tête néoformée par invagination stomodéale.

2) Régénération postérieure (BOILLY, 1967_c)

a) Etude expérimentale

. Section au niveau de la trompe (fig. 22a)

L'amputation entraîne la rétraction de la trompe à l'intérieur du tronçon ; elle est suivie de la fermeture de la plaie par contraction des fibres musculaires circulaires du front de section. Quarante huit heures après l'opération, la cicatrisation semble terminée ; un important massif de couleur jaune se constitue entre la trompe et le front de section. Dès le quatrième jour apparaît un petit blastème ; à l'extrémité sectionnée de la trompe se forme un cône orangé dont la pointe est dirigée vers la zone en néoformation. Le blastème s'accroît, et neuf jours en moyenne après la section, les cirres anaux apparaissent ; les segments se différencient ultérieurement (11 segments en moyenne 48 jours après la section). Le cône orangé devient grisâtre, se met

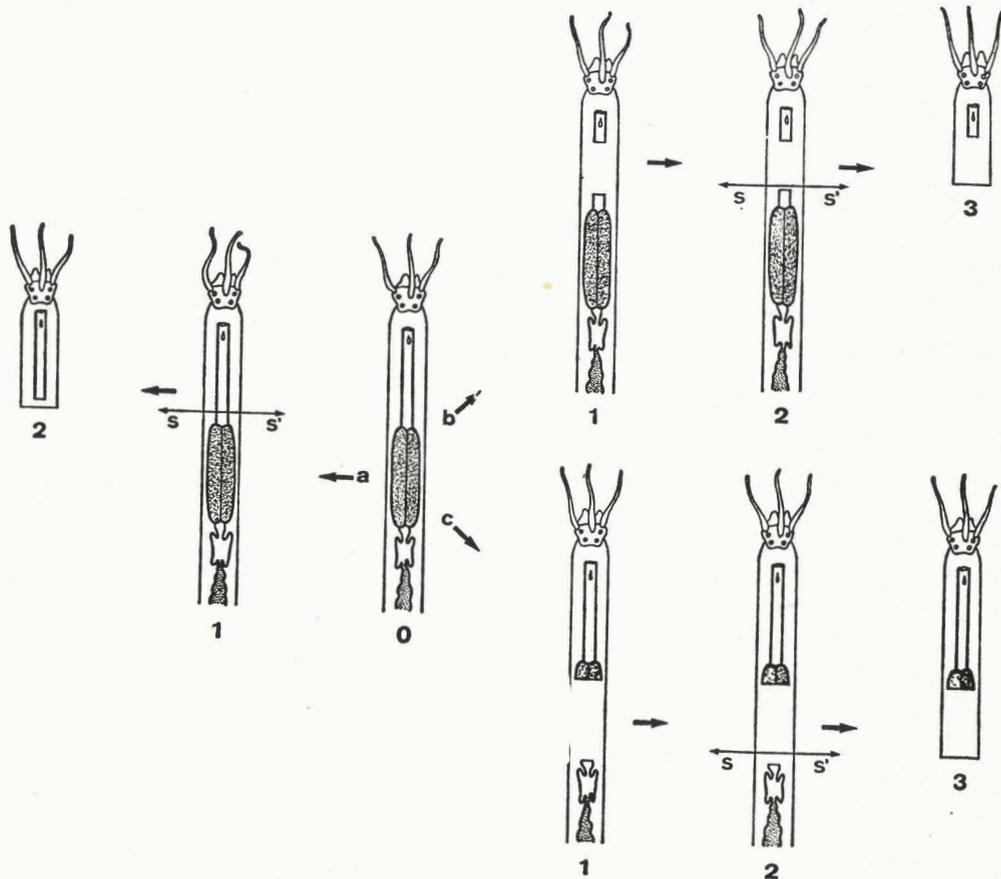


FIG. 22

Schéma représentant les expériences effectuées.

Les lettres (a, b, c) indiquent les trois types d'expériences ; les chiffres (0, 1, 2, 3) désignent les différentes phases opératoires (en 0 : *S. amica* intact).

a : section transversale au niveau de la trompe.

En 1 : section transversale du ver suivant SS ; en 2 : tronçon antérieur isolé.

b : section transversale dans la zone ayant contenu la trompe, après ablation partielle de celle-ci.

En 1 : ablation partielle de la trompe ; en 2 : section transversale suivant SS ; en 3 : tronçon antérieur isolé.

c : section transversale dans la zone proventriculaire, après ablation partielle du proventricule.

En 1 : ablation partielle du proventricule ; en 2 : section transversale suivant SS ; en 3 : tronçon antérieur isolé.



en rapport avec l'extrémité du blastème et s'allonge à mesure que le régénérat s'accroît. Cette formation ressemble à l'intestin (Pl. XXII, fig. a) ; elle représente le tube digestif du régénérat.

. Section dans la zone de la trompe ou du proventricule après réduction de la longueur du fragment de pharynx destiné à être isolé dans le tronçon antérieur (fig. 22, b, c). Dans ces conditions, le massif jaune n'apparaît pas aussi nettement et le nombre de segments néoformés est beaucoup plus faible que dans le cas précédent (4 segments en moyenne 45 jours après la section). L'ébauche du tube digestif prend naissance à l'extrémité postérieure du pharynx sectionné et s'allonge en direction du blastème ; vers le quinzième jour environ suivant l'amputation, elle atteint le front de section après avoir traversé la zone dépourvue de pharynx (sur une longueur allant jusqu'à 8 segments anciens) et pénètre dans le régénérat (Pl. XXII, fig. b). Le tube digestif néoformé est identique à celui observé dans l'expérience précédente.

Dans les deux cas, les régénérats sont semblables à ceux édifiés dans la zone post-pharyngienne.

b) Etude histologique (section au niveau de la trompe)

. 24 heures après la section. Les cellules épidermiques proches des bords de la plaie s'étirent et tendent à recouvrir les masses musculaires qui obstruent la cavité coelomique. L'épithélium interne de la trompe s'est légèrement rétracté sur l'épaisse cuticule qu'il recouvre.

. 48 heures après la section. Les cellules épidermiques obturent complètement l'extrémité du tronçon ; la cicatrisation est terminée ; les noyaux de l'épiderme cicatriciel augmentent de volume, le nucléole grossit, une zone périnucléolaire claire s'ébauche ; d'autre part, le cytoplasme manifeste une légère basophilie. Les cellules de l'épithélium interne de la trompe, proches de la section glissent sur la cuticule sous-jacente et assurent l'obturation de la trompe (Pl. XXII, fig. c) ; elles se reconnaissent facilement à la présence de nombreux granules pigmentaires dans leur cytoplasme ; leurs noyaux commencent à présenter des signes d'activation analogues à ceux de l'épiderme cicatriciel. L'espace compris entre l'extrémité de la trompe (rétractée à l'intérieur du dernier segment) et le front de section est occupé par un important amas cellulaire, d'origine mésodermique ; il correspond très probablement à la

formation jaune observée sur le vivant. L'examen de coupes longitudinales axiales montre que ce massif est toujours en relation avec le feuillet coelomique péri-pharyngien ; les cellules splanchnopleurales semblent "s'écouler" à partir de l'extrémité de la trompe sectionnée, elles sont fusiformes et orientées dans le sens du "courant" qui les entraîne vers le front de section. Le massif mésodermique est constitué aussi par un certain nombre de cellules provenant du feuillet coelomique pariétal de l'extrémité du dernier segment et, le cas échéant, du dernier dissépinement lorsqu'il est situé à proximité immédiate de la section (Pl. XXIII, fig. c et d).

. 4 jours après la section. Les cellules de l'épiderme cicatriciel, très activées, sont le siège de nombreuses mitoses. L'épithélium de la trompe s'évagine en direction de l'ébauche de blastème jusqu'à toucher l'épiderme cicatriciel, légèrement invaginé à ce niveau ; les cellules de l'évagination sont très activées et présentent toujours des granulations pigmentaires dans leur cytoplasme ; en outre, elles semblent différencier vers l'intérieur un réseau de membranes et s'organisent en un tissu d'aspect lacuneux (Pl. XXII, fig. d). Cette formation correspond sans doute au cône orangé observé in vivo et représenterait donc l'ébauche du tube digestif. Les cellules mésodermiques occupent l'extrémité du tronçon et sont réparties autour de l'évagination pharyngienne ; à proximité de la chaîne nerveuse elles prennent un aspect "néoplastique".

. 9 jours après la section. Le pygidium est différencié et l'anus percé. L'évagination pharyngienne s'est transformée en un tube dont la paroi est constituée par des cellules claires à petit noyau et cytoplasme lacuneux qui ressemblent beaucoup à celles de l'épithélium intestinal et se distinguent nettement des cellules de l'épithélium pharyngien auxquelles elles sont accolées (Pl. XXIII, fig. a et b) ; elle est bordée extérieurement par une basale sur laquelle sont plaquées les cellules mésodermiques qui différencieront la musculature et la splanchnopleure du tube digestif néoformé.

La cuticule de la trompe s'est amincie et présente une surface irrégulière (Pl. XXIII, fig. b) ; ces altérations sont d'autant plus importantes qu'elles concernent une zone plus proche du tube digestif néoformé.

c) Etude ultrastructurale du tube digestif néoformé

Le tube digestif néoformé présente une ultrastructure identique à celle de l'intestin. Quatre couches cellulaires constituent sa paroi : la splanchnopleure, les deux couches de fibres musculaires circulaires et longitudinales, l'épithélium interne. Ce dernier est formé d'une assise de cellules cylindriques disposées radialement ; totalement dépourvu de cuticule, il est cilié et hérissé de très nombreuses microvillosités (Pl. XXIV, fig. a). Deux types cellulaires s'y distinguent :

- des cellules glandulaires dont le cytoplasme contient de nombreuses vacuoles de sécrétion de grande taille ;

- des cellules caractérisées essentiellement par la présence d'inclusions cytoplasmiques de nature lipidique et de nombreuses sphérules denses. Les sphérules, généralement incluses dans une vacuole, sont constituées par une substance granuleuse répartie en couches concentriques de densité électronique variable (Pl. XXIV, fig. b) ; elles sont analogues aux chloragosomes d'Eisenia foetida S. (VAN GANSEN, 1963) et aux concrétions décrites dans l'organe excréteur d'Helix pomatia (BOUILLON, 1960 ; BOUILLON et VANDERMEERSCHE, 1962), les vésicules rénales d'Asciidiella aspersa (NØRREVANG, 1966) et les caecums digestifs de Sphaeroma serratum (DONADEY, 1966). Des inclusions semblables (urosphérules) ont été également décrites dans les tubes de Malpighi des Insectes (BERKALOFF, 1960) des Myriapodes (FULLER, 1966), et dans l'intestin des Péripatés (LAVALLARD, 1967). Chez S. amica, nous avons aussi observé des sphérules à zonation concentrique dans l'intestin endodermique et la cavité intestinale ; ces formations correspondent très probablement aux "concrétions urinaires" décrites par MALAQUIN (1893). Le cytoplasme de ces cellules contient un ergastoplasme vésiculeux très développé, un grand nombre de vésicules d'origine golgienne, des corps multi-vésiculaires et de nombreuses mitochondries groupées présentant des crêtes réduites.

Les éléments caractéristiques de l'épithélium pharyngien (tonofibrilles, granules pigmentaires) sont absents.

C) DISCUSSION

Les observations relatives à la morphogenèse du régénérat caudal dans la zone pharyngienne de S. amica nous amènent à poser le problème de la nature du tube digestif néoformé et celui des compétences histogénétiques de l'épithélium pharyngien.

1) Nature du tube digestif néoformé

Bien qu'il ait été engendré par la trompe, le tube digestif néoformé n'en possède pas les caractères spécifiques et très vraisemblablement ne pourrait en assumer les fonctions ; il est notamment dépourvu de cuticule et sa musculature est peu développée ; d'autre part, l'épithélium digestif néoformé ne contient ni les tonofibrilles, ni les granules pigmentaires caractéristiques de l'épithélium pharyngien.

Par contre, toutes les observations concernant la structure et l'ultrastructure du tube digestif néoformé mettent en évidence sa ressemblance avec l'intestin. En outre, un certain nombre d'indices révélés par le microscope électronique, notamment la présence de cellules glandulaires, d'une bordure en brosse et d'excrétats intracellulaires analogues à ceux de l'intestin nous permettent de penser qu'il lui est sans doute physiologiquement identique ; dans cette hypothèse, les altérations observées au niveau de la cuticule de la trompe à proximité du régénérat pourraient représenter une forme de digestion provoquée par les enzymes de l'épithélium digestif néoformé. Néanmoins, l'étude autoradiographique de vers nourris avec des aliments marqués s'avère nécessaire pour déterminer avec certitude le rôle de cet épithélium dans la digestion.

2) Considérations sur les compétences histogénétiques de l'épithélium pharyngien

L'étude histologique de la formation du régénérat caudal montre qu'un tissu d'origine ectodermique (l'épithélium pharyngien) est capable de suppléer l'épithélium intestinal et d'assurer à lui seul la régénération d'un tissu morphologiquement analogue à l'épithélium digestif de l'intestin endodermique. Bien que l'identité physiologique de ces deux formations d'origine différente ne soit pas encore établie de façon irréfutable, nos résultats nous autorisent à affirmer que les potentialités histogénétiques de l'ectoderme ne se limitent pas à la reconstitution des structures ectoneurales du régénérat ;

le comportement de l'épithélium pharyngien constitue donc une exception à la spécificité des feuilletts engagés dans la régénération chez cette Annélide.

Jusqu'à présent, la néoformation d'un tube digestif en l'absence d'endoderme a été observée uniquement chez un Hésionide (Magalia perarmata MARION et BOBR.) dans "un fragment de 6 sétigères contenant seulement la trompe sans intestin" (ABELOOS, 1950_a) ; cependant l'étude histologique n'a jamais été entreprise ; d'autre part, la nature (trompe ou intestin) ainsi que l'origine du tube digestif néoformé n'ont pas été précisées par l'auteur.

Chez S. amica, la régénération d'un "intestin" ectodermique est possible à tous les niveaux du pharynx pourvu que les conditions expérimentales permettent la cicatrisation de la plaie (le raccourcissement de la portion de pharynx destinée à être isolée dans le tronçon antérieur s'avère nécessaire dans certains cas) et une survie prolongée du tronçon antérieur. Dans tous les cas, l'épithélium pharyngien est seul responsable de l'édification de l'épithélium digestif ; son comportement est d'ailleurs identique à celui de l'intestin : aussitôt après la section, les cellules épithéliales de l'extrémité du pharynx sectionné, tout comme celles de l'épithélium intestinal endodermique, assurent l'obturation du tube digestif et constituent un diverticule aveugle qui s'allonge en direction du front de section et se soude à l'épiderme cicatriciel au niveau d'une courte invagination proctodéale.

La différenciation des cellules de l'épithélium pharyngien en cellules digestives est précoce et ne semble pas induite par la jonction de l'évagination pharyngienne avec l'épiderme cicatriciel, la transformation s'effectuant généralement avant. Par contre, elle ne s'observe qu'en direction caudale ; en effet, que ce soit après ablation partielle ou totale de la trompe ou du proventricule (DURCHON, 1959 ; DELYE, 1962), ou après section transversale du ver dans la zone pharyngienne, l'extrémité antérieure du pharynx sectionné ne différencie jamais un intestin mais restitue toujours une trompe ; il en est de même pour une extrémité postérieure (DELYE, 1962) après retournement complet. Les compétences histogénétiques de l'épithélium pharyngien semblent donc uniquement déterminées par la direction de la régénération.

IV - DISCUSSION GENERALE

Nous discuterons successivement :

- de la nature du tissu à l'origine des cellules de régénération endodermiques
- du degré d'indépendance histogénétique de l'épithélium intestinal
- du rôle du tube digestif dans la morphogenèse régénératrice

A) NATURE DU TISSU A L'ORIGINE DES CELLULES DE REGENERATION ENDODERMIQUES

L'absence de régénération de l'épithélium intestinal après section dans une zone post-pharyngienne dépourvue d'intestin laisse **supposer** que ce tissu assure sa reconstitution dans les conditions normales. D'autre part, le fait que l'épithélium intestinal maintienne son activité régénératrice après destruction des épithéliums coelomiques par les rayons X ou le "Thorotrast", nous permet d'affirmer qu'il est très vraisemblablement le seul tissu responsable de sa régénération après amputation.

Cependant, dans certaines conditions (section dans la zone pharyngienne) un autre tissu (l'épithélium pharyngien) peut **assurer** la régénération de l'épithélium intestinal.

B) INDEPENDANCE HISTOGENETIQUE DE L'EPITHELIUM INTESTINAL

Les résultats relatifs à la régénération céphalique et caudale en l'absence d'intestin montrent que l'épithélium intestinal n'intervient pas sur le plan histogénétique dans la régénération des formations ectoneurales et mésodermiques, étant donné que celles-ci peuvent être édifiées en son absence. D'autre part, dans ces conditions, l'épithélium intestinal ne peut être restitué ni par l'épiderme, ni par les épithéliums coelomiques.

Toutefois, lorsque la section passe dans la zone pharyngienne, un tissu d'origine ectodermique (l'épithélium pharyngien) est capable de remplacer l'épithélium intestinal dans ses fonctions histogénétiques. Ce cas constitue une exception à l'indépendance histogénétique des tissus à l'origine des cellules régénératrices observée jusqu'à présent ; contrairement à ce que nous avons constaté pour les épithéliums coelomiques, l'épithélium intestinal n'est donc pas

complètement indépendant sur le plan histogénétique.

C) ROLE DU TUBE DIGESTIF DANS LA REGENERATION

Chez S. amica, le tube digestif n'intervient pas dans l'édification du premier segment (prostomium ou pygidium) ni dans les mécanismes déterminant la polarité des régénérats.

D'autre part, nos observations histologiques et expérimentales montrent que la régénération céphalique peut survenir en l'absence du tube digestif dont le rôle n'apparaît que dans la segmentation des régénérats caudaux.

Les résultats obtenus par intoxication de l'épithélium intestinal par le "Thorotrast" suggèrent d'ailleurs que parmi les différents composants du tube digestif (splanchnopleure, système nerveux viscéral, épithélium interne) pouvant rendre compte de l'action de cette structure sur la morphogénèse caudale, **seul** l'épithélium interne doit être retenu.

Toutefois, bien que la présence du tube digestif ne constitue pas une nécessité absolue dans certains cas, il apparaît le plus souvent comme étant un élément nécessaire à une segmentation normale du régénérat en direction caudale. Il semble donc que le tube digestif n'intervient pas en qualité d'inducteur ; un rôle purement mécanique serait plus vraisemblable.

V - CONCLUSION

En résumé, les résultats obtenus après ablation de l'intestin ou intoxication de l'épithélium intestinal par le "Thorotrast" montrent que l'épithélium **intestinal est à** l'origine des cellules de régénération endodermiques ; ce tissu peut toutefois être suppléé par l'épithélium pharyngien dans la zone pharyngienne. Le tube digestif ne joue aucun rôle dans la régénération céphalique, mais semble indispensable dans la segmentation des régénérats caudaux.

XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX

CONCLUSION GENERALE DE LA DEUXIEME PARTIE

En résumé, l'étude expérimentale de la nature des tissus à l'origine des cellules de régénération dans la zone post-pharyngienne confirme les interprétations de nos observations histologiques et ultrastructurales : l'épiderme, les épithéliums coelomiques, l'épithélium intestinal sont respectivement à l'origine des structures ectoneurales, mésodermiques et endodermiques du régénérat. Il existe donc trois types de cellules régénératrices : ectodermiques, mésodermiques, endodermiques (fig. 23).

D'autre part, les résultats obtenus montrent qu'un tissu à l'origine d'un type de cellules régénératrices est incapable d'engendrer les formations spécifiques de l'activité des autres types de cellules régénératrices ; par contre, le plus souvent, sa présence est indispensable dans la différenciation de ces formations (cas de l'épithélium intestinal dans la régénération caudale, cas des épithéliums coelomiques).

Dans la zone post-pharyngienne de S. amica les tissus à l'origine des cellules régénératrices sont donc indépendants sur le plan histogénétique ; toutefois il existe entre ces tissus une certaine interdépendance morphogénétique se manifestant dans l'utilisation des cellules régénératrices et, plus précisément, lors de la différenciation du régénérat.

Une seule exception à la règle de l'indépendance histogénétique des tissus impliqués dans la régénération a été observée : l'épithélium intestinal peut, dans certaines conditions (régénération caudale dans la zone pharyngienne) être suppléé par l'épithélium pharyngien (fig. 23).

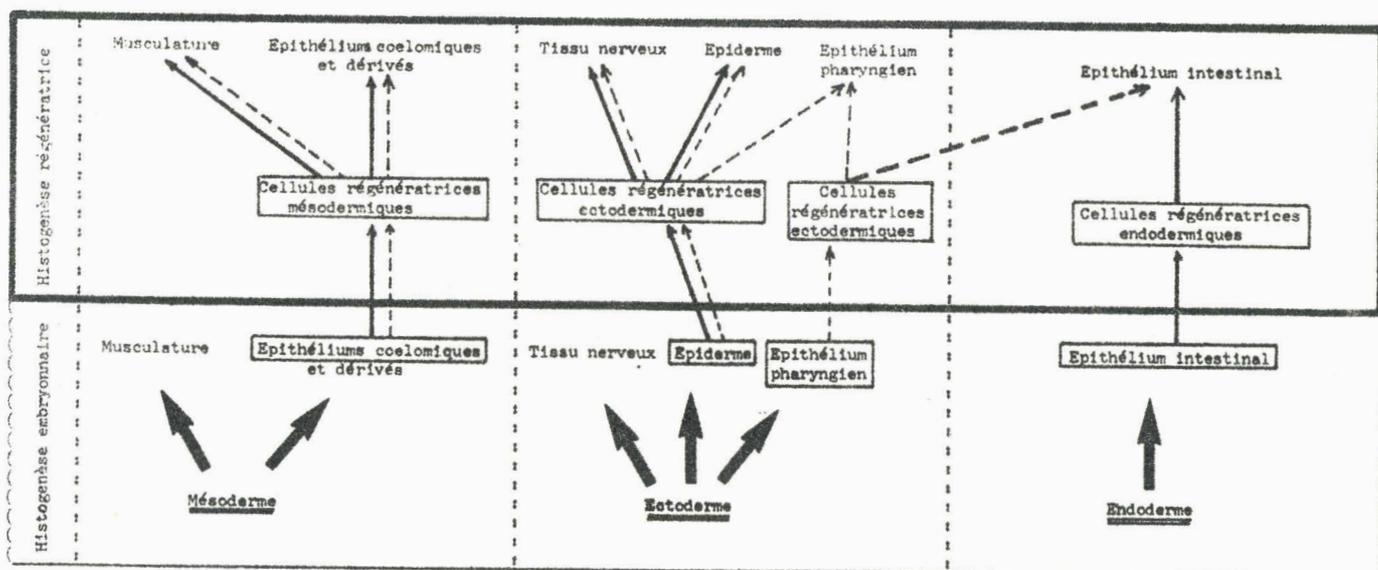


Fig. 23 - Schéma relatif aux filiations existant entre les tissus anciens et les tissus néoformés au cours de l'histogenèse régénératrice de *S. amica* (moitié supérieure du schéma), soit dans la zone post-pharyngienne (flèches en trait continu), soit dans la zone pharyngienne (flèches en trait discontinu). L'histogenèse embryonnaire est rappelée (moitié inférieure du schéma).

DUS
1955

TROISIEME PARTIE

ETUDE EXPERIMENTALE DE LA LOCALISATION DES TISSUS
A L'ORIGINE DES CELLULES DE REGENERATION CHEZ Syllis amica

Les résultats de l'étude histologique et ultrastructurale de la régénération chez S.amica montrent que seuls les tissus anciens situés à proximité immédiate de la plaie assurent la régénération des structures amputées; il y aurait donc, chez cette Annélide, absence de migration intersegmentaire de cellules régénératrices.

D'autre part, nos résultats suggèrent que, parmi les cellules de régénération, seules celles provenant des épithéliums coelomiques seraient susceptibles de présenter un phénomène de migration. En effet, les cellules régénératrices issues de l'épiderme sont **sur place**. D'autre part, celles provenant de l'épithélium pharyngien ou de l'épithélium intestinal ne parviennent jusqu'au **niveau de** section que sous la forme d'un tissu organisé et non sous celle de cellules libres, même si, au départ, les épithéliums dont elles dérivent sont éloignés du plan d'amputation; en outre, ces cellules ne participent à la régénération de leurs structures qu'au sein des tissus dont elles proviennent, sans jamais s'en échapper. Par contre, les tissus à l'origine des blastocytes mésodermiques sont les seuls à ne pas conserver leur intégrité lors de la mise en place du blastème; en conséquence, un déplacement cellulaire plus ou moins important analogue à celui décrit chez les Oligochètes peut être envisagé pour cette catégorie de cellules régénératrices.

Nous nous proposons donc d'apprécier, par la méthode expérimentale, l'importance du déplacement des blastocytes mésodermiques au cours de la régénération.

IMPORTANCE DU DEPLACEMENT DES BLASTOCYTES MESODERMIQUES
AU COURS DE LA REGENERATION CHEZ SYLLIS AMICA

Deux méthodes nous ont permis d'aborder ce problème :

1) la destruction localisée du tissu à l'origine des blastocytes mésodermiques, soit suivant la technique d'irradiation régionale (WOLFF et DUBOIS, 1947), soit à l'aide du "Thorotrast";

2) la résection répétée du segment précédant la section suivant la technique de STEPHAN-DUBOIS (1954), ou du blastème.

Nous exposerons successivement les résultats obtenus avec chacune de ces méthodes.

I - DESTRUCTION LOCALISEE DU TISSU A L'ORIGINE DES BLASTOCYTES MESODERMIQUES.

A) UTILISATION DES RAYONS X.

1) Techniques opératoires. La section est effectuée 48 heures avant ou immédiatement après l'irradiation au niveau de l'inter-segment 50/51. L'irradiation est pratiquée comme précédemment soit sur l'animal entier (irradiation totale), soit sur certaines parties de celui-ci (irradiation régionale). La dose utilisée est de 30.000 r (irradiation 48 heures après la section) ou de 35 000 r (irradiation immédiatement après la section - nous avons vu dans le chapitre III que cette dose était nécessaire pour bloquer la régénération céphalique dans ces conditions).

Dans le cas des irradiations régionales, soit le dernier segment, soit l'ensemble du tronçon à l'exception du dernier segment est exposé aux rayons X; la protection de la zone non irradiée est assurée par une feuille de plomb de 2 mm d'épaisseur placée au-dessus de la région à protéger; la mise en place de l'écran protecteur est effectuée sous contrôle microscopique (la précision obtenue est de l'ordre de 1/2 à 1 segment).

Cinq lots de tronçons (antérieurs et postérieurs) ont été constitués (fig.24) :

- 1 - tronçons antérieurs et postérieurs placés complètement sous l'écran protecteur;
- 2 - tronçons exposés en totalité aux rayons X;
- 3 - tronçons dont seul le segment contigu à la section est irradié;
- 4 - tronçons dont seul le segment contigu à la section est placé sous l'écran protecteur;
- 5 - individus non sectionnés dont les $3/4$ postérieurs ou le $1/4$ antérieur du corps sont irradiés ; la section est pratiquée immédiatement après l'irradiation de telle sorte que, dans l'un des tronçons obtenus, seul le segment contigu à la section ait été irradié.

La position des tronçons par rapport à l'écran protecteur est contrôlée régulièrement au cours de l'expérience. Les tronçons ne se déplacent pas au cours de l'irradiation; cependant, des incidents d'ordre technique tels qu'un excès de liquide anesthésique peuvent entraîner une modification dans la position des tronçons par rapport à l'écran. Le plus souvent, les contrôles effectués au cours de l'irradiation permettent de détecter ces déplacements. Dans certains cas (irradiation de l'ensemble du tronçon à l'exception du dernier segment et irradiation de vers entiers), il est nécessaire de placer des repères sur le corps de l'animal (le repérage est réalisé par ablation locale de cirres parapodiaux dorsaux).

2) Résultats. Les résultats obtenus, dont certains ont déjà fait l'objet de deux notes (Boilly 1962 a, 1965 a), sont consignés dans le tableau 14. On constate que :

- le dispositif de protection utilisé est efficace;
- la dose de rayons X employée est suffisante pour bloquer la segmentation; les cas de segmentation observés après irradiation totale sont peu nombreux (4 sur 37 dans le cas d'une irradiation effectuée 48 heures après la section; 2 sur 26 après irradiation précédant la section); de plus les segments néoformés apparaissent tardivement et en faible nombre;
- l'irradiation du segment contigu à la section suffit le plus souvent à bloquer la segmentation, que la dose de rayons X soit délivrée avant, ou après la section. Parmi les cas de segmentation

Tableau 14

Régénération de *S. amica* après irradiations X totales ou régionales
(30 000 r/35 000 r) 70 jours après la section

Types d'expériences	Types de régénération	Nombre de tronçons observés	Nombre de tronçons présentant une régénération normale	Nombre de tronçons dont la segmenta- tion du régénérat est partiellement inhibée	Nombre de tronçons dont la segmenta- tion du régénérat est totalement inhibée	Pourcentage de tronçons dont la segmenta- tion du régénérat est tota- lement inhibée	
Protection totale (1)	Régénération postérieure	14	14	0	0	0	
	Régénération antérieure	16	16	0	0	0	
Irradiation totale (2)	Régénération postérieure	17	0	1	16	94	
	Régénération antérieure	20	0	3	17	85	
Irradiation du seul segment contigu au front de section (3)	Régénération postérieure	23	0	7	16	69	
	Régénération antérieure	26	0	8	18	69	
Irradiation de l'ensemble du tronçon à l'exception du segment contigu à la section (4)	Régénération postérieure	23	23	0	0	0	
	Régénération antérieure	24	24	0	0	0	
Irradiation avant la section (5)	Tronçons dont le segment contigu à la section est irradié	Régénération postérieure	15	0	3	12	80
		Régénération antérieure	16	0	2	14	87
	Tronçons irradiés en totalité	Régénération postérieure	12	0	0	12	100
		Régénération antérieure	14	0	2	12	85

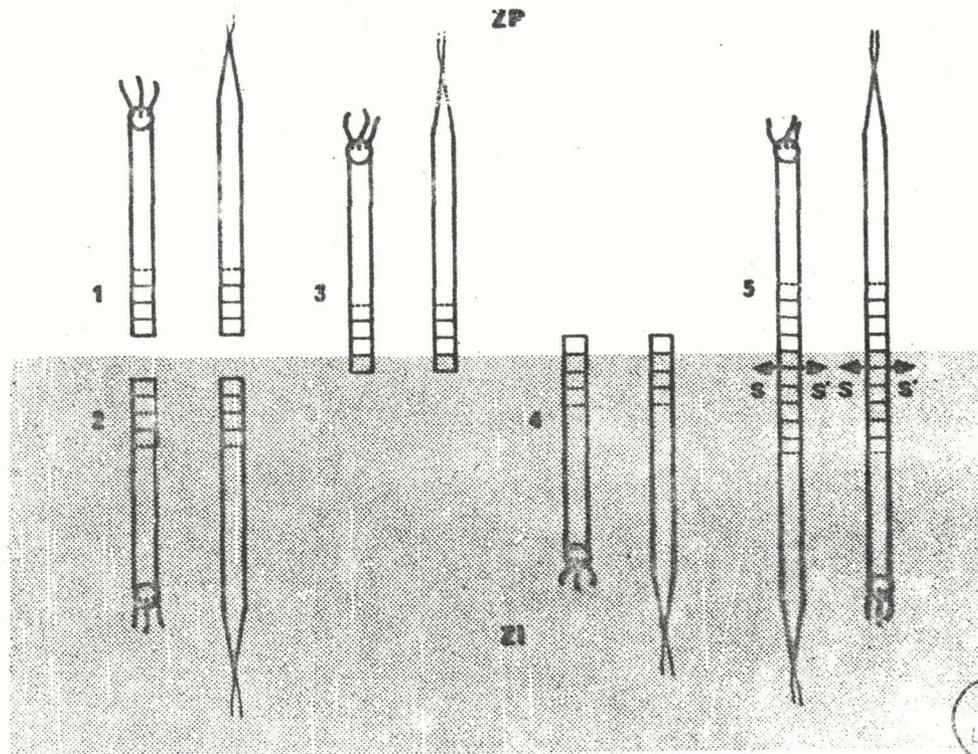


Fig. 24 - Schéma des expériences d'irradiation (1, 2, 3, 4, 5) chez *S. amica*. ZI : zone irradiée; ZP : zone protégée; SS : niveau de section.

partiellement inhibée, il existe un certain nombre de vers dont la régénération est nettement plus importante et plus précoce que celle observée chez les tronçons irradiés totalement et ayant présenté un début de segmentation. Il s'agit vraisemblablement d'individus qui n'auraient pas reçu la totalité de la dose délivrée par suite de déplacements sous l'écran de plomb au cours de l'irradiation;

- l'irradiation de tout le tronçon à l'exception du segment contigu à la section ne perturbe en aucune manière la régénération.

3) Discussion et conclusion.

Les résultats obtenus par irradiations X régionales montrent que seule l'intégrité tissulaire du segment contigu à la section conditionne la régénération, les autres segments n'intervenant pas.

Etant donné l'action spécifique des rayons X sur les blastocytes mésodermiques, nos résultats plaident en faveur d'une absence de migration intersegmentaire de ces éléments, même précoce (dans les 48 heures suivant la section). D'autre part, ils montrent que la destruction des blastocytes mésodermiques du segment lésé n'entraîne pas de migration compensatrice de cellules de régénération issues de segments voisins.

B) UTILISATION DU "THOROTRAST"

1) Techniques opératoires.

Etant donné l'irrégularité des résultats obtenus par injection de "Thorotrast" pur et, en particulier, la difficulté d'obtenir une inhibition systématique de la segmentation par cette technique, nous avons procédé à une destruction partielle du contingent de blastocytes mésodermiques par injection de "Thorotrast" dilué à 50 % dans l'eau de mer.

L'injection est pratiquée dans une zone comprise dans le tiers antérieur de Syllis entiers. La zone injectée (comprenant de 6 à 7 segments) est soigneusement repérée aussitôt après l'injection par ablation des cirres parapodiaux dorsaux . L'expérience montre que la solution injectée ne pénètre pas dans les métamères adjacents à la zone traitée, alors qu'il existe une **surpression** dans celle-ci; ces observations permettent de penser que les dissépiments de S.amica constituent des cloisons étanches entre chaque segment.

Le processus expérimental employé est identique à celui utilisé avec les rayons X. Cependant, il nous a semblé inopportun d'étudier comme précédemment la régénération de tronçons dont seules les cellules de régénération mésodermiques du segment contigu à la section sont détruites; en effet, étant donné que le "Thorotrast" présent dans ce segment ne peut être éliminé, on peut supposer que des cellules arrivant dans la zone intoxiquée puissent aussi être détruites: dans ce cas, l'inhibition de la régénération n'indiquerait pas forcément une absence de migration!

D'autre part, l'inefficacité d'une injection de "Thorotrast" dilué sur la régénération céphalique nous a conduit à n'étudier que la régénération caudale.

Nous ne rapporterons donc que les résultats d'expériences dans lesquelles, les 7-8 segments de l'extrémité blessée de tronçons antérieurs sont intoxiqués à l'exception de celui contigu au front de section (tronçon 1 a de la fig.25).

Les témoins sont constitués par :

- les tronçons^{antérieurs} provenant de Syllis sectionnés devant le segment précédant la zone injectée (tronçon 2 a de la fig.25);
- les tronçons antérieurs provenant de Syllis sectionnés au milieu de la zone injectée (tronçon 3 a de la fig.25).

Dans tous les cas, la section est pratiquée 4 jours après l'injection.

2) Résultats.

Les résultats obtenus sont groupés dans le tableau 15. Ils montrent que l'intoxication des 6-7 avant derniers segments ne modifie pas la régénération des tronçons considérés (1 a), alors que la quantité de "Thorotrast" injectée est suffisante pour provoquer un affaiblissement significatif du pouvoir régénérateur des tronçons dont les derniers segments sont intoxiqués (3 a).

3) Conclusion.

Nos résultats confirment ceux obtenus au moyen des irradiations régionales. Ils démontrent en particulier que l'intégrité des épithéliums coelomiques du seul segment contigu au front de section suffit ^{pour} assurer une régénération normale.

Tableau 15

Influence d'une injection intra-coslonique localisée de "Thorotrast" chez *S. amica* sur la longueur moyenne (en métamères) du régénérat caudal en fonction du temps (en jours)

Type d'expériences	Temps	11	17	23	32	46	60
1 - Section transversale un segment en arrière de la zone contenant du "Thorotrast" (1a)	0 (st. 2 ⁺)	3,0 ± 0,6 (8)	8,1 ± 1,9 (7)	12,4 ± 3,0 (7)	16,4 ± 6,7 (5)	18,6 ± 7,8 (5)	
2 - Section transversale un segment en avant de la zone contenant du "Thorotrast" (2a)	0 (st. 2 ⁺)	2,7 ± 1,3 (9)	7,8 ± 1,6 (8)	10,6 ± 3,1 (6)	14,6 ± 3,0 (5)	17,4 ± 3,9 (5)	
3 - Section transversale dans la zone contenant du "Thorotrast" (3a)	0 (st. 2 ⁺)	2,4 ± 1,0 (7)	3,2 ± 1,0 (7)	4,7 ± 1,3 (7)	7,1 ± 3,2 (7)	8,8 ± 4,8 (7)	
Comparaison entre les longueurs des régénérats obtenus en 1 et 3: valeur de "t".	0	1,25	5,44 ^{***}	5,62 ^{***}	3,64 ^{***}	2,96 ^{**}	

Les chiffres placés entre parenthèses sont relatifs au nombre de tronçons observés ; st. 2 : cirres anaux différenciés ; astérisque (s) : différence (entre les longueurs des régénérats) significative (* : 95 % ; ** : 99 % ; *** : 99,9 %).

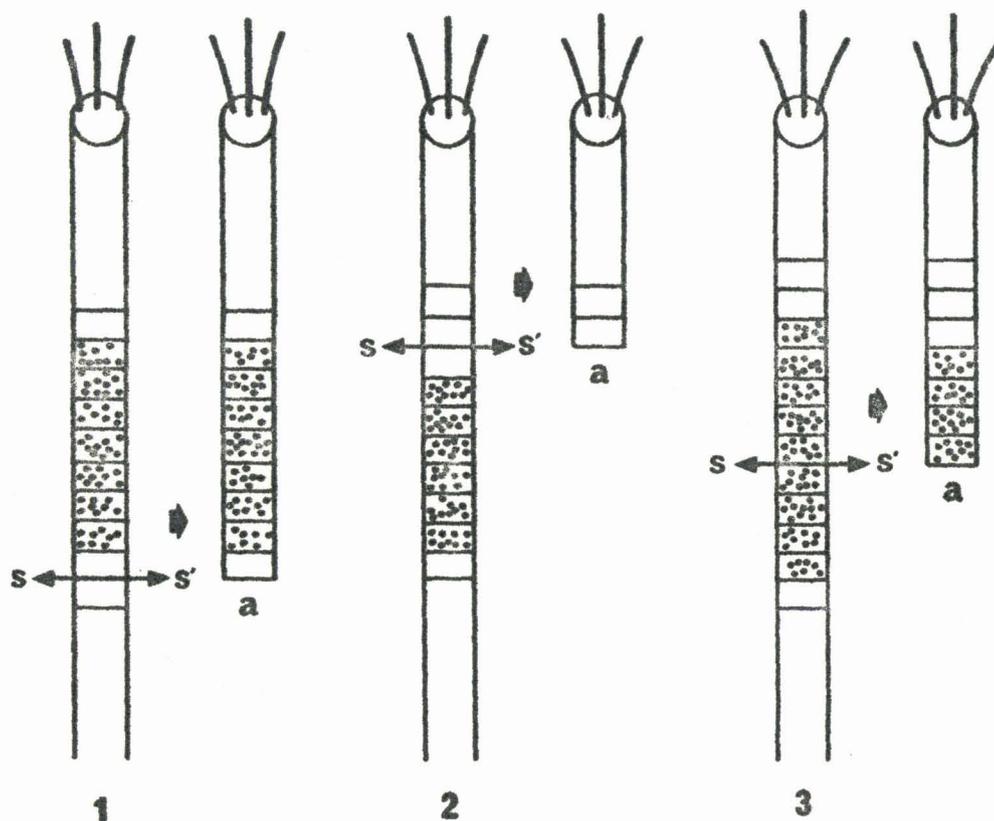


FIG. 25 - Schéma résumant les expériences (1, 2, 3) de destruction localisée des blastocytes mésodermiques à l'aide du "Thorotrast" chez *S. amica*. La zone intoxiquée est indiquée par des points. SS' : niveau de section ; a : tronçon antérieur dont la régénération caudale est étudiée.

II - EXPERIENCES DE RESECTIONS REPETEES DU SEGMENT PRECEDANT LE NIVEAU D'AMPUTATION OU DU BLASTÈME.

Les travaux de STEPHAN-DUBOIS sur Lumbriculus variegatus Gr. (1954) ont montré que la résection répétée du (ou des) segment (s) contigu (s) au front de section provoque un appauvrissement progressif du blastème en cellules de régénération migratrices (néoblastes). Cet appauvrissement entraîne lui même un affaiblissement du pouvoir régénérateur qui, réciproquement, atteste en faveur d'une migration intersegmentaire de cellules à rôle blastogénétique.

Nous avons appliqué cette technique à l'étude de la régénération chez S.amica; toutefois, et contrairement à ce qu'avait effectué STEPHAN DUBOIS, nous avons essayé divers procédés destinés à appauvrir le blastème en cellules de régénération :

- résection répétée du (ou des) segment (s) contigu (s) au front de section;
- résection répétée du blastème après section transversale disséminée;
- résection répétée du blastème après section transversale interdisséminée.

1) Techniques opératoires.

Trois types d'expériences ont été effectuées.

- Expérience 1 - Les Syllis sont sectionnés à 3 reprises consécutives (au niveau d'un intersegment) à raison d'une section tous les deux jours; les deux dernières sections éliminent chacune les deux segments contigus à la plaie.

- Expérience 2 - Les Syllis sont sectionnés (au niveau d'un intersegment) 5 fois à raison d'une section tous les sept jours; les quatre dernières sections éliminent :

- soit le segment contigu au front de section;
- soit le blastème.

- Expérience 3 - Les Syllis sont sectionnés au milieu d'un segment (section interdisséminée) 5 fois à raison d'une section tous les sept jours; les quatre dernières sections éliminent le blastème.

Dans chacune de ces trois expériences, figure un lot d'individus témoins sectionnés au moment même où les tronçons de Syllis en régénération subissent leur dernière amputation, et au niveau correspondant à celle-ci.

2) Résultats.

Les résultats sont reportés dans les tableaux 16,17,18. Nous envisagerons successivement ceux obtenus par résections répétées de segments puis par résection répétées de blastèmes.

a) Résections répétées de segments.

Régénération postérieure. La résection répétée du (ou des) segment (s) contigu (s) au plan de section n'entraîne aucune variation significative du pouvoir régénérateur qu'il y ait 2 ou 4 sections successives.

Régénération antérieure. Le pouvoir régénérateur céphalique des tronçons sectionnés à plusieurs reprises est le plus souvent, significativement inférieur à celui des témoins; toutefois, cette différence n'atteint pas le seuil de significativité au début de la régénération.

b) Résections répétées de blastèmes.

Régénération postérieure. Le pouvoir régénérateur des individus dont le blastème a été sectionné de façon répétée, ne diffère significativement de celui des témoins qu'au début de la régénération : à ce moment, la régénération la plus intense s'observe toujours chez les individus réamputés, que les sections aient été effectuées au niveau d'un intersegment ou au milieu d'un segment.

Régénération antérieure. Comme après résection répétée de segments, l'ablation répétée de blastèmes peut entraîner une différence significative du pouvoir régénérateur; toutefois aucune variation significative de celui-ci n'est observée au début de la régénération.

L'étude histologique effectuée sur des individus ayant subi des réamputations montre que les régénérats obtenus sont identiques à ceux édifiés par les témoins. D'autre part, nous n'avons pas relevé d'augmentation particulière du nombre de divisions parmi les cellules régénératrices après résection répétée de segments; par contre, l'index mitotique observé dans

Tableau 16

Influence de 2 sections successives de segments sur la longueur moyenne (en millimètres)
du régénérat de S. amica en fonction du temps (en jours)

Types d'expériences	Temps	11	25	39	53	69
Régénération postérieure	1 - Individus ayant subi 2 sections successives de segments	0,4 ± 0,3 (13)	8,6 ± 2,6 (11)	14,9 ± 3,9 (11)	19,8 ± 5,5 (10)	21,7 ± 6,6 (10)
	2 - Témoins	0,3 ± 0,2 (16)	9,1 ± 1,7 (15)	14,2 ± 2,2 (15)	18,1 ± 2,7 (15)	20,9 ± 3,6 (12)
	Comparaison entre les longueurs des régénérats obtenus en 1 et 2 : valeur de "t"	0,38	0,36	0,36	0,69	0,25
Régénération antérieure	1 - Individus ayant subi 2 sections successives de segments	0,2 ± 0,2 (16)	1,8 ± 0,6 (16)	2,6 ± 0,7 (12)	2,6 ± 0,7 (12)	2,6 ± 0,7 (12)
	2 - Témoins	0,1 ± 0,1 (18)	3,2 ± 0,5 (18)	3,5 ± 0,4 (18)	3,5 ± 0,4 (18)	3,5 ± 0,4 (18)
	Comparaison entre les longueurs des régénérats obtenus en 1 et 2 : valeur de "t"	1,07	3,29 ^{***}	2,64 ^{**}	2,64 ^{**}	2,64 ^{**}

Les chiffres placés entre parenthèses sont relatifs au nombre de tronçons observés ; astérisque (*) : différence (entre les longueurs des régénérats) significative (α : 95 % ; *** : 99 %).

Tableau 17

Influence de 4 sections successives de segment ou de blastème sur la longueur moyenne (en métamères) du régénérat de *S. amica* en fonction du temps (en jours)

Type d'expérience	Temps	11	29	43	60
Régénération postérieure	1 - Individus ayant subi 4 sections successives de segment	0,8 ± 0,4 (14)	9,5 ± 2,2 (12)	11,9 ± 3,4 (12)	14,7 ± 4,7 (10)
	2 - Individus ayant subi 4 sections successives de blastème	2,0 ± 0,7 (14)	8,5 ± 3,8 (11)	11,4 ± 3,4 (11)	13,1 ± 4,2 (11)
	3 - Témoins	0,8 ± 0,4 (14)	10,0 ± 1,5 (12)	13,5 ± 1,8 (11)	16,0 ± 2,5 (9)
	Comparaison entre les longueurs des régénérats obtenus en 1 et 3 : valeur de "t"	0	0,47	0,90	0,52
Comparaison entre les longueurs des régénérats obtenus en 2 et 3 : valeur de "t"	3,21 ^{ns}	(-)	1,20	1,28	
Régénération antérieure	1 - Individus ayant subi 4 sections successives de segment	0,3 ± 0,3 (11)	2,1 ± 0,8 (10)	2,5 ± 1,1 (9)	2,5 ± 1,1 (9)
	2 - Individus ayant subi 4 sections successives de blastème	0,7 ± 0,3 (10)	1,7 ± 0,7 (9)	2,2 ± 0,6 (9)	2,2 ± 0,6 (9)
	3 - Témoins	0,4 ± 0,2 (15)	3,1 ± 0,5 (15)	3,3 ± 0,5 (12)	3,3 ± 0,5 (12)
	Comparaison entre les longueurs des régénérats obtenus en 1 et 3 : valeur de "t"	0,95	2,38 ^{ns}	1,60	1,60
Comparaison entre les longueurs des régénérats obtenus en 2 et 3 : valeur de "t"	1,20	3,24 ^{ns}	3,00 ^{ns}	3,00 ^{ns}	

Les chiffres placés entre parenthèses sont relatifs au nombre de tronçons observés ; le tiret entre parenthèses (-) indique que le calcul de "t" n'a pas été réalisé en raison de l'existence d'une différence significative entre les variances des deux moyennes comparées ; astérisque (*) : différence (entre les longueurs des régénérats) significative (n : 95 % ; ns : 99 %).

Tableau 18

Influence de 4 sections successives de blastème sur la longueur moyenne (en métamères) du régénérat de *S. amica* en fonction du temps (en jours) - (section inter-disséminatoire)

Type d'expérience	Temps	11	29	43	60
Régénération postérieure	1 - Individus ayant subi 4 sections successives de blastème	1,3 ± 0,8 (8)	8,1 ± 1,2 (7)	10,6 ± 3,8 (6)	12,8 ± 4,7 (6)
	2 - Témoins	0 (st. 2 ¹) (12)	7,3 ± 2,2 (10)	10,5 ± 3,1 (8)	11,1 ± 3,5 (8)
	Comparaison entre les longueurs des régénérats obtenus en 1 et 2 : valeur de "t"	4,41 ^{ns}	0,66	0,08	0,73
Régénération antérieure	1 - Individus ayant subi 4 sections successives de blastème	0,4 ± 0,6 (5)	1,8 ± 1,6 (5)	2,2 ± 1,3 (5)	2,2 ± 1,3 (5)
	2 - Témoins	0,4 ± 0,3 (12)	2,3 ± 1,0 (7)	2,7 ± 0,6 (5)	2,7 ± 0,6 (5)
	Comparaison entre les longueurs des régénérats obtenus en 1 et 2 : valeur de "t"	0	0,67	0,92	0,92

Les chiffres placés entre parenthèses sont relatifs au nombre de tronçons observés ; astérisques : différence (entre les longueurs des régénérats) significative à 99,9 %.

les bourgeons de régénération caudaux est plus élevé après ablations successives de blastèmes que chez les témoins.

3) Discussion et conclusion.

Les résultats obtenus montrent que la résection répétée de segments ou de blastèmes n'entraîne pas un affaiblissement du pouvoir régénérateur, sauf dans le cas de la régénération céphalique.

Il nous semble que l'éventualité d'un appauvrissement en blastocytes mésodermiques ne puisse être retenue pour expliquer la diminution du pouvoir régénérateur céphalique après amputations successives. En effet, une telle hypothèse ne permet pas de comprendre pourquoi le pouvoir régénérateur caudal, alors qu'il est très sensible à un appauvrissement en blastocytes mésodermiques (Chapitre III), reste inchangé dans les mêmes conditions. Nous pensons, par contre que la diminution du pouvoir régénérateur céphalique après résection répétée de blastèmes ou de segments rend compte de l'antagonisme bien connu existant entre la régénération et la sexualisation (ABELOOS, 1950 b; DURCHON, 1959; BOILLY, 1961); en effet, les conditions expérimentales sont telles que la régénération céphalique des tronçons ayant subi des réamputations s'effectue toujours alors que la sexualisation est déjà déclenchée depuis un certain temps (lors de la première section).

Il est intéressant de considérer l'augmentation du pouvoir régénérateur (au début de la régénération) après résection répétée de blastèmes. Bien que cette augmentation ne soit significative que dans la régénération caudale, il semble que la régénération céphalique ait aussi été stimulée; en effet, il apparaît, que les régénérats antérieurs des individus dont le blastème a été réamputé à plusieurs reprises sont toujours plus longs que ceux des témoins, et ceci malgré l'influence antagoniste de la sexualisation.

Cependant, il convient de remarquer que la stimulation enregistrée au début de la régénération après réamputation de blastèmes ne se manifeste pas après résections répétées de segments; ce fait laisse supposer que chez S.amica, les effets d'une section ne dépassent pas le segment blessé.

En résumé, les résultats de nos expériences de résections successives de segments montrent que ce procédé n'entraîne pas un appauvrissement en blastocytes mésodermiques; ils constituent donc un argument supplémentaire en faveur de l'absence de migration intersegmentaire de ces éléments chez S.amica.

D'autre part, nos observations relatives à la régénération après résections répétées de blastèmes montrent que ce traitement ne suffit pas pour appauvrir le blastème en cellules régénératrices même lorsque le segment blessé est réduit de moitié (section interdisséminataire); elles rendent compte de l'ampleur des possibilités morphogénétiques du segment blessé et témoignent en particulier en faveur d'un rôle exclusif de ce segment dans la régénération.

III - CONCLUSION.

Les résultats obtenus par destruction localisée des épithéliums coelomiques soit par les rayons X, soit par le "Thorotrast", et par résections répétées du segment contigu au front de section montrent que chez S.amica, il n'existe pas de migration intersegmentaire de blastocytes mésodermiques. Seuls les épithéliums coelomiques du segment contigu à la plaie fournissent le matériel nécessaire à l'édification des structures mésodermiques du régénérat; même lorsque ce tissu fait défaut (après irradiation X localisée), les épithéliums coelomiques des autres segments n'interviennent pas dans ce processus.

Toutefois les techniques expérimentales utilisées ne permettent pas de localiser avec précision, à l'intérieur du segment contigu à la plaie, la zone susceptible de fournir des cellules de régénération mésodermiques; il semble cependant, d'après les données histologiques et ultrastructurales, que ces éléments proviennent seulement des épithéliums coelomiques situés à proximité immédiate du front de section.

XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX

CONCLUSION GENERALE DE LA TROISIEME PARTIE

Chez S.amica, il n'existe pas de migration intersegmentaire de cellules régénératrices. Ces éléments proviennent de tissus situés dans le segment contigu à la plaie et, plus précisément, à proximité immédiate du front de section.

Néanmoins, il faut remarquer que, dans certains cas particuliers, des cellules peuvent arriver jusqu'au niveau du plan d'amputation après avoir traversé plusieurs segments et participer à la régénération (cas de l'ablation de l'intestin ou du pharynx dans les segments précédant le niveau de section). Dans ces conditions, les cellules régénératrices endodermiques (ou ectodermiques lorsque la section passe dans la zone pharyngienne) et une partie des cellules mésodermiques (celles provenant de la splanchnopleure) représentent donc des éléments immigrés; cependant, ces cellules ne parviennent jusqu'au front de section que sous la forme d'un tissu organisé et non sous celle de cellules libres. Ce déplacement correspond à la croissance d'un organe (le tube digestif) assurant sa régénération propre et ne peut, en aucun cas, être interprété comme une migration intersegmentaire de cellules régénératrices.

QUATRIEME PARTIE

ETUDE DE L'ORIGINE DES CELLULES DE REGENERATION
CHEZ NEREIS DIVERSICOLOR O.F. MULLER ET ARICIA FOETIDA CLAP.

CHAPITRE VI

ORIGINE DES CELLULES DE REGENERATION CHEZ
NEREIS DIVERSICOLOR O.F. MULLER

N. diversicolor ne régénère qu'en direction caudale. L'histogenèse du régénérat a déjà fait l'objet de plusieurs travaux (NUSBAUM, 1908 ; DEHORNE, 1949 ; STEPHAN-DUBOIS, 1958 ; HERLANT-MEEWIS et NOKIN, 1962-1963) ; nous ne relaterons donc de nos observations histologiques que celles relatives à l'origine des éléments régénérateurs avant d'aborder l'étude expérimentale de ce problème.

I - ETUDE HISTOLOGIQUE DES PREMIERES PHASES DE L'HISTOGENESE REGENERATRICE

A) DONNEES MORPHOLOGIQUES

Aussitôt après la section, la musculature pariétale contigue au plan d'amputation se contracte vigoureusement et l'intestin fait saillie au niveau de la plaie ; corrélativement, les bords libres de la paroi intestinale se recourbent en direction de l'épiderme de l'extrémité du tronçon, de sorte que le tube digestif reste ouvert. La partie extroversée de l'intestin se résorbe rapidement et, dès la 18^{ème} heure, semble refoulée à l'intérieur du corps par invagination des bords de l'épiderme blessé.

Vers le 4^{ème} jour suivant la section, apparaît un anneau clair épidermique péri-anal qui se soulève jusqu'à former une ébauche de blastème annulaire (observable dès le 6^{ème} jour). La différenciation du blastème débute dès le 7^{ème}

jour ; toutefois la vitesse de ce processus varie de façon importante en fonction des individus. Les cirres anaux se différencient d'abord, puis le blastème s'allonge ; le régénérat acquiert la forme d'un pygidium normal entre le 7^{ème} et le 15^{ème} jour suivant la section. Puis il continue à s'allonger et commence à se métamériser ; les cirres dorsaux des futurs parapodes apparaissent généralement entre le 15^{ème} et le 20^{ème} jour. La poussée des soies constitue la dernière phase de la différenciation des métamères.

B) OBSERVATIONS HISTOLOGIQUES

1) 0 à 24 heures après l'amputation

Comme chez S. amica, l'obturation de la cavité coelomique est assurée immédiatement après la section par rapprochement des bords de la plaie, sous l'action des fibres musculaires circulaires du front de section ; en outre, chez N. diversicolor, ce processus est complété par l'extroflexion de la paroi du tube digestif extrusé qui vient à la rencontre de l'épiderme. Au cours des 24 premières heures suivant la section, on observe d'ailleurs souvent une continuité entre ces deux tissus ; toutefois, il semble qu'il n'y ait pas encore de soudure à ce stade.

Corrélativement à l'obturation de la cavité coelomique, un grand nombre de cellules coelomiques s'accumulent à l'extrémité du segment blessé ; elles constituent une sorte de bouchon de 100 à 150 μ de longueur placé entre l'intestin et la musculature pariétale sur une largeur de 80 à 100 μ (Pl. XXV, fig. a et c). Cette formation contient essentiellement des cellules identifiées comme étant des linocytes, des leucocytes hyalins et des granulocytes selon la terminologie de ROMIEU (1923), et des sarcolytes ; les éléocytes, peu représentés à l'intérieur de cet amas cellulaire, sont particulièrement abondants à proximité immédiate de celui-ci. Les cellules splanchnopleurales, entraînées par l'intestin jusqu'au niveau de la blessure, sont souvent difficiles à distinguer des leucocytes hyalins étant donné l'importance de la densité cellulaire existant à proximité de la plaie ; certaines d'entre elles, toutefois, semblent manifestement se détacher de l'assise cellulaire sous-jacente (Pl. XXVI, fig. a).

Les vaisseaux sanguins situés à l'extrémité du segment blessé se caractérisent par la présence d'un nombre anormalement élevé d'hémocytes. La chaîne

nerveuse intimement associée à l'épiderme ventral est présente jusqu'au niveau d'amputation.

2) 48 heures à 4 jours après la section

La cicatrisation semble achevée dès 48 heures après la section ; elle relève uniquement d'un processus de soudure entre l'épithélium intestinal et l'épiderme, sans qu'il y ait déplacement cellulaire comme chez S. amica, ni division. De ce fait, les basales sur lesquelles repose respectivement chacun de ces deux **tissus** persistent sous la plus grande partie du tissu cicatriciel qui se trouve ainsi nettement séparé du milieu coelomique (Pl. XXV, fig. d). Les cellules épidermiques proches de la section s'activent à partir du deuxième jour suivant l'amputation et sur une **zone** allant jusqu'à la base des parapodes (soit 150 μ environ). Dès le troisième jour, l'activité mitotique de ces éléments se manifeste ; l'épiderme cicatriciel reste à l'état unistratifié mais s'allonge considérablement. Cette prolifération aboutit à la formation des ébauches des deux prolongements pygidiaux au niveau desquels se différencieront les cirres anaux. Corrélativement au développement de l'épiderme cicatriciel, on assiste à la régénération de fibres nerveuses à partir de l'extrémité sectionnée de la chaîne ventrale ; les fibres néoformées cheminent jusqu'à l'épiderme cicatriciel contre lequel elles s'épanouissent en un éventail largement ouvert (Pl. XXVI, fig. b).

Les cellules de l'épithélium intestinal proches de la blessure évoluent moins vite que les cellules épidermiques cicatricielles ; les premières manifestations de l'activation apparaissent au niveau de ce tissu vers le troisième jour et restent toujours relativement discrètes.

Le bouchon coelomique a considérablement diminué de volume (Pl. XXV, fig. b) ; le plus souvent, il est pratiquement dépourvu de coelomocytes et semble constitué uniquement par les cellules splanchnopleurales de l'extrémité de l'intestin et, pour une moindre part, de cellules pariétopleurales. L'activation de ces cellules est relativement tardive (troisième jour) mais rapide. Au quatrième jour après la section, elles présentent leur maximum d'activation (Pl. XXVI, fig. b).

3) 5 jours à 8 jours après la section

Au cours de cette période, la prolifération de l'épiderme aboutit à la mise en place d'un pygidium typique dont les deux prolongements latéro-postérieurs portent chacun un cirre anal. Sur la face ventrale du blastème, l'épiderme néoformé se présente sous une forme pluristratifiée ; les cellules les plus profondes se différencient en neurones suivant un processus analogue à celui décrit chez S. amica. Au cours de cette prolifération, nous n'avons jamais observé d'infiltration de cellules mésodermiques ou coelomiques entre les cellules épidermiques.

L'épithélium intestinal manifeste une activité réduite ; peu de divisions sont observées à son niveau et l'activation de ses cellules a pratiquement disparu.

Par contre, les cellules mésodermiques prolifèrent activement et se répartissent à l'intérieur de tout le pygidium suivant un mode particulier.

- Dans la partie postérieure (correspondant aux prolongements caudaux), les cellules mésodermiques, peu abondantes, se **fixent** sur l'épiderme et l'intestin, et constituent un feuillet continu délimitant une cavité coelomique pratiquement dépourvue d'éléments cellulaires ; peu après, certaines de ces cellules différencient des fibres musculaires (Pl. XXVI, fig. d).

- Dans les régions antérieure et moyenne du pygidium, les cellules mésodermiques sont particulièrement abondantes et occupent la majeure partie de la cavité coelomique (Pl. XXVI, fig. c et d). Dans la zone ventrale, un certain nombre de cellules mésodermiques, groupées en deux cordons latéraux, se maintiennent à l'état activé (Pl. XXVI, fig. c). En dehors de cette zone, elles ne présentent plus l'aspect néoblastique caractéristique des cellules activées mais restent néanmoins très basophiles ; elles se disposent comme dans les prolongements caudaux mais, en outre, certaines d'entre elles forment des travées aboutissant au cloisonnement du coelome. Ces processus, permettant la reconstitution des structures mésodermiques, représentent la première manifestation de la segmentation du régénérat ; ils apparaissent vers le sixième jour après la section.

Les vaisseaux sanguins semblent se reconstituer à partir de leurs propres éléments.

C) DISCUSSION

L'histogenèse régénératrice de N. diversicolor est donc, dans ses grandes lignes, analogue à celle de S. amica. En particulier chaque type de structures néoformées (ectodermiques, mésodermiques, endodermiques) provient d'un tissu de la souche issu lui-même du feuillet embryonnaire correspondant. Toutefois, si la nature des tissus à l'origine des cellules de régénération ectodermiques et endodermiques (respectivement l'épiderme et l'épithélium intestinal) semble évidente, l'origine des cellules de régénération mésodermiques reste plus difficile à déterminer. Nos observations nous conduisent à considérer deux sources possibles de cellules régénératrices mésodermiques : (1) les parois coelomiques, (2) certaines cellules coelomiques libres ; cependant, elles ne nous permettent pas d'apprécier le rôle respectif de chacun de ces deux types d'éléments dans l'histogenèse régénératrice. D'autre part, dans ces conditions, le problème de la localisation du tissu à l'origine des blastocytes mésodermiques ne peut, à fortiori, être abordé par l'observation histologique des différents stades de la régénération. Nous nous proposons donc de répondre à ces deux questions par la méthode expérimentale.

II - ETUDE EXPERIMENTALE DE LA NATURE DES TISSUS A L'ORIGINE DES CELLULES DE REGENERATION MESODERMIQUES

Comme chez S. amica, les tissus supposés être à l'origine des blastocytes mésodermiques (parois coelomiques, cellules coelomiques libres) ont été détruits in situ par irradiation X. Le "Thorotrast" n'a pas pu être utilisé, l'existence de communications entre segments voisins n'ayant pas permis l'obtention d'une concentration de "Thorotrast" suffisamment élevée dans une zone déterminée pour inhiber la régénération à ce niveau.

Trois types d'expériences ont été réalisés :

- 1) irradiation à des doses comprises entre 10 000 r et 22 500 r ;
- 2) irradiation localisée (22 500 r) du segment contigu à la plaie (l'irradiation ayant été effectuée avant la section) ;
- 3) greffe de tissus sains de N. diversicolor dans des individus irradiés (22 500 r).

A) EXPERIENCES D'IRRADIATIONS X TOTALES

1) Techniques opératoires

a) Section

La section est réalisée **sous** anesthésie (chloréto-ne à 1 % dans l'eau de mer) au niveau d'un **intersegment** situé dans les 2/3 postérieurs du corps.

b) Irradiation

La technique utilisée est semblable à celle employée pour S. amica. Les caractéristiques du rayonnement X sont les suivantes : 90 KV ; 3 mA ; distance fenêtre-sujet : 5 cm ; faisceau non filtré ; débit de l'ordre de 340 r/minute .

Les doses appliquées (10 000 r, 15 000 r, 20 000 r, 22 500 r) ont été délivrées en une seule séance, 24 heures après la section.

2) Résultats

a) Etude expérimentale

Les résultats obtenus (Tableau 19) montrent que les rayons X retardent le déclenchement de la segmentation et ralentissent la vitesse de segmentation, et ceci, d'autant plus que la dose est élevée. L'inhibition de la segmentation est obtenue pour une dose de 22 500 r ; celle-ci n'empêche toutefois pas l'édification d'un petit bourgeon de régénération, dépourvu d'appendices dont la taille peut atteindre celle d'un pygidium normal ; ce régénérat persiste à l'état indifférencié pendant toute la durée de l'expérience.

b) Etude histologique

Une irradiation X de 22 500 r pratiquée 24 heures après la section ne semble pas perturber le comportement de l'épiderme et de l'épithélium intestinal bordant la plaie. En particulier, les cellules épidermiques s'activent normalement, se divisent et constituent la paroi du bourgeon de régénération ; dans un cas seulement, nous avons observé quelques mitoses épidermiques anormales (Pl. XXVII, fig. a). Le plus souvent les cellules épidermiques se maintiennent, à l'état activé pendant toute la durée des observations (jusqu'à 90 jours) ; elles sécrètent une cuticule et différencient vraisemblablement des tonofilaments. L'épithélium intestinal se comporte comme celui d'individus non irradiés.

Tableau 19

Influence de la dose de rayons X sur la longueur moyenne (en métamères)
du régénérat caudal de N. diversicolor en fonction du temps (en jours).

Doses \ Temps	15	31	45	62
0 r	0 (st.1/st.2) (22) 100	4,6 ± 1,1 (22) 9	6,7 ± 1,4 (21) 9	9,0 ± 1,8 (13) 0
10 000 r	0 (st. 1) (27) 100	0,3 ± 0,4 (26) 88	1,0 ± 0,9 (21) 66	1,5 ± 1,2 (18) 55
15 000 r	0 (st. 1 ⁻) (31) 100	0 (st.1/st.2) (31) 100	0,2 ± 0,2 (31) 90	0,4 ± 0,3 (31) 83
20 000 r	0 (st. 1 ⁻) (23) 100	0 (st.1 ⁻ /st.1) (19) 100	0,2 ± 0,4 (18) 94	0,3 ± 0,5 (17) 88
22 500 r	0 (st. 1 ⁻) (19) 100	0 (st.1 ⁻ /st.1) (18) 100	0 (st.1 ⁻ /st.1) (18) 100	0 (st.1 ⁻ /st.1) (17) 100

Les chiffres placés entre parenthèses sont relatifs au nombre de tronçons observés ; à côté de ce nombre figure le pourcentage d'individus dont le régénérat ne présente pas de métamérisation (à gauche du trait épais : 100 %, à droite : < 100 %) ; st. 1 : blastème indifférencié ; st. 2 : cirres anaux différenciés.



Les cellules coelomiques affluent derrière l'épiderme bordant la plaie, comme chez les témoins ; le bouchon de cellules, observé chez ces derniers, se constitue donc normalement en dépit de l'irradiation. Cependant dès 24 heures après celle-ci, des pycnoses apparaissent au sein de ce bouchon mésodermique (Pl. XXVII, fig. b) ; le nombre des cellules le constituant diminue rapidement ; ces éléments, dont certains manifestent un début d'activation, disparaissent presque complètement du blastème (Pl. XXVII, fig. c). Les cellules coelomiques (libres ou fixes) non impliquées dans la régénération manifestent aussi des signes de dégénérescence ; en particulier, de nombreuses pycnoses peuvent être observées dans la splanchnopleure ; d'autre part, la densité en cellules coelomiques libres semble diminuer considérablement.

Ces résultats nous autorisent donc à attribuer à des tissus de nature mésodermique (parois coelomiques, cellules coelomiques libres) l'origine des cellules de régénération mésodermiques ; ils ne permettent toutefois pas d'apprécier le rôle respectif de chacun de ces deux tissus dans l'histogenèse régénératrice.

B) EXPERIENCES D'IRRADIATION LOCALISEE AU SEGMENT CONTIGU A LA PLAIE, AVANT LA SECTION

1) Techniques opératoires

La technique utilisée consiste à irradier (22 500 r) des Nereis entières et à pratiquer la section immédiatement après l'irradiation de sorte que seul le segment précédant la plaie ait été irradié. Etant donné la liberté de mouvement des cellules coelomiques libres d'un segment à l'autre (facilement observable sur le vivant), ce procédé devrait permettre l'apport de cellules coelomiques libres provenant de segments non irradiés, donc saines.

2) Résultats

Les résultats obtenus (Tableau 21 dernière ligne) montrent que l'irradiation du dernier segment suffit pour inhiber la régénération au même titre qu'une irradiation totale. Les cellules coelomiques immigrées seraient donc incapables d'assurer la reprise de l'histogenèse mésodermique.

C) GREFFES DE TISSUS SAINS DANS DES NEREIS IRRADIEES

1) Techniques opératoires.

Les greffons utilisés (paroi de corps avec ou sans chaîne nerveuse, pygidium) proviennent de N. diversicolor (ou de parties de N. diversicolor dans le cas des autogreffes) irradiées (22 500 r) ou non. Le greffon est implanté dans la cavité coelomique après incision de la paroi dorso-latérale du corps du porte-grefte ; dans une partie des cas, le greffon est maintenu à la paroi du corps du récepteur par un système d'attache particulier à chaque type de greffon :

- la paroi de corps greffée est maintenue à celle du porte-grefte par une agrafe ;

- le pygidium n'est introduit que partiellement dans la cavité coelomique de sorte qu'une partie de celui-ci (l'extrémité et les cirres anaux) émerge à la surface du corps du récepteur.

Les porte-greffes, irradiés (22 500 r) de 2 à 3 jours avant la greffe sont sectionnés transversalement environ 48 heures à 5 jours après celle-ci.

Le niveau d'amputation passe soit par le greffon, soit à 1 ou 2 segments derrière celui-ci.

Dans chaque expérience des vers irradiés n'ayant pas reçu de greffon permettent de vérifier l'efficacité de l'irradiation.

2) Résultats

Dans tous les cas, l'irradiation s'est révélée efficace : aucune différenciation de pygidium (poussée des cirres anaux) ni de segmentation du régénérat n'a été observée.

Parmi les individus ayant reçu un greffon deux cas sont à envisager suivant la position du niveau de section par rapport au greffon.

- 1^{er} cas : les porte-greffes sectionnés à 1 ou 2 segments derrière le greffon n'ont pas régénéré.

- 2^{ème} cas : les porte-greffes sectionnés au niveau du greffon ont présenté, dans certains cas, une régénération de métamères. Le plus souvent, les métamères néoformés apparaissent tardivement et en faible nombre (maximum observé : 6) ; ils sont morphologiquement et anatomiquement identiques à ceux édifiés par des vers

non irradiés. Les résultats relatifs à la régénération de ces porte-greffes sont consignés dans le tableau 20. On constate que :

a) seule une greffe de tissus sains peut restituer le pouvoir de régénération au porte-greffe ;

b) le pourcentage de reprise de la régénération après greffe de tissus non irradiés est relativement faible ;

c) ce pourcentage est plus important après greffe de pygidium qu'après greffe de paroi de corps.

Plusieurs raisons d'ordre technique permettent d'expliquer la faiblesse du pourcentage de régénération après greffe de tissus sains :

- il y a souvent rejet mécanique du greffon (à titre d'exemple , signalons que sur 77 pygidiums greffés et non maintenus par l'épiderme du récepteur, 39 étaient encore visibles au moment de la section, c'est-à-dire quelques jours après la greffe, 16 seulement l'étaient encore une semaine après la section);

- il est difficile de faire passer le plan d'amputation par le greffon ; sous la pression du scalpel, le greffon est souvent repoussé jusqu'à une certaine distance de celui-ci.

D'autre part, le greffon peut être séparé du front de section par une couche de linocytes ; enfin, il est rarement toléré dans le coelome de l'hôte, même dans le cas d'autogreffe (Pl. XXVII, fig. d).

Les résultats obtenus permettent de penser que :

- les propriétés morphogénétiques de tronçons ne sont pas abolies par l'irradiation;

- la chaîne nerveuse ne constitue pas l'élément du greffon permettant la reprise de la régénération (dans les 2 cas de reprise de régénération observés après greffe de paroi de corps, l'un des greffons contenait la chaîne nerveuse, l'autre ne la possédait pas);

- le matériel cellulaire apporté par le greffon représente vraisemblablement l'élément qui permet la reprise de la régénération. D'autre part, et indépendamment des données histologiques, la différence de pourcentage de reprise de régénération existant entre les porte-greffes ayant reçu soit une paroi de corps, soit un pygidium (Tableau 20) constitue un résultat qui permet de penser que ce n'est ni l'épiderme (également représenté dans les 2 types de

Tableau 20

Régénération caudale de *N. diversicolor* irradiées, observée après greffe de tissus sains ou irradiés

Type de greffe	Nombre de greffes effectuées	Nombre de porte-greffes survivants	Nombre de porte-greffes dont le pygidium est différencié	Nombre de porte-greffes dont le régénérat comporte au moins un membre	Pourcentage de porte-greffes ayant régénéré au moins un membre
Paroi de corps non irradié non maintenu au porte-greffe par une agrafe	35	25	5	1	4
Paroi de corps non irradié maintenu au porte-greffe par une agrafe	25	13	1	1	7
Paroi de corps irradié maintenu au porte-greffe par une agrafe	21	15	0	0	0
Pygidium non irradié non maintenu par l'épiderme du porte-greffe	44	29	0	1	3
Pygidium non irradié maintenu par l'épiderme du porte-greffe	54	34	6	7	20
Pygidium irradié maintenu par l'épiderme du porte-greffe	33	21	1	0	0

BUS
LILLE

greffons), ni la musculature (peu développée dans le pygidium), ni les coelomocytes (pratiquement absents dans les 2 types de greffons), qui sont à l'origine de la reprise de la régénération. On peut donc en déduire que les cellules mésodermiques des pygidiums ou les cellules pariétopleurales des parois de corps greffées sont probablement à l'origine de ce phénomène (nous pensons que le petit nombre de cellules mésodermiques apportées par les parois de corps rend compte du faible pourcentage de reprise de régénération obtenu après utilisation de ce type de greffon). Toutefois, l'utilisation de greffons contenant des cellules mésodermiques marquées, s'avère nécessaire pour confirmer cette interprétation.

D) DISCUSSION ET CONCLUSION

Les résultats de notre étude expérimentale permettent donc de considérer les cellules des parois coelomiques comme étant à l'origine des structures mésodermiques néoformées et de supposer que les coelomocytes n'interviendraient pas dans l'histogenèse régénératrice.

Nos conclusions sont donc analogues à celles formulées par HERLANT-MEEWIS et NOKIN (1962-63) qui, à l'issue d'une étude histologique de la régénération sur la même espèce, affirment : "Nous n'avons jamais vu aucune de ces cellules (coelomocytes) se transformer en éléments régénérateurs" (p 145). D'autre part, elles tiennent compte de la diminution de taille du "bouchon cicatriciel" enregistrée dès la cicatrisation terminée, c'est-à-dire à une époque où les blastocytes mésodermiques sont sollicités par l'histogenèse régénératrice. Toutefois, dans le cadre de cette interprétation, le rôle des cellules coelomiques libres constituant le "bouchon cicatriciel" reste à déterminer. Il est possible que l'afflux de ces éléments vers la plaie corresponde à un déplacement passif de cellules entraînées par le courant du liquide coelomique s'écoulant par la blessure ; cependant, on peut penser que ces cellules jouent un rôle dans la régénération, au moins dans les 24 premières heures suivant l'amputation, en particulier ^{en participant} à la phagocytose des débris cellulaires.

Nos conclusions sont, par contre, contraires aux interprétations de DEHORNE (1949) et de STEPHAN-DUBOIS (1958) qui attribuent aux coelomocytes le rôle d'éléments régénérateurs totipotents. Toutefois, il n'est pas impossible que la contradiction ne soit qu'apparente, tout au moins en partie. En effet, on

peut penser **que** les amibocytes acidophiles, considérés par ces deux auteurs comme étant les cellules régénératrices, représentent en fait des cellules détachées des feuillets péritonéaux suivant un processus déjà décrit par NUSBAUM (1908) ; STEPHAN-DUBOIS (1958) suggère d'ailleurs à ce propos qu'"il s'en (des amibocytes) détache peut-être des parois du coelome" (p 643). Par contre, le caractère totipotent attribué à ces cellules par DEHORNE et STEPHAN-DUBOIS apparaît très discutable à la lumière de nos résultats expérimentaux et même de ceux obtenus par STEPHAN-DUBOIS. En effet, la destruction par irradiation X de ces éléments considérés comme totipotents devrait inhiber complètement la régénération. Or, dans tous les cas, la régénération de certains tissus reste possible, puisque un régénérat non métamérisé peut être édifié après irradiation ; même lorsque ce bourgeon de régénération subit un phénomène de régression (STEPHAN-DUBOIS, 1955, 1956) il semble (d'après la fig. 1c p.202 du travail de 1956 de cet auteur) qu'il ne disparaisse pas complètement. On doit donc admettre que la mise en place de ce régénérat relève de l'activité de cellules autres que les éléments régénérateurs d'origine mésodermique puisque ces derniers ont été détruits par les rayons X.

III - ETUDE EXPERIMENTALE DE LA LOCALISATION DES TISSUS A L'ORIGINE DES CELLULES DE REGENERATION MESODERMIQUES

Comme pour S. amica, deux méthodes ont été utilisées :

- (A) destruction localisée des blastocytes mésodermiques à l'aide des rayons X ;
- (B) résection répétée du segment précédant la section, ou du blastème.

A) DESTRUCTION LOCALISEE DES BLASTOCYTES MESODERMIQUES

1) Techniques opératoires

La section est pratiquée comme précédemment, soit 5, 24, 48 heures avant l'irradiation, soit immédiatement après celle-ci. La dose utilisée est de 22 500 r. Les vers irradiés localement sont maintenus en place à

l'aide d'un fil, sur un morceau de canevas reposant sur le buvard imbibé de la solution anesthésique ; ce procédé permet d'éviter le déplacement des vers au cours de l'irradiation.

Les expériences suivantes ont été réalisées en un seul temps :

- irradiation totale de tronçons antérieurs
- irradiation de tronçons antérieurs localisée au segment contigu à la plaie
- irradiation de l'ensemble du tronçon antérieur à l'exception du dernier métamère
- irradiation du 1/3 postérieur de Nereis entières ; la section est pratiquée immédiatement après l'irradiation de telle sorte que le tronçon antérieur ainsi obtenu n'ait eu que le dernier segment irradié. En outre, des tronçons antérieurs témoins sont placés sous l'écran protecteur.

2) Résultats

Les résultats obtenus ont déjà fait l'objet d'une courte note (BOILLY, 1965_c) ; ils sont consignés dans le tableau 21. On constate que :

- le dispositif de protection utilisé (feuille de plomb de 2mm d'épaisseur ou verre anti-X de 8 mm d'épaisseur) peut être considéré comme efficace. L'absence de segmentation observée chez un certain nombre d'individus (8 %) est normale ; nous l'avons observée dans la plupart de nos expériences ; dans certains cas, ce comportement est lié au développement important de la coccidie Coelotropha durchoni parasite vivant dans le coelome de cette Annélide ;

- l'irradiation employée est suffisante pour inhiber la segmentation ;
- l'irradiation du dernier segment suffit, dans la plupart des cas, pour inhiber la segmentation du régénérat, que l'irradiation soit pratiquée avant ou après la section (les observations ont été poursuivies pendant 3 mois).

- l'irradiation de l'ensemble du tronçon à l'exception du dernier segment ne perturbe pas la régénération.

Tableau 21

Régénération caudale de N. diversicolor après irradiations X totales ou régionales (22 500 r) 50 jours après la section

Type d'expérience	Nombre de vers observés	Nombre de vers dont la segmentation n'est pas inhibée	Nombre de vers dont la segmentation est inhibée	Pourcentage de vers dont la segmentation est inhibée	Longueur moyenne de régénérat (en métamères)
Protection totale	34	31	3	8	7,0 ± 2,0
Irradiation totale	36	0	36	100	0 (st.1 ⁻ /st.1)
Irradiation du seul segment contigu en front de section	28	2	26	92	0,5 ± 0,7
Irradiation de l'ensemble du tronçon à l'exception du segment contigu au front de section	18	17	1	5	7,0 ± 1,6
Irradiation (avant la section) du seul segment contigu au front de section	19	1	18	94	0,1 ± 0,2

st. 1 : blastème indifférencié

Nos résultats permettent de penser que chez N. diversicolor, il n'existe pas de migration intersegmentaire de cellules de régénération mésodermiques même après destruction de celles qui participent normalement à l'édition du régénérat. Seules, celles fournies par le segment contigu à la plaie assurent la reconstitution des structures mésodermiques.

B) RESECTION REPETEE DU SEGMENT PRECEDANT LE NIVEAU D'AMPUTATION OU DU BLASTEME

1) Techniques opératoires

Deux séries d'expériences ont été réalisées

- 1ère série d'expériences. Les Nereis sont sectionnées 4 fois à raison d'une section tous les 10 jours ; les 3 dernières sections éliminent chacune soit le segment contigu à la plaie, soit le blastème.

- 2ème série d'expériences. Les Nereis sont sectionnées 6 fois à raison d'une section tous les 10 jours ; les 5 dernières sections éliminent soit le segment contigu à la plaie, soit le blastème.

Dans chacune de ces deux séries d'expériences, les témoins sont représentés par des Nereis sectionnées une seule fois et au moment où, dans l'expérience en cours, les opérés subissent soit leur première, soit leur dernière section.

En outre, dans la 2ème série d'expérience, les témoins sectionnés en début d'expérience sont réamputés de segments anciens 50 jours plus tard, c'est-à-dire au moment où la dernière section est pratiquée chez les opérés.

Afin de réduire le taux de mortalité (relativement élevé au cours de ces expériences de longue durée), la température de l'eau d'élevage a été maintenue entre 14 et 15°C.

2) Résultats

Les résultats obtenus (Tableaux 22 et 23) montrent que :

- le pouvoir régénérateur des Nereis diminue si les individus étudiés séjournent un certain temps au laboratoire avant la section ; il peut même s'annuler lorsque la durée du séjour est importante (50 jours) ; toutefois, l'influence néfaste de ces conditions d'élevage sur le pouvoir régénérateur

Tableau 22
Influence de 3 sections successives de segment ou de blastème sur la longueur moyenne (en métamères)
du régénérat caudal de *N. diversicolor* en fonction du temps (en jours)

Type d'expériences	Temps	9	17	24	33	47	62
1 - Témoins sectionnés au début de l'expérience	0 (st. 1 ⁻ /st. 1): (21)	0,4 ± 0,1 (21)	1,6 ± 0,5 (21)	2,6 ± 0,7 (21)	3,4 ± 1,0 (21)	4,1 ± 1,1 (17)	
2 - Témoins sectionnés lors de la dernière section de segment ou de blastème	0 (st. 1) (20)	0,1 ± 0,1 (19)	0,8 ± 0,5 (19)	1,8 ± 0,9 (17)	2,4 ± 1,2 (12)	2,5 ± 1,2 (12)	
3 - Individus ayant subi 3 sections successives de segment	0 (st. 1 ⁻) (25)	0,4 ± 0,2 (25)	2,1 ± 0,8 (23)	4,2 ± 1,1 (20)	4,9 ± 1,3 (18)	5,4 ± 1,7 (17)	
4 - Individus ayant subi 3 sections successives de blastème	0,2 ± 0,1 (21)	1,2 ± 0,8 (19)	2,7 ± 1,6 (19)	3,7 ± 2,2 (17)	4,3 ± 2,8 (13)	4,8 ± 2,9 (12)	
Comparaison entre les longueurs des régénérats obtenus en 1 et 2: valeur de "t".	0	2,64 ^{ns}	1,9 ^s	1,44	1,34	2,06 ^{ns}	
Comparaison entre les longueurs des régénérats obtenus en 1 et 3: valeur de "t".	0	0,4	(-)	(-)	1,70	1,30	
Comparaison entre les longueurs des régénérats obtenus en 1 et 4: valeur de "t".	3,33 ^{ns}	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	

Les chiffres placés entre parenthèses sont relatifs au nombre de tronçons observés. Les tirets entre parenthèses (-) indiquent que le calcul de "t" n'a pas été réalisé en raison de l'existence d'une différence significative entre les variances des deux moyennes comparées; st. 1 : blastème indifférencié; st. 2 : cirres anaux différenciés; astérisque (s) : différence (entre les longueurs des régénérats) significative (n : 95 %; ns : 99 %).

Tableau 23
Influence de 5 sections successives de segment ou de blastème sur la longueur moyenne (en métamères)
du régénérat caudal de *N. diversicolor* en fonction du temps (en jours)

Type d'expériences	Temps	10	21	29	39	50	60
1 - Témoins sectionnés au début de l'expérience	0 (st. 1) (23)	1,8 ± 0,9 (23)	3,6 ± 1,0 (23)	4,2 ± 1,3 (22)	-	-	-
2 - Témoins en régénération depuis le début de l'expérience réévalués lors de la dernière section de segment ou de blastème	0 (st. 1 ⁻) (20)	0,2 ± 0,4 (15)	0,3 ± 0,8 (13)	0,6 ± 0,9 (12)	0,8 ± 1,7 (7)	1,4 ± 3,2 (5)	
3 - Témoins sectionnés lors de la dernière section de segment ou de blastème	0 (st. 1 ⁻) (15)	0 (st. 1/st. 2) (12)	0 (st. 1/st. 2) (9)	0 (st. 1/st. 2) (8)	0 (st. 1/st. 2) (7)	0 (st. 1/st. 2) (7)	
4 - Individus ayant subi 5 sections successives de segment	0 (st. 1 ⁻) (17)	0,3 ± 0,5 (14)	0,9 ± 0,8 (14)	1,2 ± 1,0 (13)	1,7 ± 1,3 (10)	1,5 ± 1,2 (7)	
5 - Individus ayant subi 5 sections successives de blastème	0 (st. 1) (15)	0 (st. 1/st. 2) (14)	0 (st. 1/st. 2) (12)	0 (st. 1/st. 2) (9)	0 (st. 1/st. 2) (8)	0 (st. 1/st. 2) (6)	
Comparaison entre les longueurs des régénérats obtenus en 1 et 2: valeur de "t".	0	(-)	(-)	(-)	-	-	
Comparaison entre les longueurs des régénérats obtenus en 2 et 4: valeur de "t".	0	0,62	1,01	1,03	0,92	0,15	

Les chiffres placés entre parenthèses sont relatifs au nombre de tronçons observés. Les tirets correspondent à des observations non effectuées. Les tirets entre parenthèses (-) indiquent que le calcul de "t" n'a pas été réalisé en raison de l'existence d'une différence significative entre les variances des deux moyennes comparées; st. 1 : blastème indifférencié; st. 2 : cirres anaux différenciés.

des Nereis se manifeste avec moins d'intensité si les vers amputés au terme d'un séjour prolongé au laboratoire ont déjà été amenés à régénérer au cours de celui-ci ;

- si l'on tient compte de l'affaiblissement du pouvoir régénérateur provoqué par le séjour prolongé des Nereis au laboratoire, on constate que :

. les individus ayant subi une résection répétée du segment contigu à la plaie régénèrent au moins autant de métamères que les témoins ;

. le pouvoir régénérateur des individus ayant subi une résection répétée de blastème varie en fonction du nombre de résections : il peut, soit rester identique à celui des témoins, sauf au début de la régénération où il lui est supérieur (cas de 3 résections), soit s'annuler (cas de 5 résections).

L'étude histologique de la régénération de Nereis ayant subi des amputations répétées du segment contigu au front de section montre que le nombre de mitoses observées dans les blastèmes de ces individus reste pratiquement semblable à celui des témoins. D'autre part, à évolution égale, les régénérats édifiés après sections successives de segment ou de blastème apparaissent comme étant identiques à ceux des témoins.

Les résultats de nos expériences de réamputation montrent que, indépendamment de l'action néfaste d'un séjour prolongé au laboratoire sur le pouvoir régénérateur, la résection répétée du segment contigu au plan d'amputation n'entraîne ni d'affaiblissement du pouvoir régénérateur, ni d'augmentation de l'index mitotique des cellules régénératrices. Ce procédé ne provoque donc pas d'appauvrissement du blastème en éléments régénérateurs ; en conséquence, on peut penser que les cellules de régénération sont recrutées au niveau du seul segment contigu au front de section.

C) DISCUSSION ET CONCLUSION

Les résultats obtenus chez N. diversicolor par destruction localisée des blastocytes mésodermiques à l'aide des rayons X et par sections répétées du segment contigu au niveau d'amputation montrent que, chez cette Annélide, et

dans les conditions expérimentales précitées, les cellules de régénération mésodermiques ne proviennent que du segment blessé; on peut donc penser que, dans la régénération normale, il n'existe pas de migration intersegmentaire de ces éléments.

Nos conclusions corroborent les observations histologiques de DEHORNE (1949) qui remarque que "Il (le tampon cicatriciel) est constitué essentiellement par les cellules libres du métamère intéressé" (p 98) et de HERLANT-MEEWIS et NOKIN (1962-63) qui pensent que "chez Nereis diversicolor, chacun des tissus peut se réparer à partir de ses propres éléments capables de s'activer sur place ; il n'existe pas de cellules indifférenciées de réserve, ni de néoblastes migrants" (p 151).

Par contre, nos conclusions sont en opposition avec les résultats obtenus par STEPHAN-DUBOIS (1955, 1956, 1958). Selon cet auteur, les cellules de régénération seraient capables de parcourir une dizaine de segments. Toutefois, l'interprétation proposée par STEPHAN-DUBOIS nous semble devoir être considérée avec prudence. En effet, bien que cet auteur obtienne effectivement des cas de régénération après irradiation localisée, il convient de remarquer que, d'après ses résultats (STEPHAN-DUBOIS, 1955, 1956), le retard enregistré dans le déclenchement de la segmentation apparaît comme étant indépendant de l'étendue de l'irradiation (de l'ordre de 7 semaines) ; même après irradiation des 2 ou 3 seuls derniers segments (vers 27 E et 21 A) il faut attendre 6 semaines pour que la régénération commence, alors que pour un individu dont les 31 derniers segments sont irradiés (ver 33 C), "2 paires de petits bourgeons parapodiaux" sont observables 9 semaines après la section. Ces résultats sont donc très différents de ceux obtenus par le même auteur chez les Planaires (1949) et les Oligochètes (1954) où le retard enregistré dans le déclenchement de la régénération est toujours proportionnel à l'étendue de la zone irradiée, c'est-à-dire de la distance que les cellules régénératrices ont à parcourir pour parvenir jusqu'au niveau de la blessure. Nous pensons que les cas de régénération de segments observés par STEPHAN-DUBOIS chez N. diversicolor après irradiation régionale correspondent à une restauration cellulaire consécutive à une irradiation insuffisante, et dont l'inefficacité aurait dû être mise en évidence sur des individus irradiés en totalité ; malheureusement, dans les expériences de

STEPHAN-DUBOIS, les Nereis ayant subi ce traitement (nombre d'individus non précisé) sont mortes "entre 4 et 8 semaines après l'amputation".

IV - CONCLUSION

L'étude histologique et expérimentale de la régénération caudale, de Nereis diversicolor O.F. M. montre que l'épiderme, les épithéliums coelomiques et l'épithélium intestinal du segment blessé assurent respectivement l'édification des structures ectoneurales, mésodermiques et endodermiques du régénérat. Chez cette Annélide, il n'existe donc pas d'éléments régénérateurs totipotents ni de migration intersegmentaire de cellules régénératrices.

CHAPITRE VII

ORIGINE DES CELLULES DE REGENERATION CHEZ ARICIA FOETIDA CLAP.

A. foetida régénère de façon remarquable en direction caudale. Par contre, la régénération céphalique ne s'effectue pas ; d'ailleurs, les tronçons dépourvus de tête, incapables de se déplacer, meurent rapidement. Selon PROBST (1931_a), des éléments totipotents et migrateurs de nature mésodermique assureraient la régénération de toutes les structures amputées. Nous nous sommes proposés de vérifier cette interprétation par une étude expérimentale. Toutefois, avant de présenter les résultats obtenus, nous rapporterons les principales observations histologiques effectuées chez cette Annélide au cours des premières phases de l'histogénèse régénératrice caudale.

I - ETUDE HISTOLOGIQUE

A) DONNEES MORPHOLOGIQUES

Aussitôt après la section, l'extrémité du tube digestif sectionné fait saillie au niveau de la plaie ; la paroi intestinale se recourbe jusqu'à toucher l'épiderme, permettant ainsi le maintien de l'ouverture anale du tube digestif. L'extrusion intestinale se résorbe rapidement ; 48 heures après l'amputation, elle n'est généralement plus visible. **Dès le 3^{ème} jour**, une couronne blanche péri-anale apparaît et se soulève progressivement ; ce mouvement aboutit à la mise en place d'un blastème typique (vers le 5^{ème} jour) qui va s'allonger considérablement et différencier les cirres pygidiaux. Corrélativement, le régénérat se métamérise ; ce processus se poursuit à un rythme rapide et permet la mise en place d'un très grand nombre de métamères (environ une centaine 45 jours après la section)

B) OBSERVATIONS HISTOLOGIQUES

L'anatomie microscopique d'Aricia foetida a fait l'objet d'une étude détaillée (PROBST, 1931_a). Cette Annélide est organisée suivant le schéma classique (FAUVEL, 1959). Signalons toutefois la présence de cellules spéciales, à noyau caractéristique, sur la face **caudale** des dissépiments et le long de la chaîne nerveuse ; ces éléments constituent des travées qui semblent provenir d'une zone située derrière le dissépiment^{et} à proximité immédiate de la chaîne nerveuse ; ils contiennent un noyau volumineux et clair dont la chromatine est répartie dans tout le nucléoplasme sous la forme de sphérules ; le cytoplasme est peu abondant. Il s'agit vraisemblablement de cellules génitales indifférenciées. PROBST avait tout d'abord considéré ces cellules à gros noyau ("Riesenkern") comme représentant le matériel de régénération (1930) mais, peu après (1931_a), il ne leur reconnaissait plus ce rôle ; pour cet auteur il s'agirait de cellules génitales primordiales ("Urgeschlechtszellen").

D'autre part, il convient de signaler qu'Aricia est dépourvu de cellules coelomiques libres (à l'exception toutefois des cellules génitales).

Nous avons suivi les processus histogénétiques au cours de la régénération depuis le moment de la section jusqu'à l'époque où le blastème commence à se métamériser (6ème jour après l'amputation).

1) De 0 à 4 jours après la section

Peu après l'amputation, le contact entre l'épiderme et l'épithélium intestinal de l'extrémité du tronçon est assuré ; dès la 12ème heure, il existe déjà une continuité quasi-parfaite entre ces deux tissus ; la soudure ne semble achevée que vers la 36ème heure. La cicatrisation s'effectue donc **sans** migration cellulaire et uniquement par la **juxt**position de l'épiderme et de l'épithélium intestinal ; ce processus permet à ces tissus d'être pratiquement isolés de la cavité coelomique peu après l'amputation grâce à la présence de leur basale (Pl. XXVIII, fig. c).

La chaîne nerveuse est présente jusqu'au niveau du plan d'amputation dès la 36ème heure ; son extrémité est coiffée par un petit nombre de cellules mésodermiques dont certaines sont en activation. L'épiderme proche du niveau d'amputation s'active à partir du 2ème jour ; toutefois ses cellules ne tardent

pas à se diviser. Il s'allonge et repousse l'épithélium intestinal qui, peu à peu, reprend une position normale ; ce processus semble achevé au 4^{ème} jour, époque à laquelle on peut observer l'ébauche du blastème sous la forme d'un soulèvement de l'épiderme. Les cellules mésodermiques tendent à s'accumuler derrière cet épiderme, tout au moins dans la partie ventrale du blastème ; elles constituent un massif compact de cellules plus ou moins activées dans lequel on observe parfois quelques cellules à noyau géant, identiques à celles situées derrière les dissépiments. L'épithélium intestinal ne manifeste aucune activité particulière.

La musculature présente une évolution complexe et variable suivant les individus. Le plus souvent, on observe des phénomènes de sarcolyse qui, dans certains cas, peuvent s'étendre sur les 10 segments précédant la plaie ; parfois ce phénomène n'apparaît que de façon discrète ; il semble que l'étendue et l'intensité des processus de dégénérescence soient en relation avec le mode d'amputation ; la sarcolyse est souvent importante après section ; par contre, l'observation histologique d'individus en régénération après autotomie naturelle (vers recueillis dans la nature) a montré que, dans ces cas, la musculature était pratiquement intacte. D'autre part, nous avons observé à plusieurs reprises un phénomène de dédifférenciation au niveau de certaines fibres musculaires situées immédiatement devant le plan d'amputation ; ce processus semble particulièrement net dans la musculature pariétale et péri-intestinale (Pl. XXVIII, fig. a et b) ; le sort de certaines fibres musculaires, apparemment dédifférenciées et assemblées en amas granuleux dans le coelome, à proximité du front de section reste, toutefois, obscur (Pl. XXVIII, fig. b). Il convient cependant de souligner le fait que ces formations, d'origine musculaire et que nous considérons comme étant en voie de dédifférenciation, peuvent faire défaut ; on ne peut, en conséquence, les considérer comme étant indispensables dans l'édification du régénérat ; il s'agit vraisemblablement de fibres lésées lors de l'amputation et assurant leur propre restauration.

Nous avons aussi observé (4 cas sur 26) la présence d'amas de cellules activées, vraisemblablement d'origine mésodermique, à proximité de la chaîne nerveuse dans les deux derniers (3 cas) ou encore les quatre derniers segments (1 cas) du tronçon. Ces amas sont constitués essentiellement de cellules isolées,

fusiformes, orientées en tous sens ; ces cellules très basophiles, contiennent un noyau ovoïde pourvu d'un ou deux nucléoles situés au milieu d'une zone claire; elles voisinent généralement avec des sarcolytes (Pl. XXVIII, fig. d). Dans tous les cas, elles apparaissent comme étant plus activées que celles du massif mésodermique du blastème.

2) De 4 à 6 jours après l'amputation

Cette période se caractérise par le développement de l'activation au niveau des cellules épidermiques et mésodermiques du blastème et surtout, par une augmentation importante de leur activité mitotique. L'épithélium intestinal présente quelques cellules activées et s'allonge en même temps que l'épiderme ; toutefois, son activité mitotique reste relativement faible. Au 5ème jour, toutes les cellules épidermiques et mésodermiques du blastème sont également activées. Les cellules mésodermiques se divisent intensément et constituent un massif compact qui occupe toute la zone ventrale de la cavité coelomique du blastème ; peu après, elles se glissent latéralement entre l'épiderme néoformé et le tube digestif (Pl. XXIX, fig. a). Dès le 6ème jour, les cellules mésodermiques, particulièrement nombreuses, commencent à s'organiser à l'intérieur du blastème, à l'exception toutefois de celles situées dans la zone terminale où elles continuent à proliférer (Pl. XXIX, fig. b) ; elles constituent d'abord un revêtement continu à la surface du tube digestif et de l'épiderme du blastème puis d'autres cellules ébauchent les dissépiments. D'autre part, la chaîne nerveuse se différencie aux dépens de cellules épidermiques de la zone axio-ventrale du blastème.

C) DISCUSSION

Il apparaît donc que, chez A. foetida, les tissus anciens proches de la blessure, et en particulier l'épiderme et l'épithélium intestinal régénèrent pour leur propre compte. Nous n'avons, en effet, jamais vu d'infiltration de cellules mésodermiques à l'intérieur de ces tissus. L'origine exacte des cellules régénératrices mésodermiques est toutefois plus difficile à déterminer. Il semble certain que les cellules des parois coelomiques de la zone en remaniement participent à la constitution du massif mésodermique dont nous avons

décelé la présence dès la 36ème heure ; toutefois, l'hypothèse de la participation de fibres musculaires différenciées ne peut être rejetée, bien qu'il s'agisse d'un phénomène sporadique. D'autre part, nous n'avons pas observé de migration intersegmentaire de cellules régénératrices. Pourtant, certaines images, telles celles relatives à la présence de cellules mésodermiques activées jusqu'à 4 segments en avant du front de section, pourraient être interprétées dans ce sens. Cependant, certaines observations nous incitent à rejeter cette hypothèse. En particulier, le fait que ces cellules mésodermiques activées n'existent pas dans 90 % environ des cas étudiés, laisse supposer que la régénération n'est pas liée à la présence de ces éléments ; d'autre part, ces cellules, le plus souvent groupées en amas isolés dans lesquels elles sont disposées en tous sens, ne présentent pas l'orientation particulière des cellules migratrices (allongement en direction de la blessure) décrite chez d'autres Annélides (STEPHAN-DUBOIS, 1954).

Nous considérons donc, ^{comme} PROBST (1931_a), les cellules des parois coelomiques comme participant à la régénération des structures amputées ; mais, contrairement à cet auteur, nous ne leur attribuerons qu'un rôle partiel dans l'histogenèse régénératrice (la reconstitution des structures mésodermiques).

D'autre part, nos observations ne nous permettent pas d'accepter l'hypothèse de la migration intersegmentaire de cellules régénératrices élaborée par cet auteur. Certaines remarques de PROBST lui-même semblent d'ailleurs montrer que l'existence de cordons de cellules mésodermiques activées, "en migration", ne serait pas liée à l'édification du régénérat ; en particulier, cet auteur a observé que ces cordons restent identiques à eux-mêmes pendant toute la durée de la régénération ; il en a même signalé la présence chez des individus possédant déjà un régénérat avec de nombreux segments : "Dieser (der Strome der Regenerationszellen) bleibt offenbar während der ganzen Dauer des Regenerationsprozesses erhalten. Er ist noch festzustellen bei Tieren, die bereits ein Regenerat mit zahlreichen Segmenten ausgebildet haben" (p. 382). Il convient toutefois de souligner le fait que les observations de PROBST sont relatives à la régénération d'une variété d'A. foetida (celle de Naples) différente de la nôtre (var. atlantica Fauvel), et que les individus étudiés par cet auteur ont été élevés à

la température de 25°C. Nous pensons néanmoins que les cordons de cellules régénératrices décrits par PROBST sont de même nature que les amas de cellules mésodermiques activées que nous avons observés dans certains cas chez A. foetida var. atlantica. Il est vraisemblable que la présence de ces éléments relève d'un épiphénomène indépendant de l'édification du régénérat caudal et dont la signification reste à élucider.

II - ETUDE EXPERIMENTALE DE LA REGENERATION CAUDALE

A. foetida se prête mal à l'expérimentation. D'une part, l'élevage de cette Annélide est délicat : sur l'ensemble des expériences effectuées nous avons enregistré une mortalité de l'ordre de 30 %. D'autre part, Aricia s'autotomise facilement de sorte que, le plus souvent, il s'avère inutile de pratiquer certaines opérations très traumatisantes ou répétées. Nous avons donc limité nos recherches expérimentales à l'étude de la régénération d'individus irradiés.

A) TECHNIQUES OPERATOIRES

Les A. foetida ont été irradiés dans les mêmes conditions que N. diversicolor (Chapitre VI). Deux types d'irradiation (totale ou régionale) ont été réalisés sous anesthésie au chlorure de magnésium à 77,7 g par litre d'eau distillée.

- Irradiation totale. Elle est pratiquée 24 heures après la section ; plusieurs doses ont été utilisées (5 000 r, 10 000 r, 15 000 r, 20 000 r, 30 000 r).

- Irradiation régionale. Dans ce cas, la dose employée est de 10 000 r. L'irradiation a porté soit sur le segment contigu au front de section, soit sur l'ensemble du tronçon à l'exception du dernier segment. La zone à protéger est placée sous un écran constitué par une plaque de verre anti-X de 8 mm d'épaisseur (la précision de l'irradiation est de l'ordre du 1/2 segment). Cinq expériences ont été réalisées en un seul temps :

1) tronçons antérieurs placés sous l'écran protecteur pendant toute la durée de l'irradiation ;

2) irradiation totale de tronçons antérieurs ;

3) irradiation localisée au dernier segment ;

4) irradiation de l'ensemble du tronçon à l'exception du segment contigu à la blessure ;

5) irradiation des 2/3 postérieurs d'Aricia entiers ; la section est pratiquée immédiatement après l'irradiation de sorte que le tronçon antérieur obtenu n'ait eu que le dernier segment irradié.

Dans les expériences 1, 2, 3, 4, la section est effectuée 24 heures avant l'irradiation. Comme pour N. diversicolor, les individus irradiés localement, sont maintenus en place à l'aide d'un fil afin d'éviter tout déplacement pendant l'irradiation.

B) RESULTATS

Tous les tronçons placés sous l'écran protecteur régénèrent normalement (le régénérat atteint une longueur moyenne de 5 cm, 60 jours après l'amputation). Par contre, la régénération des individus exposés aux rayons X peut être perturbée.

1) Expériences d'irradiation totale

Aucune des doses utilisées n'empêche l'édification d'un blastème de régénération qui, le plus souvent, apparaît morphologiquement identique à celui édifié par un individu sain ; toutefois, lorsque la dose est élevée, ce processus est plus lent.

Seule la différenciation du blastème est perturbée par l'irradiation. Lorsque la dose est supérieure ou égale à 10 000 r, le blastème différencie rarement les cirres anaux ; il ne s'allonge pas et ne présente à aucun moment le moindre signe de métamérisation. Par contre, à 5 000 r, l'inhibition de la différenciation du blastème n'est que temporaire : elle est levée : généralement vers le 30ème - 35ème jour après l'amputation, date à partir de laquelle le bourgeon de régénération évolue comme celui d'un individu non irradié.

Nous n'avons jamais observé de régression du blastème de régénération même aux doses élevées ; on peut toutefois assister, dans quelques cas, à la

régression du segment contigu au front de section.

2) Expériences d'irradiation régionale

Dans tous les cas, l'irradiation et le dispositif de protection se sont révélés efficaces.

Les résultats obtenus (Tableau 24) montrent que :

- l'irradiation du seul segment contigu au front de section suffit pour inhiber la segmentation du régénérat au même titre qu'une irradiation totale (Pl. XXX, fig. a) ;
- l'irradiation de l'ensemble du tronçon, à l'exception du segment contigu au niveau de section, ne gêne en aucune manière la régénération de ces tronçons (Pl. XXX, fig. b), que l'irradiation soit pratiquée 24 heures après ou immédiatement avant l'amputation ;
- les tronçons s'étant autotomisés au cours de l'expérience régénèrent ou pas suivant que le segment contigu au plan d'autotomie ait été protégé des rayons X ou irradié.

Toutefois, il convient de signaler certains aspects particuliers de l'évolution des blastèmes édifiés par des individus dont le segment contigu au plan de section, irradié au préalable, présente un phénomène de régression ; deux cas sont à envisager :

- lorsque la régression n'est que partielle, le blastème reste identique à lui-même (Pl. XXX, fig. c).
- lorsque la régression est importante au point que le blastème se trouve en contact avec l'avant-dernier segment, on peut assister à la métamérisation de ce bourgeon de régénération (Pl. XXX, fig. d) et à la néoformation de segments (4 cas observés).

3) Etude histologique

L'étude histologique de blastèmes dont la métamérisation est bloquée par une irradiation X montre que leur paroi est identique à celle de blastèmes sains, tout au moins après irradiation à 10 000 r (Pl. XXIX, fig. c) ; lorsque la dose est plus élevée, l'épiderme du blastème présente de nombreuses circonvolutions (Pl. XXIX, fig. d) et le cytoplasme de ses cellules apparaît souvent granuleux. L'épithélium intestinal semble normal à toutes les doses utilisées.

Tableau 24

Régénération de A. foetida après irradiation totale
ou régionale (10 000 r) 65 jours après la section

Types d'expériences	Nombre de cas observés	Nombre d'individus ne s'étant pas autotomisés au cours de l'expérience,		Nombre d'individus s'étant autotomisés au cours de l'expérience,	
		dont la segmentation est inhibée	dont la segmentation n'est pas inhibée	dont la segmentation est inhibée	dont la segmentation n'est pas inhibée
Irradiation totale	33	26	0	7	0
Irradiation localisée au segment contigu au front de section	41	22	5 (dont 4 présentent une régression importante du dernier segment)	0	14
Irradiation de l'ensemble du tronçon à l'exception du segment contigu au front de section	20	0	19	1	0

BUS
LILLE

Les cellules mésodermiques représentent la catégorie cellulaire du blastème la plus sensible à l'action des rayons X ; le plus souvent, elles sont peu nombreuses et contiennent un cytoplasme granuleux (Pl. XXIX, fig. c et d) dans lequel on aperçoit parfois un noyau pycnotique. Toutefois, un certain nombre de cellules mésodermiques apparemment saines, subsistent à l'état activé dans la zone axio-ventrale du blastème ; elles constituent un massif cellulaire analogue à celui observé dans des blastèmes sains, bien que beaucoup plus réduit, mais dans lequel on ne distingue jamais la moindre ébauche d'organisation.

C) DISCUSSION

Comme pour S. amica et N. diversicolor, la sensibilité particulière des cellules régénératrices mésodermiques à l'égard des rayons X permet d'envisager le rôle de ces éléments dans l'histogenèse du régénérat, et de préciser la localisation du tissu qui en est à l'origine.

1) Rôle des cellules de régénération mésodermiques dans l'histogenèse régénératrice

Les résultats obtenus permettent de penser que (a) les blastocytes mésodermiques interviennent dans l'édification des seules structures mésodermiques du régénérat et (b) qu'ils jouent un rôle important dans la différenciation du blastème de régénération.

En effet, le fait que, après irradiation X d'intensité convenable ($\geq 10\ 000$ r) des structures ectodermiques et endodermiques puissent être édifiées alors même que les formations mésodermiques n'apparaissent pas, laisse supposer que la mise en place de ces deux premiers types de structures se fait sans l'intervention des blastocytes mésodermiques. On peut donc penser que ces éléments n'interviennent que dans la régénération du mésoderme.

D'autre part, il semble que les blastocytes mésodermiques soient indispensables à la différenciation du blastème de régénération puisque, après une irradiation aboutissant à la destruction des propriétés histogénétiques de ces seuls éléments, le blastème ne se différencie pas.

2) Localisation du tissu à l'origine des blastocytes mésoder-
miques

Les résultats des irradiations régionales montrent que la régénération caudale d'Aricia est assurée uniquement par les tissus du segment contigu au front de section ; même après irradiation de ce segment, on n'observe aucun apport cellulaire en provenance des autres métamères. Chez cette Annélide, il n'existe donc pas de migration intersegmentaire de cellules mésodermiques.

Nos résultats expérimentaux infirment l'hypothèse de PROBST (1931^a) relative à la totipotence des cellules régénératrices d'origine mésodermique et à leur migration au cours de l'histogenèse régénératrice d'A. foetida.

III - CONCLUSION

L'étude histologique et expérimentale de la régénération caudale d'Aricia foetida Clap. var. atlantica Fauvel ^{montre qu'elle provient du segment} se fait sans l'intervention d'éléments migrateurs ou totipotents.

Les cellules de régénération proviennent uniquement du segment contigu au front de section **et**, plus vraisemblablement, d'une zone située à proximité immédiate de la blessure. Les tissus anciens (l'épiderme, l'épithélium intestinal, les épithéliums coelomiques et, peut-être, certaines fibres musculaires dédifférenciées) assurent la régénération des structures correspondant au feuillet embryonnaire dont elles dérivent.

XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX

CONCLUSION DE LA QUATRIEME PARTIE

Chez Nereis diversicolor O. F. Müller et Aricia foetida Claparède (var. atlantica Fauvel), les processus histogénétiques sont, au cours de la régénération caudale, semblables à ceux observés chez Syllis amica Quatrefages. Trois types de cellules régénératrices, ectodermiques, mésodermiques, endodermiques, provenant respectivement de l'épiderme, des épithéliums coelomiques et de l'épithélium intestinal, proches du niveau d'amputation, assurent la reconstitution des structures amputées correspondant au feuillet embryonnaire dont elles sont issues.

Chez ces Annélides, contrairement aux opinions de STEPHAN-DUBOIS (1958) et de PROBST (1931_a), il n'existerait donc pas de cellules régénératrices totipotentes ou migratrices.

CONCLUSION GENERALE

Jusqu'à présent, à quelques exceptions près, l'histologie a été la seule technique utilisée dans l'étude de l'origine des cellules de régénération chez les Annélides Polychètes. La diversité des interprétations proposées (potentialités histogénétiques multiples ou restraints de divers éléments cellulaires, absence ou présence de migration intersegmentaire de cellules régénératrices) nous ont conduit à reconsidérer ce problème à l'aide d'autres techniques, et, en particulier, en utilisant la méthode expérimentale.

Le problème de l'origine des cellules de régénération doit être envisagé sous deux angles : (1) celui de la nature du ou des tissus dont elles dérivent, (2) celui de la localisation de ce ou de ces tissus par rapport au niveau d'amputation. Le but essentiel de notre travail a consisté à répondre à ces deux questions fondamentales par l'utilisation combinée des méthodes histologique, ultrastructurale et expérimentale. Notre étude a porté essentiellement sur la régénération céphalique et caudale de Syllis amica Quatrefages et, secondairement sur la régénération caudale de Nereis diversicolor O.F. Müller et d'Aricia foetida Claparède (var. atlantica Fauvel).

L'observation histologique (et ultrastructurale pour S. amica) des premiers stades de la régénération chez ces trois Annélides nous a amené à considérer l'épiderme (cellules de soutien), les épithéliums coelomiques, et l'épithélium intestinal (cellules absorbantes) proches de la plaie, comme étant respectivement à l'origine des structures régénérées appartenant au feuillet embryonnaire correspondant. Les cellules provenant de ces tissus, plus ou moins différenciées, présentent une évolution complexe et particulièrement rapide. Elles subissent d'abord une dédifférenciation morphologique importante (à l'exception toutefois des cellules épithéliales de l'intestin) caractérisée essentiellement par la disparition des éléments figurés caractéristiques de son type par digestion intracellulaire (apparition de nombreux cytolysomes) et la vésiculisation du réticulum endoplasmique et de l'appareil de Golgi. Puis, les cellules sont le siège d'une synthèse importante et rapide d'ARN (activation) avant de manifester leur nature de cellule régénératrice ; au cours de ce processus, elles acquièrent une morphologie typique, analogue à celle des néoblastes : le

noyau augmente de taille, le nucléole s'accroît considérablement en même temps qu'un halo périnucléolaire apparaît, le cytoplasme devient basophile ; l'examen ultrastructural de ces cellules en activation a permis de mettre en évidence l'évolution particulière des différents composants nucléolaires (composant granulaire en particulier), l'émission de matériel nucléolaire dans le nucléoplasme et l'apparition de très nombreux ribosomes dans le cytoplasme. La plupart de ces cellules activées se différencient précocement (dès le 4ème jour après l'amputation); cette phase se caractérise principalement par l'association des ribosomes en polysomes, le développement de l'appareil de Golgi et du réticulum endoplasmique, l'édification de structures caractéristiques intra et extracellulaires.

Il existerait donc, chez les Polychètes étudiés, trois types de cellules régénératrices (ectodermiques, mésodermiques, endodermiques) provenant de tissus plus ou moins différenciés, indépendantes sur le plan histogénétique et ne présentant pas de phénomène de migration étendue.

La filiation existant entre chacun de ces types cellulaires et les tissus dont ils dérivent a pu être démontrée, dans la plupart des cas, par l'expérimentation. La méthode utilisée a consisté à suivre l'histogenèse régénératrice d'individus préalablement privés d'un tissu présumé être à l'origine de cellules de régénération, soit par destruction in situ, soit par ablation chirurgicale. Pour des raisons d'ordre expérimental, seuls les rôles respectifs des épithéliums coelomiques et de l'épithélium intestinal ont pu être analysés par cette méthode.

Chez les trois Polychètes étudiés, les épithéliums coelomiques ^{détruits} (susceptibles d'être spécifiquement par les rayons X ou le "Thorotrast" en injection intracoelomique) se révèlent comme étant la source exclusive des blastocytes mésodermiques; d'autre part, ils apparaissent comme étant indispensables à la différenciation, la croissance et la métamérisation du régénérat. L'intervention de fibres musculaires différenciées dans l'édification du mésoderme du régénérat ne peut être retenue à l'issue de ces expériences ; il semble que les cas de différenciation musculaire observés correspondent à la régénération de fibres lésées lors de l'amputation.

Les résultats obtenus après élimination (par ablation du tube digestif) ou intoxication (par le "Thorotrast") de l'épithélium intestinal, montrent que ce dernier est à l'origine de ses propres éléments au cours de la régénération. Toutefois, dans certaines conditions (régénération caudale dans la zone pharyngienne de S. amica), l'épithélium intestinal peut être suppléé par un tissu d'origine ectodermique (l'épithélium pharyngien) ; ce cas constitue la seule exception à la règle de l'indépendance histogénétique des tissus à l'origine des cellules régénératrices observée au cours de la régénération chez ces trois Annélides. D'autre part, l'étude de la régénération de Syllis dépourvus de tube digestif montre que cet organe n'intervient pas dans la morphogenèse céphalique, alors que, dans la régénération caudale, il apparaît comme étant indispensable à une segmentation normale du régénérat.

Les résultats de nos expériences relatives à l'origine tissulaire des cellules de régénération mésodermiques et endodermiques corroborent nos interprétations histologiques concernant le rôle histogénétique des épithéliums coelomiques et de l'épithélium intestinal. En outre, et étant donné que des structures ectoneurales peuvent être édifiées en l'absence de l'un ou l'autre de ces tissus, on peut considérer que ni les épithéliums coelomiques, ni l'épithélium intestinal n'interviennent dans l'histogenèse ectodermique.

Ces expériences permettent donc d'établir les filiations épithéliums coelomiques - blastocytes mésodermiques et épithélium intestinal - cellules régénératrices endodermiques. Elles démontrent, d'autre part, l'indépendance de chacun des trois types de cellules de régénération et des tissus dont ils dérivent, au cours de l'histogenèse régénératrice dans la zone post-pharyngienne ; elles soulignent le rôle primordial du mésoderme dans la métamérisation du régénérat, l'action morphogène du tube digestif dans la régénération caudale et l'indépendance de la morphogenèse céphalique à l'égard de cet organe.

Parmi les trois types de cellules régénératrices participant à l'édification du régénérat, les blastocytes mésodermiques représentent les seuls éléments régénérateurs pouvant être considérés comme susceptibles de présenter un phénomène de migration étant donné qu'~~elles~~ parviennent jusqu'au niveau de section sous la forme de cellules libres.

Le problème de la localisation du tissu à l'origine des blastocytes mésodermiques a été résolu par l'utilisation de méthodes basées sur la destruction localisée de ce tissu (soit par irradiation X, soit par injection intra-coelomique de "Thorotrast") et la résection répétée du segment contigu au plan d'amputation ou du blastème. Les résultats obtenus chez les trois espèces étudiées sont superposables : les blastocytes mésodermiques ne proviennent que du métamère précédant le niveau de section. Il n'existe donc pas de migration intersegmentaire de cellules régénératrices chez S. amica , N. diversicolor et A. foetida.

Les résultats histologiques et expérimentaux que nous avons obtenus chez les trois espèces étudiées mettent donc en évidence l'indépendance histogénétique de chacun des trois types de cellules régénératrices et des tissus dont ils dérivent (tout au moins après section dans la zone post-pharyngienne). Ils permettent, d'autre part, de considérer l'épiderme, les épithéliums coelomiques et l'épithélium intestinal, comme étant respectivement à l'origine des cellules de régénération ectodermiques, mésodermiques et endodermiques. Enfin, ils démontrent l'absence de migration intersegmentaire des éléments régénérateurs. Ces résultats, que nous avons énoncés dès 1962 (BOILLY, 1962_a et _b), ont été, depuis, corroborés par les observations histologiques effectuées sur diverses espèces de Polychètes par d'autres auteurs (HERLANT-MEEWIS et NOKIN, 1962-1963 ; THOUVENY, 1967). Il apparaît donc, actuellement, une certaine homogénéité dans les résultats concernant l'origine des cellules régénératrices chez les Polychètes. Toutefois, il s'avère nécessaire d'étudier ce problème chez d'autres espèces afin de voir si ces résultats ont une portée générale.

L'indépendance histogénétique des éléments régénérateurs semble donc être de règle dans la régénération des Annélides puisque chez tous les Oligochètes étudiés (STEPHAN-DUBOIS, 1954, 1964 ; HERLANT-MEEWIS, 1958 ; AVEL, 1959 ; CHAPRON, 1965), il en est de même.

Toutefois, chez les Oligochètes, la nature et les propriétés migratrices des cellules à l'origine des éléments régénérateurs diffèrent suivant les espèces envisagées. Le plus souvent, les cellules régénératrices ectodermiques et endodermiques proviennent de petites cellules basales indifférenciées

(cellules de remplacement) associées respectivement à l'épiderme et l'épithélium intestinal (HERLANT-MEEWIS, 1946_a et _b, 1953, 1954 ; STEPHAN-DUBOIS, 1954, 1964) parfois, certaines cellules régénératrices dérivent directement de l'épithélium correspondant par dédifférenciation (cas des "blastocytes endodermiques" de Eisenia foetida unicolor, CHAPRON, 1965). Les cellules de régénération mésodermiques ont, par contre, des origines tissulaires plus diverses ; elles sont constituées, soit par des néoblastes (HERLANT-MEEWIS, 1946_a et _b ; STEPHAN-DUBOIS, 1954, 1964) soit par des cellules pariétoleurales banales (HERLANT-MEEWIS 1946_a et _b, 1953, 1954 ; STEPHAN-DUBOIS, 1954), soit par des fibres musculaires dédifférenciées (CHAPRON, 1965).

Parmi tous ces éléments régénérateurs, seuls les néoblastes ont la faculté de migrer sur des distances importantes ; les autres cellules régénératrices proviennent uniquement du segment blessé.

Les trois Polychètes ayant fait l'objet de cette étude se distinguent donc de la plupart des Oligochètes par l'absence de cellules de remplacement et de néoblastes. Toutefois, l'origine de leurs blastocytes mésodermiques est semblable à celle décrite chez les Aeolosomatidés (HERLANT-MEEWIS, 1953, 1954) et les Enchytréidés (HERLANT-MEEWIS, 1946_a et _b ; STEPHAN-DUBOIS, 1954) chez lesquels ces éléments proviennent des cellules pariétoleurales du segment contigu au front de section ; d'autre part, la musculature ancienne ne semble pas intervenir dans l'histogenèse régénératrice des Oligochètes, à l'exception toutefois d'Eisenia (CHAPRON, 1965).

Cependant, bien que les cellules régénératrices aient des origines tissulaires souvent différentes chez ces deux groupes d'Annélides, leur comportement reste identique. En particulier, tous les éléments régénérateurs présentent une phase d'activation au cours de laquelle elles synthétisent une quantité importante d'ARN, avant de s'engager dans l'histogenèse ; toutefois, à l'inverse de ce qui a été observé chez les Oligochètes à néoblastes, ce phénomène ne se produit, pour les espèces étudiées, qu'au niveau du front de section et vraisemblablement sous l'influence "trophique" du système nerveux (ABELOOS et THOUVENY, 1960 ; ABELOOS, 1965 ; AVEL, 1962 ; HERLANT-MEEWIS et DELIGNE, 1965 ; DURCHON, 1967). D'autre part, chaque type de cellules régénératrices assure la reconstitution de tous les tissus correspondant au feuillet embryonnaire dont il provient.

Enfin, certaines d'entre elles semblent intervenir, au cours de la régénération des Oligochètes et des Polychètes, dans les processus morphogénétiques suivant des modalités homologues. En effet, dans ces deux groupes d'Annélides, les blastocytes mésodermiques jouent un rôle de premier plan dans la morphogenèse du régénérat ; chez S. amica, N. diversicolor, A. foetida, ils apparaissent comme étant indispensables à la différenciation, la croissance et la métamérisation du régénérat ; chez les Oligochètes, les néoblastes assureraient une fonction similaire en intervenant en particulier dans la croissance du régénérat (STEPHAN-DUBOIS, 1954, 1964).

L'ensemble des études histologiques et expérimentales poursuivies sur la régénération chez les Annélides Polychètes et Oligochètes a donc permis la mise en évidence :

- du rôle histogénétique de certains tissus différenciés ;
- de l'indépendance histogénétique de chaque type de cellules régénératrices (et des tissus dont ils dérivent) ;
- de la migration de certains éléments régénérateurs (néoblastes) ;
- du rôle morphogénétique des blastocytes mésodermiques au cours de la différenciation et de la croissance du régénérat.

Il importe désormais, non seulement d'étayer les résultats acquis par d'autres observations, mais surtout d'aborder le problème de leur signification.

En particulier, il apparaît primordial d'expliquer le caractère limité des compétences histogénétiques de chacun des différents types de cellules régénératrices. Il est vraisemblable, comme le laissent supposer les résultats de BURGESS(1967) relatifs aux potentialités embryogéniques des noyaux de cellules de blastème de Xenopus laevis, que le degré de dédifférenciation d'un type de cellules régénératrices donné soit insuffisant pour que ces éléments puissent manifester les potentialités histogénétiques des autres types ; toutefois, les résultats que nous avons obtenus après section dans la zone pharyngienne de S. amica (régénération d'un épithélium intestinal à partir d'un épithélium pharyngien) laissent supposer que l'état différencié d'une cellule ne constitue pas toujours un obstacle à l'expression de potentialités histogénétiques

étrangères à son type ; on peut donc penser qu'un type de cellules régénératrices donné puisse manifester les propriétés d'un autre type sous l'influence de conditions physiologiques locales particulières, dont la nature reste à préciser.

D'autre part, il s'avère nécessaire de préciser les conditions de la migration de certaines cellules. En particulier, il importe de savoir si ce phénomène est lié aux propriétés mêmes de la cellule ou à son degré d'indifférenciation. En outre, il apparaît indispensable de préciser la nature de l'"appel" provoqué par l'amputation et d'apprécier son étendue ; il convient à ce propos, d'évaluer les rôles respectifs de certaines modifications physiques du milieu intérieur occasionnées lors de la blessure (CLARK, 1965) d'une part, et des substances libérées par la région blessée (WOLFF, 1961) d'autre part. Cette étude, associée à celle du comportement d'une cellule vis-à-vis d'un "appel", permettra peut-être d'expliquer l'absence de migration de cellules régénératrices observée chez certaines Annélides, les Polychètes en particulier.

RESUME

Le problème de l'origine des cellules régénératrices chez les Annélides Polychètes a été abordé par un grand nombre d'auteurs mais, à quelques exceptions près, uniquement par l'étude histologique, au microscope photonique, des premières phases de la régénération. Les interprétations les plus diverses ont été proposées, aussi bien en ce qui concerne la nature des tissus à l'origine des cellules régénératrices, que la localisation de ces tissus par rapport au niveau d'amputation. Nous avons reconsidéré ce problème en faisant appel à d'autres méthodes, en particulier à l'expérimentation.

Notre étude a porté essentiellement sur la régénération céphalique et caudale de Syllis amica Quatrefages (Polychète dépourvu de coelomocytes), et, secondairement, sur la régénération caudale de Nereis diversicolor O.F. Müller (Polychète possédant des coelomocytes) et Aricia foetida Claparède var. atlantica Fauvel (Polychète chez lequel existeraient des néoblastes totipotents).

1) L'étude histologique des premiers stades de la régénération céphalique et caudale de S. amica montre que, chez cette espèce, l'épiderme, les épithéliums coelomiques et l'épithélium intestinal, proches de la plaie, sont respectivement à l'origine des structures ectoneurales, mésodermiques et endodermiques du régénérat; il existe donc trois types de cellules régénératrices dont les potentialités histogénétiques sont analogues à celles des feuilletts embryonnaires correspondants. L'origine des cellules régénératrices est identique dans les deux types de morphogenèse. Toutefois, dans la régénération antérieure, l'intestin ne se reconstitue pas; par contre, les vaisseaux sanguins dorsal et ventral, soudés l'un à l'autre, régénèrent en direction céphalique. Le comportement des cellules de régénération varie selon la détermination morphogénétique du régénérat.

2) L'étude, au microscope électronique des premiers stades de la régénération céphalique et caudale chez S. amica confirme les résultats histologiques. En outre, elle permet de décrire, pour la première fois chez les Annélides, l'évolution ultrastructurale des éléments régénérateurs. Celle-ci, particulièrement rapide, comprend trois phases (dédifférenciation, activation, différenciation); les différents aspects de chacune d'entre elles sont rapportés.

3) Les résultats histologiques et ultrastructuraux relatifs à la nature des tissus à l'origine des cellules régénératrices chez S.amica ont été vérifiés par l'expérimentation, en éliminant ou en remplaçant successivement chacun des tissus considérés comme étant à l'origine de ces éléments; corrélativement, le degré d'indépendance histogénétique de chacun de ces **tissus**, et leur rôle morphogénétique ont été appréciés. Notre étude a porté sur les épithéliums coelomiques et l'épithélium intestinal.

a) Les épithéliums coelomiques ont été détruits in situ par irradiations X ou par intoxication de ses cellules à l'aide du "Thorotrast" en injection intracoelomique. Les résultats obtenus montrent que les épithéliums coelomiques sont à l'origine des blastocytes mésodermiques et que ce tissu est indépendant sur le plan histogénétique; le mésoderme apparaît, en outre, indispensable à la différenciation du blastème et semble jouer le rôle directeur dans la métamérisation du régénérat.

b) L'épithélium intestinal a été éliminé des processus morphogénétiques, soit par ablation du tube digestif, soit par intoxication de ses cellules par le "Thorotrast", soit en pratiquant l'amputation dans la zone pharyngienne (dans ce cas, l'épithélium intestinal se trouve remplacé par une structure d'origine ectodermique, l'épithélium pharyngien). Les résultats obtenus montrent que ce tissu est à l'origine de ses propres éléments mais qu'il peut être suppléé par l'épithélium pharyngien; ils démontrent, d'autre part, le rôle morphogène du tube digestif dans la métamérisation des régénérats caudaux et l'indépendance morphogénétique de la régénération céphalique à l'égard de cette formation.

4) La localisation, par rapport au niveau d'amputation, de la zone susceptible de fournir des blastocytes mésodermiques a été précisée par l'expérimentation, soit par destruction localisée des épithéliums coelomiques (par irradiation X ou intoxication par le "Thorotrast"), soit par résections répétées du blastème ou du segment contigu à la plaie. Chez S.amica, les blastocytes mésodermiques ne proviennent **que** du segment blessé et ne présentent pas de migration intersegmentaire.

5) L'étude histologique des premiers stades de la régénération caudale chez Nereis diversicolor O.F.M. permet de déterminer l'origine tissulaire des cellules régénératrices ectodermiques et endodermiques (respectivement l'épiderme

et l'épithélium intestinal), et de considérer les épithéliums coelomiques et les coelomocytes comme les deux sources possibles des blastocytes mésodermiques. Des expériences d'irradiations X totales ou localisées au segment contigu à la plaie et des greffes de tissus sains dans des Nereis irradiées nous ont permis de démontrer que les blastocytes mésodermiques régénèrent uniquement des structures de même nature, que ces éléments proviennent des épithéliums coelomiques, et de supposer que les coelomocytes n'interviennent pas dans l'histogénèse régénératrice. Des expériences de destruction localisée des épithéliums coelomiques (par irradiation X) et de résections répétées du blastème ou du segment contigu au niveau d'amputation ont permis de résoudre le problème de la localisation de la zone d'où proviennent les blastocytes mésodermiques : ces éléments sont issus du seul segment contigu à la blessure.

6) L'étude histologique de la régénération caudale chez A. foetida Clap. nous a permis de constater que les tissus anciens proches de la blessure, et en particulier l'épiderme et l'épithélium intestinal, régénèrent pour leur propre compte; les blastocytes mésodermiques proviennent vraisemblablement des épithéliums coelomiques. Des irradiations X totales et régionales ont été réalisées. Les résultats obtenus montrent que les blastocytes mésodermiques interviennent dans l'édification des seules structures mésodermiques et qu'ils jouent un rôle important dans la différenciation du blastème; d'autre part, ils prouvent que ces éléments ne proviennent que du segment contigu au front de section.

7) Les résultats obtenus chez ces trois Polychètes (nature et localisation des tissus à l'origine des cellules régénératrices - indépendance histogénétique de ces tissus et des cellules qui en dérivent - rôle morphogénétique du mésoderme) sont discutés et comparés à ceux obtenus chez les Oligochètes.

BIBLIOGRAPHIE

- 1 ABELOOS M., 1932 - La régénération et les problèmes de la morphogenèse. Gauthier-Villars ed., 253 pages.
- 2 ABELOOS M., 1950 a - Régénération postérieure chez Magalia perarmata MARION et BOBR. (Annélide Polychète Hésionide). C.R.Acad.Sc., 230, 477-478.
- 3 ABELOOS M., 1950 b - Régénération et stolonisation épigame chez l'Annélide Syllis prolifera Krohn. C.R.Acad.Sc., 230, 1899 - 1900
- 4 ABELOOS M., 1952 - Régénération chez l'Annélide Pterosyllis formosa Clap. C.R.Soc.Biol., 146, 1750 - 1752.
- 5 ABELOOS M., 1955 - Le problème morphogénétique dans la régénération des Annélides Polychètes. Bull.Soc.Zool.Fr., 80, 228 - 256.
- 6 ABELOOS M., 1965 - L'histogénèse dans la régénération des vers. In V. Kiortsis and H.A.L. Trampusch, "Regeneration in animals and related problems", North-Holl.Co.ed., Amsterdam, 216-226.
- 7 ABELOOS M. et THOUVENY Y., 1960 - Conditions histologiques de la régénération chez l'Annélide Magalia perarmata Marion et Bobr. C.R.Acad.Sc. 250, 3736 - 3737.
- 8 ALLEN J., 1964 - Embryological development of the Syllid Autolytus fasciatus (BOSC.) (Class Polychaeta). Biol. Bull., 127, 187 - 205.
- 9 AVEL M., 1941 - La régénération de la tête des lombrics en l'absence du tube digestif. C.R.Acad.Sc., 213, 409 - 411.

- 10 AVEL M., 1959 - Classe des Annélides Oligochètes. In P.P.Grassé, "Traité de Zoologie", Masson et Cie ed., Paris,5, 1er fasc., 224 - 470.
- 11 AVEL M., 1962 - L'influence du système nerveux sur la régénération chez les Urodèles et les Oligochètes. Bull.Soc.Zool. Fr., 86, 464 - 483.
- 12 BACQ Z.M., ALEXANDER P., 1955 - Principes de Radiobiologie. Masson et Cie ed., Paris, 478 p.
- 13 BAKER P.C., 1964 - Fine structure of mesodermal and endodermal cells of the blastoporal groove in the treefrog, Hyla regilla. Z.Zellforsch. 64, 636 - 654.
- 14 BEHNKE O. et MOE H., 1964 - An electron microscope study of mature and differentiating Paneth cells in the rat, especially of their endoplasmic reticulum and lysosomes. J.Cell. Biol., 22, 633 - 652.
- 15 BERGONIE Y., TRIBONDEAU L., 1906 - Interprétation de quelques résultats de la radiothérapie et essai de fixation rationnelle. C.R.Acad.Sc., 143, 983 - 985.
- 16 BERKALOFF A., 1960 - Contribution à l'étude des tubes de Malpighi et de l'excrétion chez les Insectes. Observations au microscope électronique. Ann.Sc.Nat.Zool., 2, 12^{esér.}, 869 - 947.
- 17 BERRILL N.J., et MEES D., 1936 - Reorganization and regeneration in Sabella. I.Nature of gradient, summation and posterior reorganization. J.exp.Zool., 73, 67 - 83.
- 18 BOILLY B., 1961 - Contribution à l'étude de la régénération antérieure chez Eusyllis blomstrandii Malmgren (Annélide Polychète). Bull.Soc. Zool.Fr., 86, 216 - 229.

- 19 BOILLY B., 1962_a - Inhibition de la régénération caudale par irradiation X chez S.amica Quatrefages (Annélide Polychète). C.R.Acad.Sc., 255, 1414 - 1416.
- 20 BOILLY B., 1962_b - Origine des cellules dans la régénération postérieure de Syllis amica Quatrefages (Annélide Polychète). C.R.Acad.Sc., 255, 2198 - 2200.
- 21 BOILLY B.,¹⁹⁶⁴ Sur la présence de particules plasmatiques dans le sang d'un Syllidien (Syllis amica Quatrefages). Third Europ.Reg.Conf. Electr. Micr., Prague, M.Titlbach éd., Publ.House Czech.Acad.Sc., Prague, B, 223 - 224.
- 22 BOILLY B.,^{1965a} Origine des cellules de régénération antérieure chez Syllis amica Quatrefages (Annélide Polychète). C.R.Acad.Sc., 260, 6714-6715.
- 23 BOILLY B., 1965_b - Origine du mésoderme dans la régénération postérieure chez Syllis amica Quatrefages (Annélide Polychète). C.R.Acad.Sc., 261, 1561 - 1564.
- 24 BOILLY B., 1965_c - Localisation des cellules de régénération chez Nereis diversicolor O.F.Müller (Annélide Polychète). C.R.Acad.Sc., 261, 2009 - 2011.
- 25 BOILLY B., 1967_a - Utilisation du "Thorotrast" dans l'étude de l'origine des cellules de régénération mésodermiques chez une Annélide Polychète. J.Microscopie, 6, 40 a.
- 26 BOILLY B., 1967_b - Contribution à l'étude ultrastructurale de la cuticule épidermique et pharyngienne chez une Annélide Polychète (Syllis amica Quatrefages). J.Microscopie, 6, 469 - 484.

- 27 BOILLY B., 1967_c - Sur la régénération d'un intestin dans la zone pharyngienne chez Syllis amica Quatrefages (Annélide Polychète). Cah.Biol.Mar., 8, 221 - 231.
- 28 BOILLY B., 1967_d - Etude histologique des premiers stades de l'histogénèse dans la régénération caudale et céphalique chez une Annélide Polychète (Syllis amica Quatrefages). Considérations sur l'origine des cellules de régénération. Arch.Anat. Micr., 56, 167 - 204.
- 29 BOILLY B., 1967_e - Rôle du mésoderme dans la différenciation du blastème de régénération chez une Annélide Polychète (Syllis amica Quatrefages). Bull.Soc.Zool.Fr., 92, 331 - 335.
- 30 BOUILLON J., 1960 - Ultrastructure des cellules rénales des Mollusques. I. Gastéropodes pulmonés terrestres (Helix pomatia). Ann.Sc.Nat. Zool., 2, 12^e sér., 719 - 749.
- 31 BOUILLON J. et VANDERMEERSCHE G., 1962 - Electron microscope observations on the excretory organ of the Pulmonary Molluscs. Fifth Inter. Cong. Elect. Micr. Philadelphia, 2, N W 14.
- 32 BRACHET J., 1965 - Le rôle des acides nucléiques dans la morphogénèse. Ann. Biol., 4, 21 - 48.
- 33 BRIEN P., RENIERS-DECOEN M., 1955 - La signification des cellules interstitielles des Hydres d'eau douce et le problème de la réserve embryonnaire. Bull.Biol. Fr.Belg., 89, 259 - 325.
- 34 BROWN D.D., 1966 - The nucleolus and synthesis of ribosomal RNA during oogenesis and embryogenesis of Xenopus laevis. Nat.Cancer Inst. Monogr., 23, 297 - 309.

- 35 BURGESS A.M.C., 1967 - The developmental potentialities of regeneration blastema cell nuclei as determined by nuclear transplantation. *J.Embryol.exp.Morph.*, 18, 27 - 41.
- 36 CARASSO N. et FAVARD P., 1961 - Les ultrastructures cytoplasmiques. In C. Magnan " *Traité de Microscopie électronique*" Hermann ed., Paris, 2, 901 - 1116.
- 37 CHAPRON C., 1965 - Le problème de l'origine des blastocytes au cours de la régénération antérieure chez le Lombricien Eisenia foetida unicolor. *C.R.Acad.Sc.*, 261, 1727 - 1730.
- 38 CHAPRON C., 1966 - Etude au microscope électronique chez le lombricien Eisenia foetida, de la structure du tissu cicatriciel au début de la régénération antérieure. *J.Microscopie*, 5, 273 - 276.
- 39 CHAYEN J., DAVIES H.G. et MILES U.J., 1953 - Observations on some plant interphase nuclei. *Proc. Roy. Soc. London, Series B*, 141, 190-199.
- 40 CLARK M.E., 1965 - Cellular aspects of regeneration in the Polychaeta Nephtys In V. Kiriotsis and H.A.L. Trampusch, "Regeneration in animals and related problems", North-Holl. Publ. Co. ed., Amsterdam, 240 - 248.
- 41 CLARK M.E. et CLARK R.B., 1962 - Growth and Regeneration in Nephtys. *Zool. Jb. Physiol.*, 70, 24 - 90.
- 42 CRESP J., 1957 - Sur l'histogénèse dans la régénération antérieure de Salmacina incrustans (Clap.). *Bull.Soc. Zool. Fr.*, 82, 255-258.
- 43 CRESP J., 1964 - Etudes expérimentales et histologiques sur la régénération et le bourgeonnement chez les Serpulides Hydroïdes norvegica (Gunn.) et Salmacina incrustans (Claparède). *Bull.Biol.Fr.et Belg.*, 98, 3 - 152.

- 44 CROWELL P.S., 1937 - Factors affecting regeneration in earthworms. J.exp. Zool., 76, 1 - 33.
- 45 DAVIES L.E., BURNETT A.L., HAYNES J.F. et MUMAW V.R., 1966 - A histological and ultrastructural study of dedifferentiation and redifferentiation of digestive and gland cells in Hydra viridis. Develop. Biol., 14, 307 - 329.
- 46 DEHORNE A., 1933 - La schizométabolie et les segments tétragemmes de Dodecaceria caulleryi N. sp. Bull. Biol. Fr. et Belg., 67, 298 - 326.
- 47 DEHORNE A., 1949 - Les premières phases de la régénération postérieure de Nereis diversicolor. Arch.Zool. exp. gén., 86, 97 - 102.
- 48 DEHORNE A., 1949 - Les premières phases de la régénération postérieure chez Sabellaria. Bull. Inst. Ocean., 952, 1 - 4.
- 49 DELYE P., 1962 - Recherches sur la régénération de la trompe pharyngienne chez les Syllinae (Syllidiens, Annélides Polychètes). Ann. Sc.Nat.Zool., 4, 12e ser., 527 - 541.
- 50 DONADEY C., 1966 - Contribution à l'étude du rôle excréteur des coecums digestifs des crustacés. Etude au microscope électronique sur Sphaeroma serratum (Crustacea Isopoda). C.R.Acad.Sc., 263, 1401 - 1404.
- 51 DRIESSENS J., DUPONT A., DEMAILLE A., PUVION E., PUVION F., 1965 - Le blocage du système réticulo-endothélial chez le rat Wistar. I. Etude cytologique au microscope électronique de la "thorotrastose" expérimentale à fortes doses. C.R.Soc.Biol., 159, 2373 -2376.
- 52 DUBOIS F., 1949 - Contribution à l'étude de la migration des cellules de régénération chez les Planaires dulcicoles. Bull.Biol.Fr. et Belg., 83, 213 - 283.

- 53 DUBOIS F., et WOLFF E., 1947 - Sur une méthode d'irradiation localisée permettant de mettre en évidence la migration des cellules de régénération chez les Planaires. C.R.Soc.Biol., 141, 903-906.
- 54 DURAND A., 1959 - Sur la régénération postérieure de l'Annélide Dasychone lucullana (delle Chiaje). C.R.Acad.Sc., 249, 185 - 186.
- 55 DURCHON M., 1959 - Contribution ^{l'étude de} à la stolonisation chez les Syllidiens (Annélides Polychètes) : I. Syllinae. Bull.Biol.Fr et Belg., 93, 155 - 219.
- 56 DURCHON M., 1967 - Rôle du système nerveux dans la régénération chez les Annélides. Bull.Soc.Zool.Fr., 92, 319 - 331.
- 57 EMERY C., 1886 - La régénération des segments postérieurs du corps chez quelques Annélides Polychètes. Arch.Ital.Biol., 7, 395 - 403.
- 58 FAULKNER G.H., 1930 - The anatomy and the histology of bud formation in the Serpulid Filograna implexa, together with some cytological observations on the nuclei of the neoblasts. J.Linn.Soc., 37, 109 - 190.
- 59 FAULKNER G.H., 1932 - The histology of posterior regeneration in the Polychaete Chaetopterus variopedatus. J. morphol., 53, 23 - 58.
- 60 FAUVEL P., 1959 - Classe des Annélides Polychètes. Annelida Polychaeta (Grube, 1851). In.P.P.Grassé " Traité de Zoologie ", Masson et Cie ed., Paris, 5, 1er fasc., 13 - 196.
- 61 FRUHLING L., GROS C.M., BATZENSCHLAGER A., DORNER M., 1956 - La maladie du "Thorotrast". III. Etude anatomo-clinique des observations personnelles. Ann.Med., 57, 409 - 486.

- 62 FULLER H., 1966 - Elektronenmikroskopische Untersuchungen der Malpighischen Gefäße von Lithobius forficatus (L). Z.wiss.Zool., 173, p.191-217.
- 63 GERSCH M., WOHLRABE K., 1965 - Experimentelle Untersuchungen über die Beziehungen zwischen Neurosekretion und Regeneration bei Enchytraeus. Zool.Jb.Physiol., 71, 393 - 413.
- 64 GRIERSON A.L., QUERNER H., 1965 - Der Einfluß von Röntgenstrahlen auf Ophryotrocha puerilis. Z.Naturforsch., 20, 350 - 355.
- 65 HAMMETT F.S., 1933 - Germ layer origin and mitotic potentiality of regenerating tissues in Clymenella torquata. Protoplasma, 20, 161 - 168.
- 66 HAY E.D., 1958 - The fine structure of blastema cells and differentiating cartilage cells regenerating limbs of Amblystoma larvae. J.Biophys.Biochem. Cytol., 4, 583 - 592.
- 67 HAY E.D., 1959_a - Electron microscopic observations of muscle dedifferentiation in regenerating Amblystoma limbs. Develop. Biol., 1, 555-585.
- 68 HAY E.D. 1959_b - Fine structure of dedifferentiating muscle in regenerating salamander limbs. Anat.Rec., 133, 287.
- 69 HAY E.D., 1960 - The fine structure of nerves in the epidermis of regenerating salamander limbs. Exp.Cell.Res., 19, 299 - 317.
- 70 HAY E.D., 1962 - Cytological studies of dedifferentiation and differentiation in regenerating amphibian limbs. In Rudnick D. "Regeneration", Ronald Press Company ed., New York, 177 - 210.
- 71 HERLANT-MEEWIS H., 1946_a - Contribution à l'étude de la régénération chez les Oligochètes. Reconstitution du germen chez Lumbricillus lineatus (Enchytraeides). Première partie : les éléments régénérateurs. Ann.Soc.Roy.Zool.Belg., 77, 5 - 47.

- 72 HERLANT-MEEWIS H., 1946_b - Contribution à l'étude de la régénération chez les Oligochètes. Reconstitution du germe chez Lumbricillus lineatus (Enchytraeides). (Deuxième partie). Arch.Biol., 57, 197 - 306.
- 73 HERLANT-MEEWIS H., 1953 - Contribution à l'étude de la régénération chez les Oligochètes Aelosomatidae. Ann.Soc.Roy.Zool.Belg., 84, 117-157.
- 74 HERLANT-MEEWIS H., 1954 - Etude histologique des Aelosomatidae au cours de la reproduction asexuée. Arch.Biol., 65, 73 - 134.
- 75 HERLANT-MEEWIS H., 1958 - La reproduction asexuée chez les Annélides. Ann.Biol. 34, 133 - 166.
- 76 HERLANT-MEEWIS H., et DELIGNE J., 1965 - Influence of the nervous system on regeneration in Annelids. In V.Kiortsis and H.A.L. Trampusch, "Regeneration in animals and related problems", North-Holl.Publ.Co ed., Amsterdam, 228 - 238.
- 77 HERLANT-MEEWIS H. et NOKIN A., 1962-1963 - Cicatrisation et premiers stades de regeneration pygidiale chez Nereis diversicolor. Ann Soc. Roy.Zool.Belg., 93, 137 - 154.
- 78 HERPIN R., 1926 - Recherches biologiques sur la reproduction et le développement de quelques Annélides Polychètes. Bull.Soc.Sci.Nat.Ouest-France, 4e ser., 5, 1 - 250.
- 79 HOFMANN D.K., 1966 - Untersuchungen zur Regeneration des Hinterendes bei Platynereis dumerilii (Audouin et Milne-Edwards) (Annelida, Polychaeta). Zool.Jb. Physiol., 72, 374 - 430.
- 80 HUNT H.R., 1919 - Regenerative phenomena following the removal of the digestive tube and the nerve cord of earthworms. Bull.Mus.comp. Zool.Harv., 62, 571 - 581.

- 81 IVANOW P., 1907 - Die Regeneration der Segmente bei den Polychäten. Z.wiss. Zool., 85, 1 - 47.
- 82 IVANOW P., 1908 - Die Regeneration des vorderen and hinteren Körperendes bei Spirographis spallanzanii Viv. Z.wiss.Zool., 91, 511-558.
- 83 JANDA V., 1929 - Über einen besonderen Fall von Heteromorphose und andere künstlich erzeugte Abnormitäten bei Criodrilus lacuum Hoffm. Roux'Archiv., 114, 587 - 592.
- 84 JANDA V., 1935 - Über den Einfluß der Radiumstrahlen auf die reparativen Vorgänge bei einigen Oligochaeten (Criodrilus lacuum Hoffm; Rhynchelmis limosella Hoffm. und Lumbriculus variegatus Müll). Zool.Anz., 110, 291 - 301.
- 85 JOHNSON F.R., 1964 - Some aspects of the cytology of wound healing. Arch. Biol., 75, 595 - 623.
- 86 JYSSUM S., 1958 - Investigations of the neoblasts and oogenesis in the Serpulid Pomatoceros triqueter L. Nytt. Mag. Zool. Norge., 5, 5 - 10.
- 87 KARASAKI S., 1964 - An electron microscopic study of wolffian lens regeneration in the adult newt. J.Ultrastructure Res., 11, 246 - 273.
- 88 KARASAKI S., 1965 - Electron microscopic examination of the sites of nuclear RNA synthesis during amphibian embryogenesis. J.Cell.Biol., 26, 937 - 958.
- 89 KARNOVSKY M.Y., 1961 - Simple methods for "staining with lead" at high pH in electron microscopy. J.Biophys.Biochem.Cytol., 11, 729 - 732.

- 90 KAWAKAMI I.K., 1961 - Experimental analysis of factors influencing regeneration in the earthworm. *Japan.J.Zool.*, 13, 141 - 164.
- 91 KIORTSIS V., et MORAITOU M., 1965 - Factors of regeneration in Spirographis spallanzanii. In V.Kiortsis and H.A.L. Trampusch, "Regeneration in animals and related problems", North-Holl.Publ.Co.ed., Amsterdam, 250 - 260.
- 92 KOECHLIN N., 1964 - Régénération des néphridies thoraciques de Sabella pavonina Savigny (Annélide Polychète). *Cah.Biol.Mar.*, 5, 367-383.
- 93 KRECKER F.H., 1910 - Some phenomena of regeneration in Limnodrilus and related forms. *Z.wiss.Zool.*, 95, 383 - 450.
- 94 LA GRECA M., 1953 Osservazioni sulla diversa capacità di rigenerazione di alcuni Sabelliformi e sull'importanza degli elementi mesodermici nel processo riparativo (Annelida Polychaeta). *Ann. Ist. Mus. Zool. Univ. Napoli.*, 5, 1 - 8.
- 95 LA GRECA M., 1953 - I fenomeni di rigenerazione nei Polichete Sabelliformi. *Ann. Ist. Sup. Sc. Let. S. Chiara Napoli.*, 4, 275 - 306.
- 96 LANGHAMMER H., 1928 - Teilungs und Regenerations-Vorgänge bei Procerastea halleziana und ihre Beziehungen zu der Stolonisation von Autolytus prolifer. *Wiss. Meeresunt. Abt. Helgoland*, 17, 1 - 44.
- 97 LAVALLARD R., 1967 - Ultrastructure des cellules prismatiques de l'épithélium intestinal chez Peripatus acacioi Marcus et Marcus. *C.R. Acad. Sc.*, 264, 929 - 932.
- 98 LAZARD L., 1965 - Régénération de membres chez l'Axolotl à partir de greffes embryonnaires. In V.Kiortsis and H.A.L. Trampusch : "Regeneration in animals and related problems", North.Holl.Co.ed. Amsterdam. 396 - 402.

- 99 LE MOIGNE A., 1966 - Etude au microscope électronique de cellules d'embryons de Polycelis (Turbellarié, Triclade), au début de leur développement. C.R.Acad.Sc., 263, 550 - 553.
- 100 LE MOIGNE A., SAUZIN M.J., et LENDER T., 1966 - Comparaison de l'ultrastructure du néoblaste et de la cellule embryonnaire des Planaires d'eau douce. C.R.Acad.Sc., 263, 627 - 629.
- 101 LE MOIGNE A., SAUZIN M.J., LENDER T., et DELAVAILLANT R., 1965 - Quelques aspects des ultrastructures du blastème de régénération et des tissus voisins chez Dugesia gonocephala (Turbellarié, Triclade). C.R.Soc.Biol., 159, 530 - 534.
- 102 LENTZ T.L., 1965 - The fine structure of differentiating interstitial cells in Hydra. Z.Zellforsch., 67, 547 - 560.
- 103 LENTZ T.L., 1967 - Rhabdite formation in Planaria : the rôle of microtubules. J.Ultrastructure Res., 17, 114 - 126.
- 104 LENTZ T.L., et TRINKAUS J.P., 1967 - A fine structural study of cytodifferentiation during cleavage, blastula, and gastrula stades of Fundulus heteroclitus. J. Cell.Biol., 32, 121 - 138.
- 105 LUFT J.H., 1961 - Improvements in epoxy resin embedding methods. J. Biophys. Biochem. Cytol., 9, 409 - 414.
- 106 MALAQUIN A., 1893 - Recherches sur les Syllidiens. Morphologie, anatomie, reproduction, développement. Mem.Soc.Sci.Arts,Lille 4e ser., 18, 1 - 477.
- 107 MALAQUIN A., 1905 - Les phénomènes histogéniques de la reproduction asexuelle chez les Salmacines et les Filogranes. C.R.Acad.Sc. 140, 1484 - 1487.

- 108 MALAQUIN A., 1925 - Les cellules germinales (gonocytes) sont, au cours de la reproduction asexuée de Salmacina dysteri Huxley, la source de la prolifération blastogénique. Remarques à ce sujet sur l'histogenèse des néoplasmes. C.R.Acad.Sc., 180, 873 - 875.
- 109 MARINOZZI V., 1964 - Cytochimie ultrastructurale du nucléole-RNA et protéines intranucléolaires. J.Ultrastructure Res., 10, 433 - 456.
- 110 MARKS P.A., RIFKIND R.A. et DANON D., 1963 - Polyribosomes and protein synthesis during reticulocyte maturation in vitro. Proc.Nat.Acad. Sci.USA, 50, 336 - 342.
- 111 MICHEL A., 1898 - Recherches sur la régénération chez les Annélides. Bull.Sci. Fr.Belg., 31, 245 - 420.
- 112 MILLONIG G., 1962 - Further observations on a phosphate buffer for osmium solution in fixation. Fifth Inter. Cong.Elect.Micr., Philadelphia Acad. Press ed., New-York, 2, p.8.
- 113 MORGAN T.H., 1902 - Experimental studies in the internal factors of regeneration in the earthworm. Roux'Archiv., 14, 562 - 591.
- 114 NØRREVANG A., 1966 - Ultrastructure and function of the renal vesicles cells in Ascidella aspersa (Ascididae, Tunicata). Sixth. Inter.Cong. Elect.Micr.Kyoto, Maruzen Co., Ltd Tokyo., 2, 669 - 670.
- 115 NOVIKOFF A.B., 1960 - Biochemical and staining reactions of cytoplasmic constituents in "Developing Cell Systems and their Control", D. Rudnick ed., Ronald Press Co., New-York, 167 - 203.
- 116 NOVIKOFF A.B., 1963 - Lysosomes in the physiology and pathology of cells : contribution of staining methods in "Ciba Fondation Symposium on Lysosomes", A.V. de Reuck et M.P. Cameron ed., J.et A.Churchill, Londres, 36 - 73.

- 117 NUSBAUM J., 1905 - Vergleichende Regenerationsstudien. Über die Regeneration der Polychaeten Amphiglena mediterranea. Leyd. und Nerine cirratulus d. Chiaje. Z.wiss.Zool., 79, 222 - 307.
- 118 NUSBAUM J., 1908 - Weitere Regenerationsstudien an Polychaeten. Über Regeneration von Nereis diversicolor O.F.Müller. Z.wiss.Zool., 89, 109 - 163.
- 119 O'BRIEN J.P., 1942 - Studies on the effects of X-rays on regeneration in the fragmenting Oligochaete Nais paraguayensis. Growth, 6, 203 - 229.
- 120 OKADA Y.K., 1929 - Regeneration and fragmentation in the Syllidian Polychaetes. Roux'Archiv., 115, 542 - 600.
- 121 OKADA Y.K., 1934 - Régénération de la tête chez le Polychète Myxicola aesthetica (Clap.). Bull.Biol.Fr.et Belg., 68, 340 - 381.
- 122 OKADA Y.K., 1938 - An internal factor controlling posterior regeneration in syllid polychaetes. J.Mar.Biol.Ass.U.K., 23, 75 - 78.
- 123 PAINTER B.T., 1940 - The location of factors of head regeneration in the earthworm. Biol.Bull., 78, 463 - 485.
- 124 PEDERSEN K.J., 1959 - Cytological studies on the Planarian neoblast. Z.Zellforsch., 50, 799 - 817.
- 125 PENNERS A., 1937 - Regulation am Keim von Tubifex rivulorum nach Ausschaltung des ektodermalen Keimstreifs. Z.wiss. Zool., 149, 86 - 130.
- 126 PENNERS A., 1938 - Abhängigkeit der Formbildung vom Mesoderm im Tubifex-embryo. Z.wiss.Zool., 150, 305 - 357.
- 127 PERRY R.P., 1964 - Role of the nucleolus in ribonucleic acid metabolism and other cellular processes. Nat.Cancer Inst.Monogr., 14, 73 - 89.

- 128 PIERANTONI U., 1903 - La gestazione esterna. Contributo alla biologia ed alla embriologia dei Sillidi. Arch. Zool., 1, 231 - 252.
- 129 PFLUGFELDER O., 1929 - Histogenetische und Organogenetische Prozesse bei der Regeneration polychaeter Anneliden. I. Regeneration des Vorderendes von Diopatra amboinensis. Z.wiss.Zool., 133, 121 - 210.
- 130 PROBST G., 1930 - Regenerationsstudien an Anneliden und Branchiostoma lanceolatum. Rev.Suisse Zool. 37, 343 - 351.
- 131 PROBST G., 1931_a - Beiträge zur Regeneration der Anneliden. I. Die Herkunft des Regenerationsmaterials bei der Regeneration des kaudalen Körperendes von Aricia foetida Claparède. Roux'Archiv., 124, 369 - 403.
- 132 PROBST G., 1931_b - Sull'origine del materiale di regenerazione nei Polichete. Boll.Soc.Ital.Biol.Sper., 7, 1 - 2.
- 133 PROBST G., 1931_c - Vergleichende Untersuchungen über die Herkunft der Regenerationsmaterials bei den Polychäten. Schweiz.Naturf.Ges. Verh., 112, 4 - 5.
- 134 PROBST G., 1932 - Studien über die Regeneration der Anneliden. II. Die Anfangsstadien der Regeneration des Körperendes von Oweinia fusiformis D. Ch., nebst einigen Beobachtungen über Strukturelle Umgestaltungen in unverletzten Abdominalsegmenten zur Zeit der Gonadenreifung. Roux'Archiv., 127, 105 - 150.
- 135 PRUVOT G., 1890 - Sur la régénération des parties amputées comparée à la stolonisation normale chez les Syllidiens. C.R.Ass.Franc.Avanc. Sc., XIX session, 521-526.
- 136 RANDOLPH H., 1892 - The regeneration of the tail in Lumbriculus. J.Morphol., 7, 317 - 344.

- 137 REYNOLDS E.S., 1963 - The use of lead citrate of high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy. *J.Cell.Biol.*, 17, 208 - 212.
- 138 ROMIEU M., 1923 - Recherches histophysiologiques sur le sang et sur le corps cardiaque des Annélides Polychètes. *Arch.Morph.Gén. et Exp.*, 17, 1 - 339.
- 139 ROUX H., 1960 - Notions de Radiobiologie. Masson et Cie. ed., Paris, 175 pages.
- 140 SABATINI D.D., BENSCH K.G. et BARNETT R.J., 1963 - Cytochemistry and electron microscopy. The preservation of cellular ultrastructure and enzymatic activity by aldehyde fixation. *J.Cell.Biol.*, 17, 19-58.
- 141 SALPETER M.M. et SINGER M., 1960_a - The fine structure of mesenchymatous cells in the regenerating forelimb of the adult newt Triturus. *Develop. Biol.*, 2, 516 - 534.
- 142 SALPETER M.M. et SINGER M., 1960_b - Differentiation of the submicroscopic adepidermal membrane during limb regeneration in adult Triturus including a note on the use of the term "basement membrane". *Anat. Record*, 136, 27 - 40.
- 143 SAUZIN M.J., 1966 - Etude au microscope électronique du néoblaste de la Planaire Dugesia gonocephala (Turbellarié, Triclade), et de ses changements ultrastructuraux au cours des premiers stades de la régénération. *C.R.Acad.Sc.*, 263, 605 - 608.
- 144 SCHULTZ E., 1899 - Aus dem Gebiete der Regeneration. Über Regeneration der hinteren Körperhälfte bei Polychaeten. *Z.wiss.Zool.*, 66, 605 - 624.
- 145 SICARD-BRUSLE S., 1957 - Source de l'histogenèse dans la régénération caudale de l'Annélide Nereis massiliensis Moquin-Tandon. *C.R.Acad.Sc.*, 245, 1668 - 1669.

- 146 SICHEL G., 1965 - Le fasi iniziali della rigenerazione posteriore in Hydroïdes norvegica (Gunn). Boll. Accad. Gioenia Sci. Nat. Catania, 8, 485 - 495.
- 147 STEPHAN-DUBOIS F., 1951 - Migrations et potentialités/histogénétiques des cellules indifférenciées chez les Hydres, les Planaires et les Oligochètes. Ann. Biol., 27, 733 - 753.
- 148 STEPHAN-DUBOIS F., 1954 - Les néoblastes dans la régénération postérieure des Oligochètes Microdrilés.. Bull. Biol. Fr. et Belg., 88, 181-247.
- 149 STEPHAN-DUBOIS F., 1955 - Régénération postérieure de Nereis diversicolor O.F. Müller après irradiation régionale aux rayons X. C.R. Acad. Sc., 241, 1175 - 1177.
- 150 STEPHAN-DUBOIS F., 1956 - Evolution du régénérat caudal de Nereis diversicolor après irradiation régionale aux rayons X. Bull. Soc. Zool. Fr., 81, 199 - 207.
- 151 STEPHAN-DUBOIS F., 1958 - Le rôle des leucocytes dans la régénération caudale de Nereis diversicolor. Arch. Anat. Micr., 47, 605 - 652.
- 152 STEPHAN-DUBOIS F., 1964 - Régénérats antérieurs de l'Oligochète Lumbriculus variegatus, colonisés par des néoblastes "radiolésés" ou non. Bull. Biol. Fr. et Belg., 98, 693 - 718.
- 153 STOLTE H.A., 1933 - Die Herkunft des Regenerationsmaterials in der Teilungszone von Dero limosa und das Problem der Aktivierung dieser Zellen. Z. wiss. Zool., 143, 156 - 200.
- 154 STONE R.G., 1933 - Radium radiation effects on regeneration in Euratella chamberlini. Carnegie Inst. Washington, 435, 157 - 166.
- 155 TAYLOR R.L., 1967 - A fibrous banded structure in a crop lesion of the cockroach Leucophaea maderae. J. Ultrastructure Res., 19, 130-141.

- 156 THOUVENY Y., 1958 - Sur l'origine des tissus dans la régénération antérieure du Polychète Polydora flava (Clap.). Bull.Soc.Zool.Fr., 83,107-111.
- 157 THOUVENY Y., 1958 - Sur l'origine des tissus dans la régénération caudale de Polydora flava (Clap.).C.R.Acad.Sc., 247, 137 - 139.
- 158 THOUVENY Y., 1959 - Origine des cellules nerveuses dans la régénération de l'Annélide Polydora flava (Clap.). Bull.Soc.Zool.Fr., 84,439-445.
- 159 THOUVENY Y., 1961 - Sur l'origine des tissus dans la régénération des Annélides Polydora flava Clap. et Magalia perarmata Marion et Bobr.Ann.Fac. Sc.Marseille, 31, 45 - 69.
- 160 THOUVENY Y., 1963 - Sur les premières phases de la régénération postérieure de l'Aricien Scoloplos armiger O.F.M. Bull.Soc.Zool.Fr., 88,86 - 94.
- 161 THOUVENY Y., 1964 - Inhibition par les rayons X des régénérations antérieure et postérieure chez Polydora flava (Clap).
- 162 THOUVENY Y., 1967 - Les systèmes histogénétiques et la dédifférenciation cellulaire dans la morphogenèse des Annélides Polychètes. Arch. Zool.exp.gén., 108, 347 - 386.
- 163 TUBIANA M., DUTREIX Y., DUTREIX A., JOCKEY P., 1963 - Bases physiques de la radiothérapie et de la radiobiologie. Masson et Cie ed., 811 pages.
- 164 VAN GANSEN P., 1963 - Structures et fonctions du tube digestif du Lombricien Eisenia foetida Savigny. Imprimerie Médicale et Scientifique, Bruxelles, 120 pages.
- 165 VANNINI E., 1947 - Neoplasti e rigenerazione dei segmenti genitali nel serpulide ermafrodita Salmacina incrustans Clap. Atti.Ist.Veneto Sc. Lett.Arti., 105, 50 - 56.

- 166 WAINNER J.R., KNOFF P.M. et RICH A., 1963 - A multiple ribosomal structure in protein synthesis. Proc.Nat.Acad.Sci.USA, 49, 122 - 129.
- 167 WISSOCQ J.C., 1967 - Etude ultrastructurale de l'évolution des muscles longitudinaux lors de la stolonisation expérimentale de Syllis amica (Quatrefages) (Annélide Polychète). Z.Zellforsch., 83, 449 - 467.
- 168 WOLFF E., 1961 - Migrations et contacts cellulaires dans la régénération. Exp.Cell.Res., Suppl.8, 246 - 259.
- 169 WOLFF E., 1967 - Les facteurs de la différenciation embryonnaire. Revue Fr. Etud.Clin.Biol., 12, 223 - 237.
- 170 WOLFF E., DUBOIS F., 1947 - La migration des cellules de régénération et les facteurs qui la provoquent chez les Planaires. C.R.Acad.Sc., 224, 1387 - 1388.

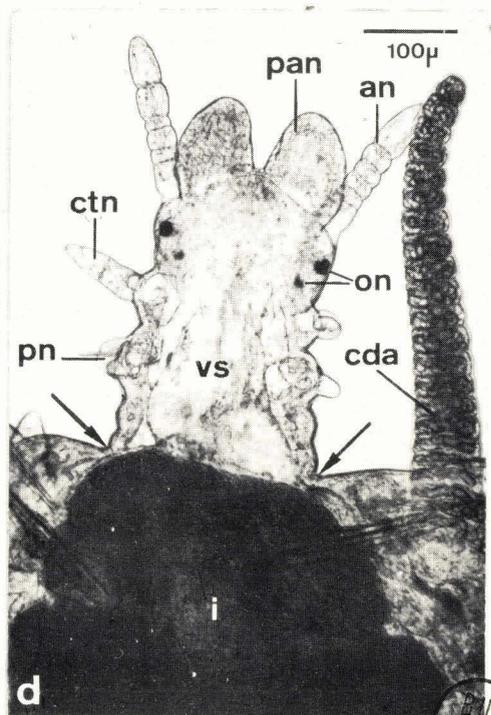
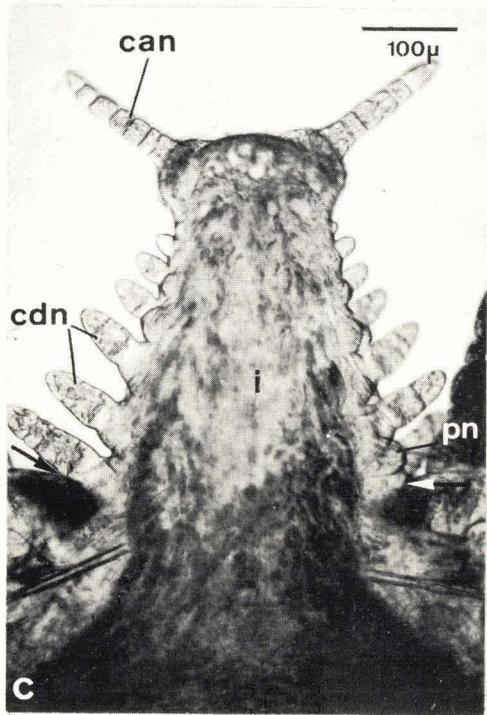
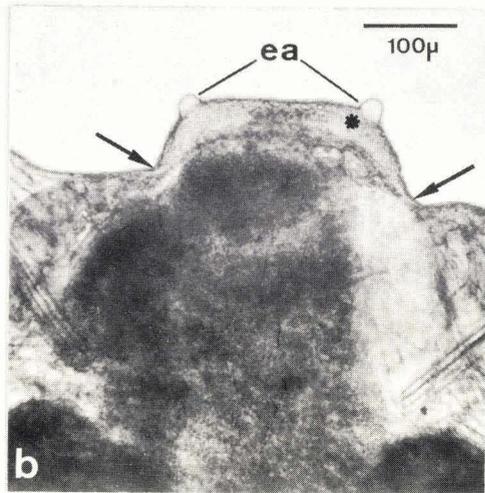
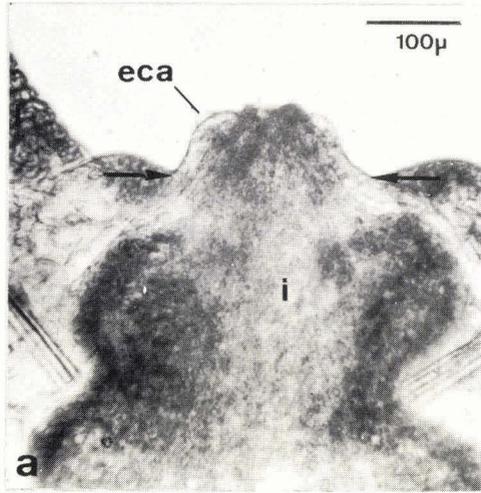


P L A N C H E I

Régénération céphalique et caudale chez S.amica. Observations in vivo.
(Les flèches indiquent le niveau d'amputation).

- Fig. a - Régénération caudale, 4 jours après la section. Remarquer la forme caractéristique du blastème, la présence de l'intestin (i), les ébauches des cirres anaux (eca).
- Fig. b - Régénération céphalique, 4 jours après la section. Remarquer l'épaisse couche de tissu limitant le blastème (astérisque). Les ébauches des antennes latérales sont visibles (ea).
- Fig. c - Régénération caudale, 12 jours après la section. Un certain nombre de cirres parapodiaux dorsaux (cdn) sont apparus; un parapode est pratiquement complètement différencié (pn).
- Fig. d - Régénération céphalique, 20 jours après la section. Le prostomium, le péristomium et le premier segment sétigère sont différenciés. Noter la présence du vaisseau sanguin dans le régénérat.

can : cirre anal néoformé; cda : cirre dorsal ancien; cdn : cirre dorsal néoformé; ctn : cirre tentaculaire néoformé; ea : ébauche d'antenne; eca : ébauche de cirre anal; i : intestin; on : oeil néoformé; pan : palpe néoformé; pn : parapode néoformé; vs : vaisseau sanguin.



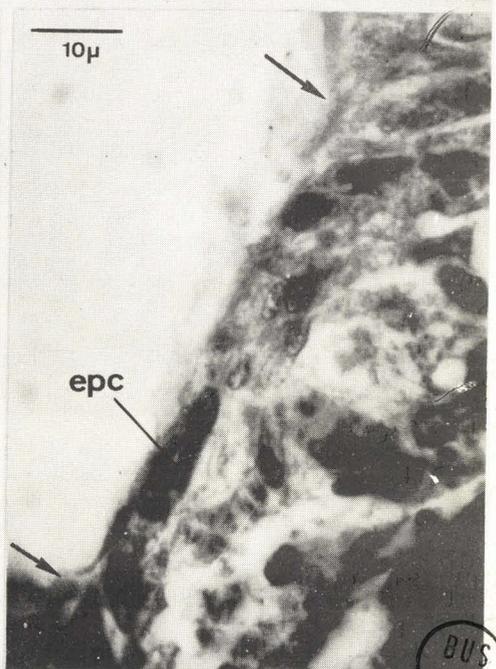
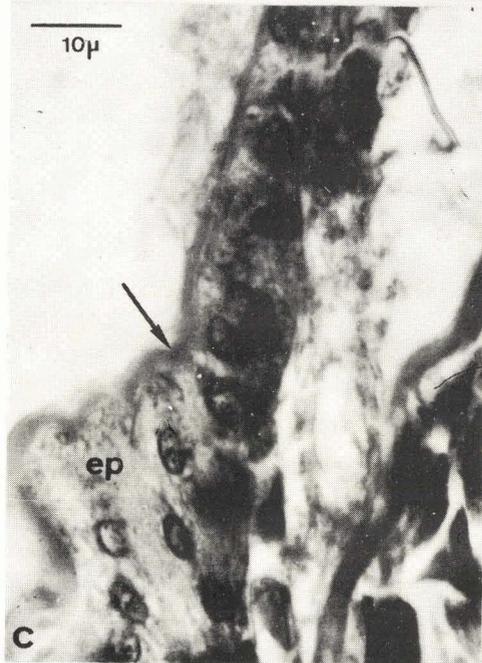
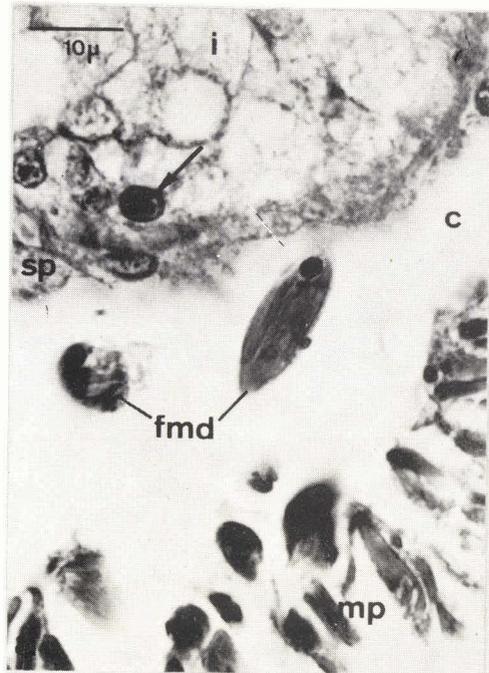
SVS
LILLE

P L A N C H E I I

Régénération caudale chez S.amica (24 heures après la section).

- Fig.a - Coupe transversale dans le dernier segment. Remarquer les fibres musculaires en dégénérescence; l'une d'elles contient deux sphérules denses. Certaines cellules de l'épithélium intestinal sont activées (flèche).
- Fig.b - Coupe frontale. Epiderme proche de la plaie, non impliqué dans la cicatrisation.
- Fig.c - Même coupe que Fig.b, Epiderme situé au bord de la plaie (la flèche indique le niveau de section). Noter l'orientation des cellules épidermiques (comparer avec fig.b).
- Fig.d - Même coupe que Fig.b. Epiderme cicatriciel (les flèches indiquent le niveau de section). Remarquer l'orientation des cellules épidermiques cicatricielles.

c : coelome; cu : cuticule; ep : épiderme; epc : épiderme cicatriciel;
fmd : fibre musculaire en dégénérescence; i : intestin; mp : muscles pariétaux; sp : splanchnopleure.

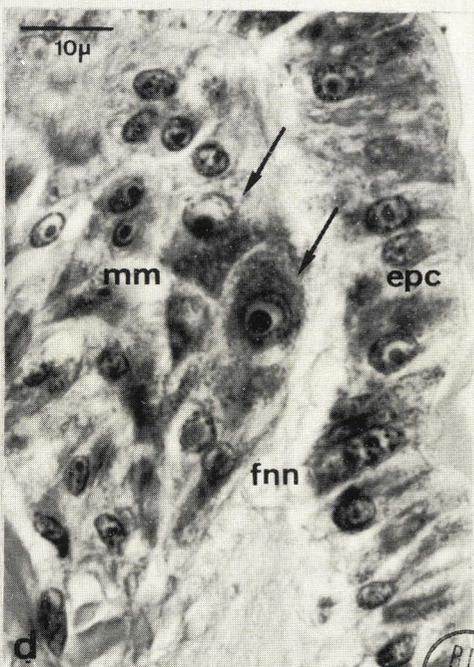
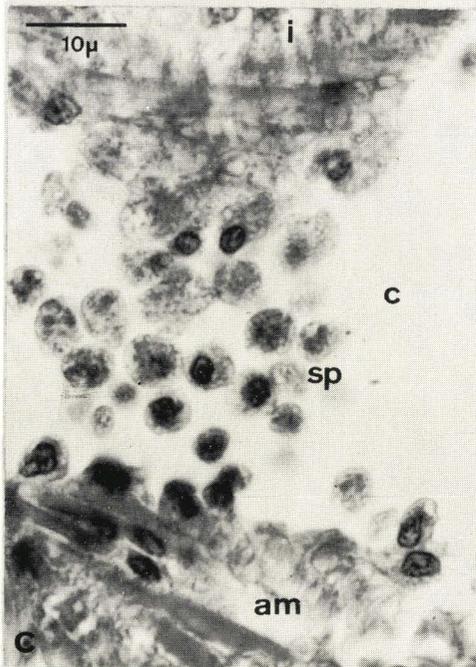
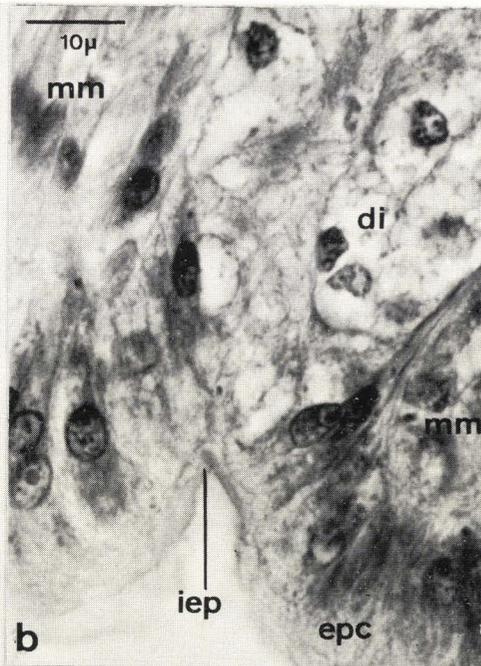
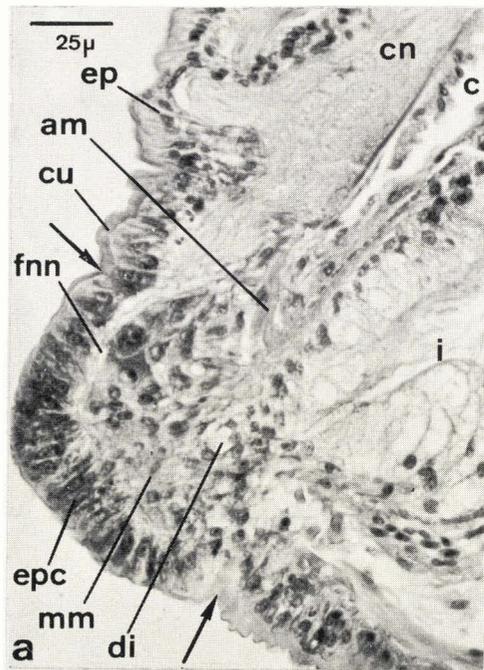


BUS
LITTLE

P L A N C H E III

Régénération caudale chez S.amica (3 jours après la section).

- Fig.a - Vue d'ensemble de l'extrémité du tronçon (coupe sagittale).
Les flèches indiquent le niveau de section. Remarquer le diverticule intestinal (di), le massif mésodermique (mm), les fibres nerveuses néoformées (fnn).
- Fig.b - Jonction entre l'épiderme cicatriciel et le diverticule intestinal (coupe sagittale).
- Fig.c - Extrémité du dernier segment (coupe parasagittale). Remarquer les cellules splanchnopleurales (sp).
- Fig.d - Vue de détail du massif mésodermique (coupe sagittale). Noter l'aspect "néoblastique" de certaines cellules (flèches) : nucléole de grande taille, zone périnucléolaire claire, cytoplasme basophile.
- am : anneau musculaire; c : coelome; cn : chaîne nerveuse; cu : cuticule; di : diverticule intestinal; ép : épiderme; epc : épiderme cicatriciel; fnn : fibres nerveuses néoformées; eip : ébauche d'invasion proctodéale; i : intestin; mm : massif mésodermique; sp : cellules splanchnopleurales.



PUS
LILLE

P L A N C H E IV

Régénération céphalique chez S.amica (3 jours après la section).

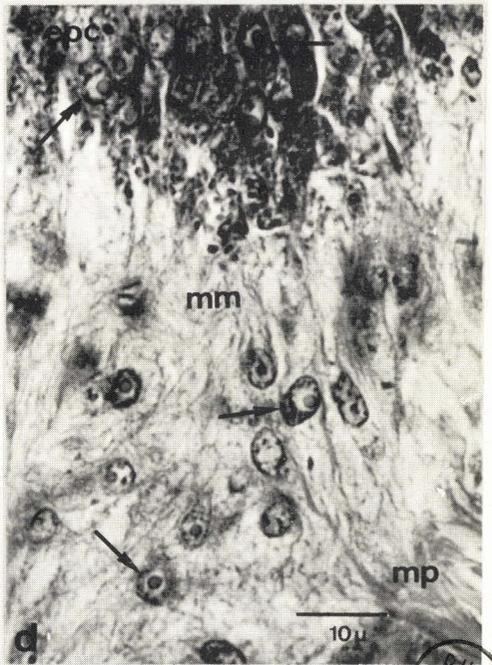
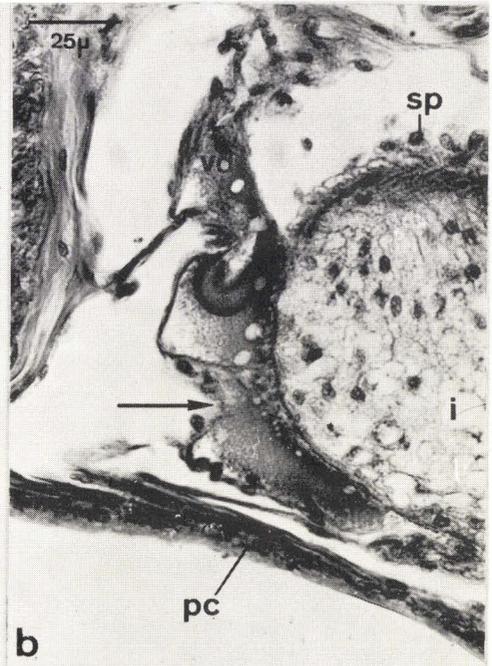
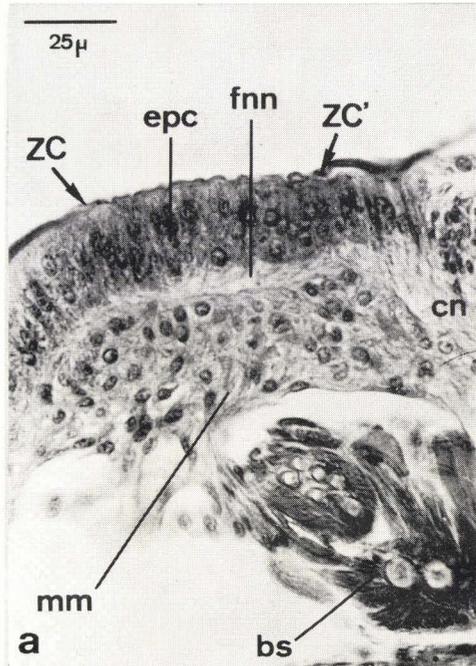
Fig.a - Coupe sagittale. Vue d'ensemble de l'extrémité antérieure du tronçon. Remarquer l'épiderme cicatriciel (epc); le massif mésodermique (mm) et les fibres nerveuses néoformées (fnn).

Fig.b - Coupe sagittale. Vue d'ensemble de l'extrémité antérieure de l'intestin. Remarquer la soudure des vaisseaux sanguins, dorsal et ventral (flèche).

Fig.c - Coupe sagittale. Vue de détail du massif mésodermique (mm) et de l'épiderme cicatriciel (epc). Remarquer les mitoses (flèches) et la cellule épidermique activée (astérisque).

Fig.d - Coupe transversale. Vue de détail du massif mésodermique (mm) à proximité du front de section. Noter l'activation des cellules mésodermiques et épidermiques (flèches).

b : basale; bs : bulbe sétigère; cn : chaîne nerveuse; cu : cuticule;
epc : épiderme cicatriciel; fnn : fibres nerveuses néoformées; i :
intestin; mm : massif mésodermique; mp : muscles pariétaux; pc : paroi
du corps; sp : splanchnopleure; vd : vaisseau dorsal; vv : vaisseau
ventral; ZC-ZC' : limites de la zone cicatricielle.



BUS
LILLE

P L A N C H E V

S. amica non sectionné.

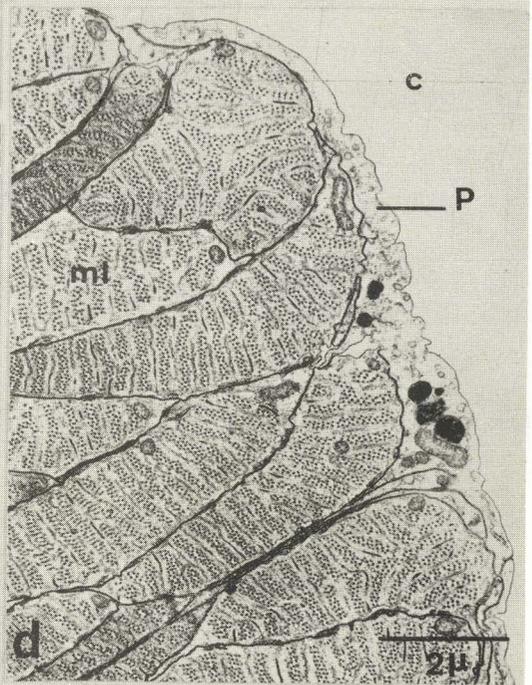
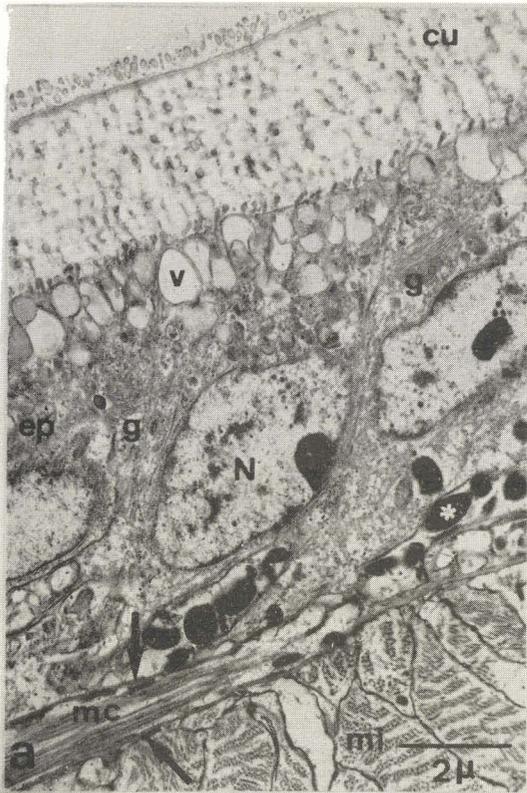
Fig. a - Paroi du corps (coupe transversale). Noter les différentes couches : l'épiderme (ep) limité extérieurement par une cuticule (cu), la musculature circulaire (mc) et longitudinale (ml); entre chaque tissu existe une basale (flèches). Remarquer les vacuoles sous-cuticulaires (v), les granules pigmentaires à la base de l'épiderme (astérisques); g : dictyosome; N: noyau.

Fig. b - Epithélium coelomique péri-intestinal ou splanchnopleure (sp) à proximité d'un dissépinement (coupe tangentielle); c : coelome ; mi : musculature péri-intestinale ; N : noyau.

Fig. c - Epiderme (coupe oblique). Remarquer l'abondance des tonofilaments (t); N : noyau.

Fig. d - Epithélium coelomique pariétal ou pariétopleure (p) (coupe transversale); c : coelome; ml : musculature longitudinale.

Fig. e - Fibres musculaires (fm). Remarquer les extrémités de fibres (flèche) dépourvues de myofilaments et riches en mitochondries (m).



21503
LILLE

P L A N C H E VI

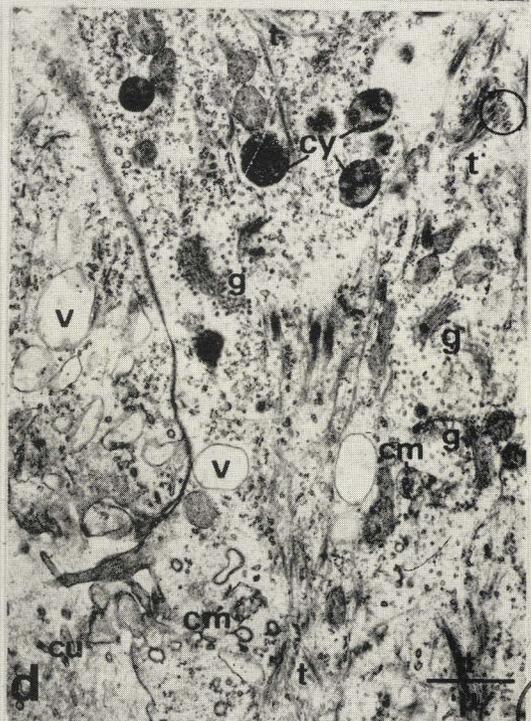
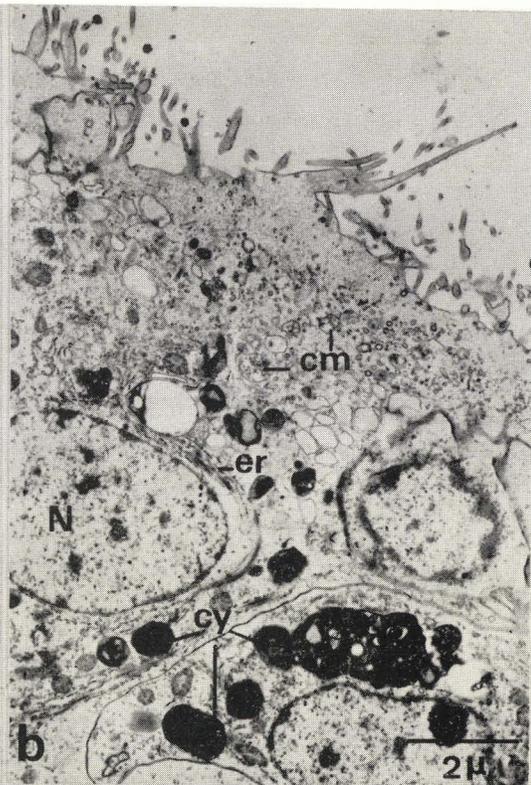
S.amica en régénération (24 à 48 heures après la section).

Fig.a - Régénération antérieure(24 h après la section). Comportement de l'épiderme bordant la plaie. Remarquer la disposition des cellules épidermiques, les cytolysomes (cy); cu : cuticule; fn : fibres nerveuses; la flèche indique le niveau de la section.

Fig.b - Régénération antérieure (24 heures après la section). Cellule épidermique cicatricielle. Noter la présence des microvillosités superficielles, la structure vésiculeuse du cytoplasme dans la zone apicale de la cellule. cm : corps multivésiculaire; cy : cytolysome; er : ergastoplasme; N : noyau.

Fig.c - Régénération postérieure (48 heures après la section). Epiderme cicatriciel. La cuticule n'est pas encore sécrétée; l'ergastoplasme (er) s'est développé; les dictyosomes (g) se sont allongés. Noter la présence de petites tonofibrilles (t); fn : fibres nerveuses N : noyau.

Fig.d - Régénération antérieure (24 heures après la section). Cellules épidermiques bordant la plaie. Remarquer les appareils de Golgi vésiculeux (g), les faisceaux de tonofilaments en néoformation (t), les polysomes à proximité de ces derniers (encerclés); cm : corps multivésiculaire; cu : cuticule; cy : cytolysome; v : vacuole sous-cuticulaire.



BUS
LILLE

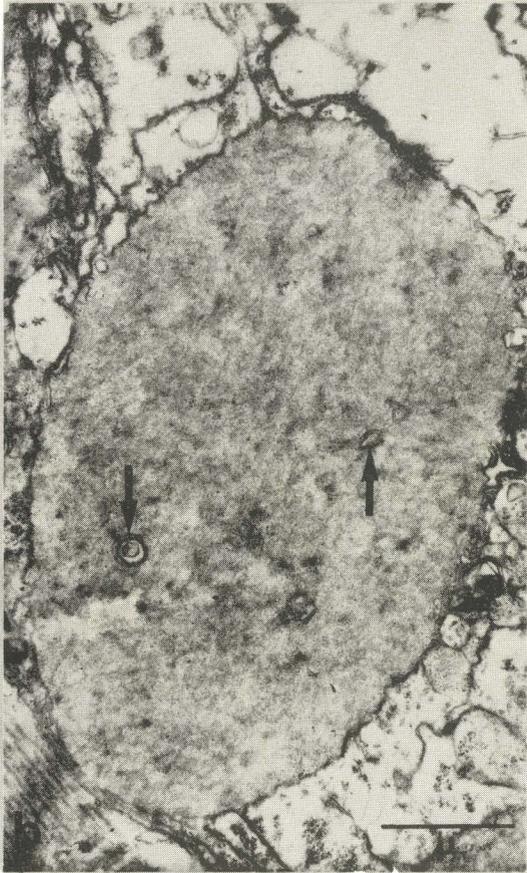
P L A N C H E VII

S.amica en régénération (24 à 48 heures après la section).

Fig.a - Régénération antérieure (24 heures après la section). Sarcolyte en début de dégénérescence. Remarquer le matériel granuleux périphérique (flèches), les corps denses (astérisque) au milieu des myofilaments; m : mitochondries.

Fig.b - Régénération antérieure (24 heures après la section). Sarcolyte en fin de dégénérescence. Noter la présence de formations lamellaires (flèches).

Fig.c - Régénération postérieure (48 heures après la section). Extrémité du tronçon en coupe frontale. Les cellules régénératrices mésodermiques sont placées contre l'épiderme cicatriciel sans interposition de basale (les 2 flèches signalent la limite inférieure de l'épiderme cicatriciel qui, en dépit des apparences, est unistratifié). Des fibres nerveuses (fn) cheminent sous l'épiderme cicatriciel. La cuticule est apparue (cu). Les cellules splanchnopleurales de l'extrémité de l'intestin dont la musculature (mi) et la basale (b) sont visibles sur la photo, s'allongent en direction de la zone cicatricielle (sp). Noter l'abondance des cytolysomes (sous la forme d'amas denses sur le cliché). N : noyau; s : sarcolyte.



20 BUS LILLE

P L A N C H E VIII

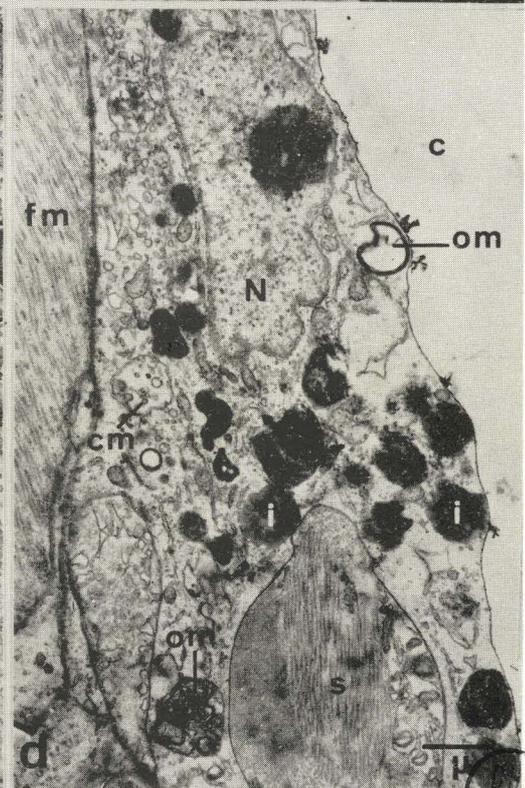
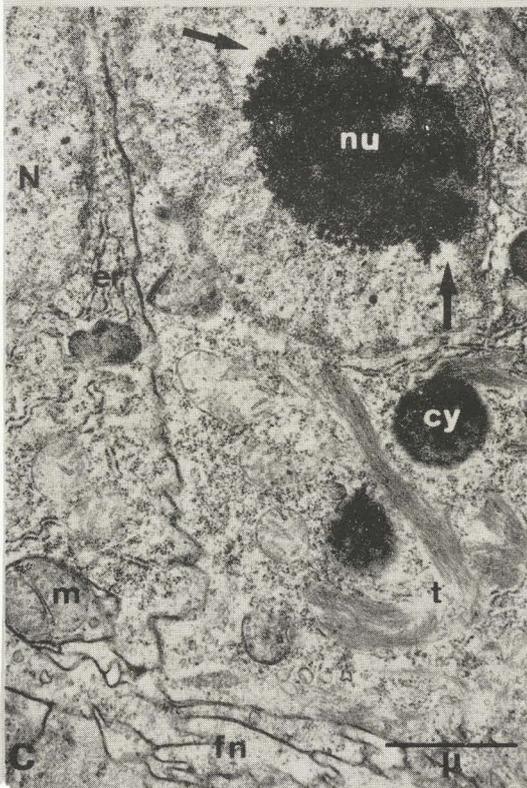
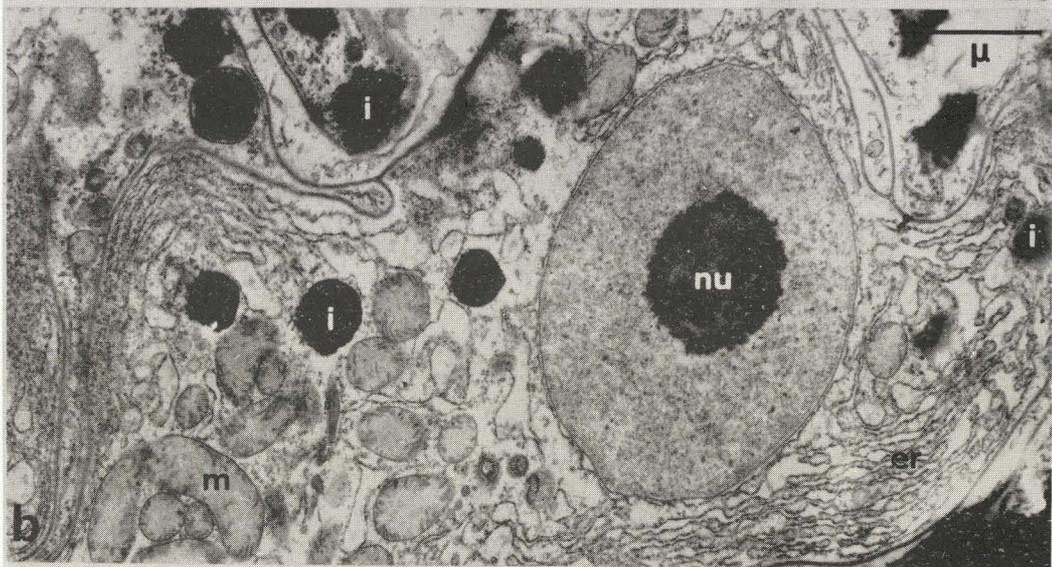
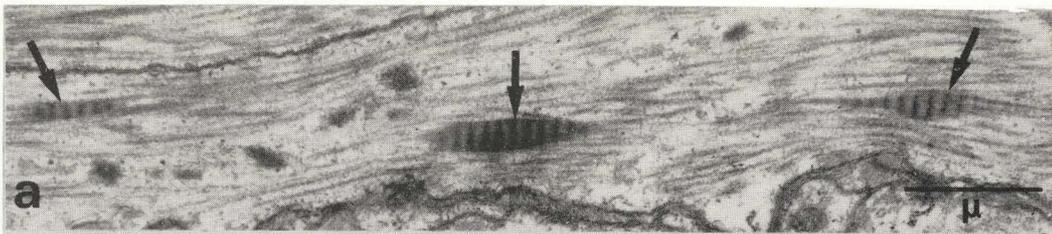
S.amica en régénération (48 heures à 3 jours après la section).

Fig.a - Régénération postérieure (48 heures après la section). Fibres musculaires longitudinales à proximité du front de section. Remarquer les figures à structure périodique à l'intérieur de la fibre (flèches).

Fig.b - Régénération postérieure (48 heures après la section). Epithélium digestif à proximité de la zone cicatricielle. Noter le nucléole volumineux (nu), l'ergastoplasme (er), les mitochondries à crêtes courtes (m); i : inclusion de nature vraisemblablement lipidique.

Fig.c - Régénération antérieure (3 jours après la section). Zone basale de l'épiderme cicatriciel. Remarquer la zone périphérique granulaire du nucléole et ses expansions dans le nucléoplasme, les zones claires autour du nucléole (flèches); cy : cytolysome; er : ergastoplasme; fn : fibres nerveuses; m : mitochondries; N : noyau; nu : nucléole; t : tonofilaments.

Fig.d - Régénération postérieure (3 jours après la section). Cellule pariétopleurale ayant phagocyté un sarcolyte (s). Noter l'abondance des inclusions lipidiques (i), les organites de type myélinique (om); c : coelome; cm : corps multivésiculaire; fm : fibre musculaire; N : noyau.

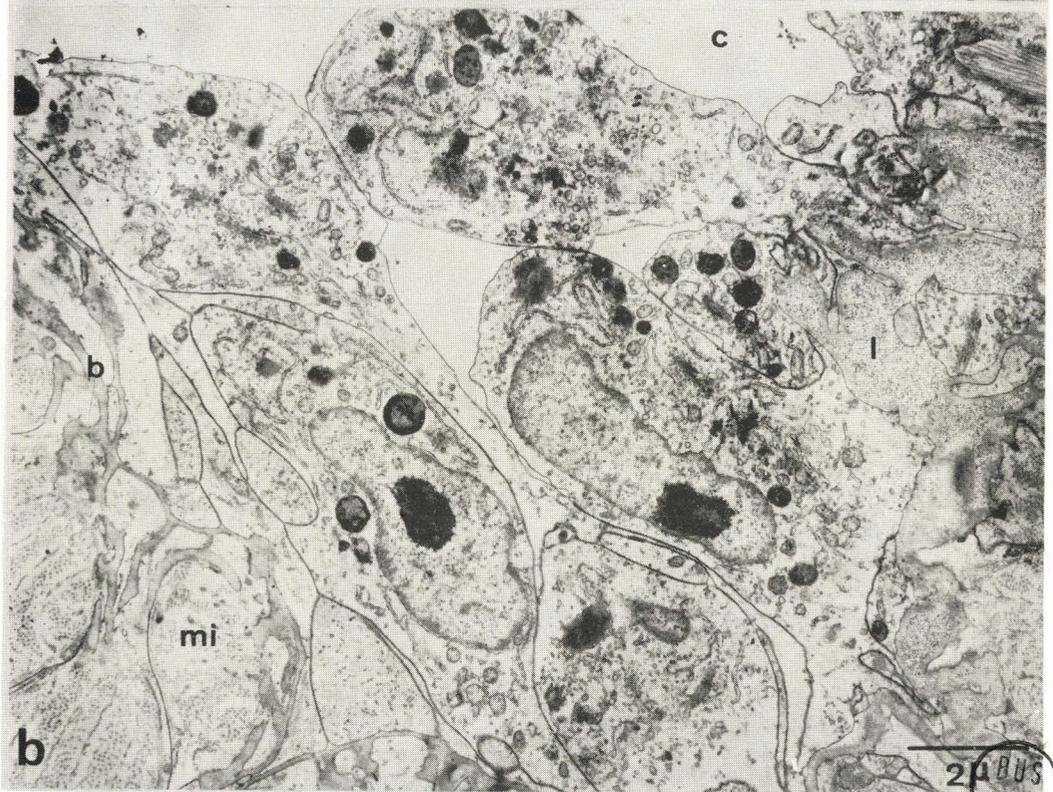


P L A N C H E IX

S.amica en régénération (3 jours après la section).

Fig.a - Régénération. Zone apicale de l'épiderme cicatriciel. Remarquer les nucléoles volumineux (nu) et leur périphérie granulaire présentant de nombreuses expansions dans le nucléoplasme; autour du nucléole noter la présence de zones claires (flèches); dans le nucléoplasme, on distingue des fragments nucléolaires (encerclés). Remarquer l'abondance des ribosomes, les dictyosomes (g), l'ergastoplasme (er), les cytolysomes de petite taille (ey). La cuticule s'est épaissie (cu); N : noyau.

Fig.b - Régénération postérieure. Cellules splanchnopleurales de l'extrémité de l'intestin (coupe perpendiculaire à la paroi intestinale). Remarquer leur forme en massue. Noter la présence d'inclusions denses dans le cytoplasme. b : basale; c : coelome; l : lacune sanguine; mi : musculature intestinale.



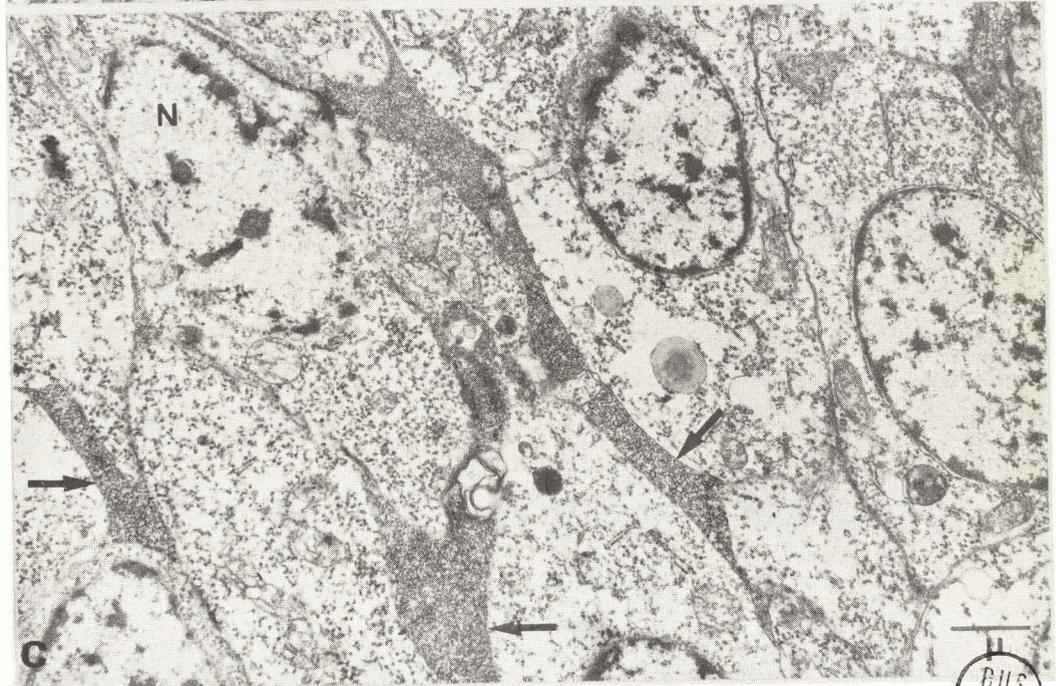
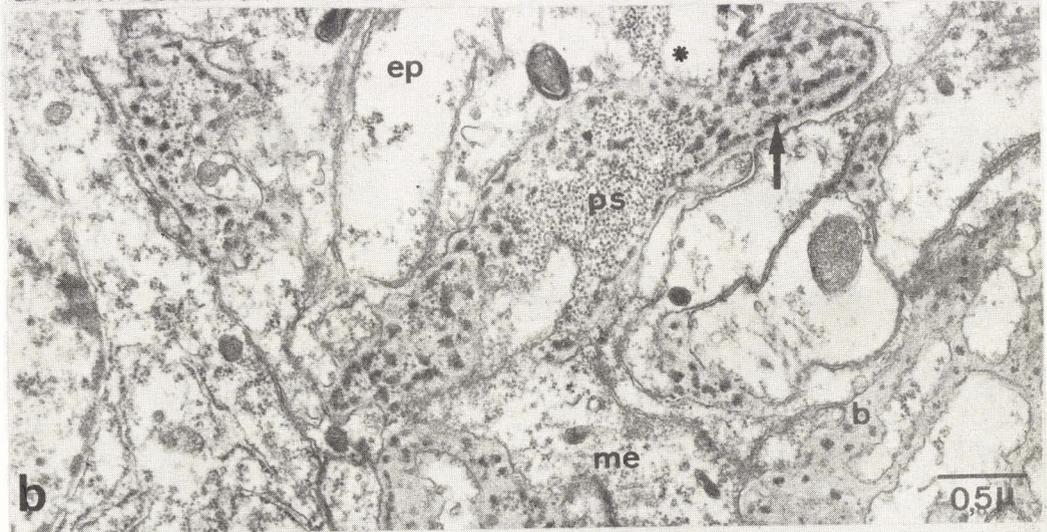
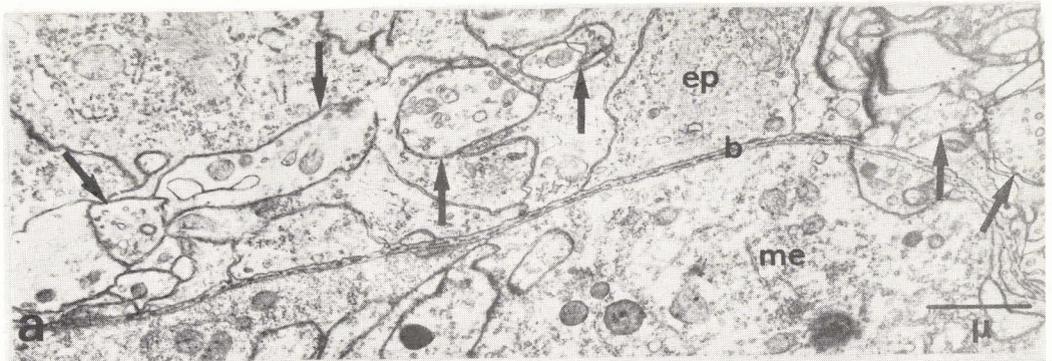
P L A N C H E X

S.amica en régénération (5 jours après la section).

Fig.a - Régénération postérieure. Basale (b) séparant l'épiderme cicatriciel (ep) des cellules mésodermiques (me). Remarquer les sections de fibres nerveuses (flèches) contenant des vésicules et des mitochondries.

Fig.b - Régénération antérieure. Coupe tangentielle de la basale (b). Noter la présence de zones opaques à l'intérieur de celle-ci (flèche). La basale renferme aussi des lacunes contenant des particules sanguines (ps) en relation avec les espaces intercellulaires de l'épiderme cicatriciel (astérisque). me : cellule mésodermique; ep : épiderme cicatriciel.

Fig.c - Régénération antérieure. Epiderme du blastème. Remarquer les amas de particules sanguines entre les cellules épidermiques (flèches), l'abondance des polysomes. N : noyau.



P L A N C H E X I

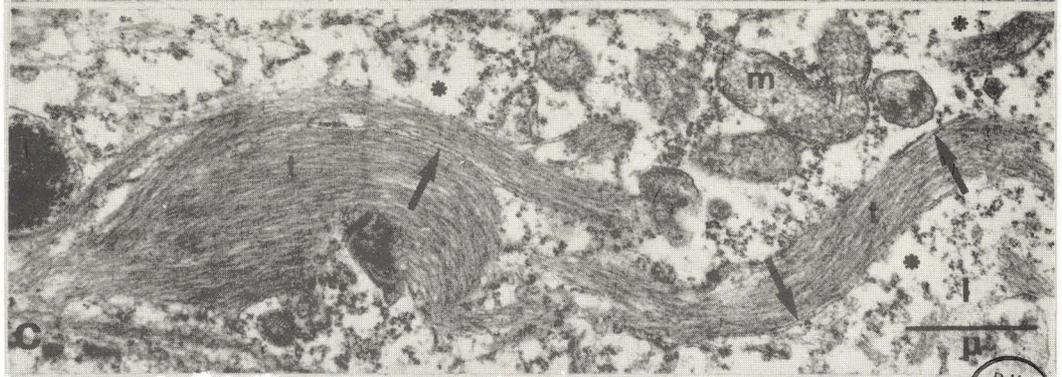
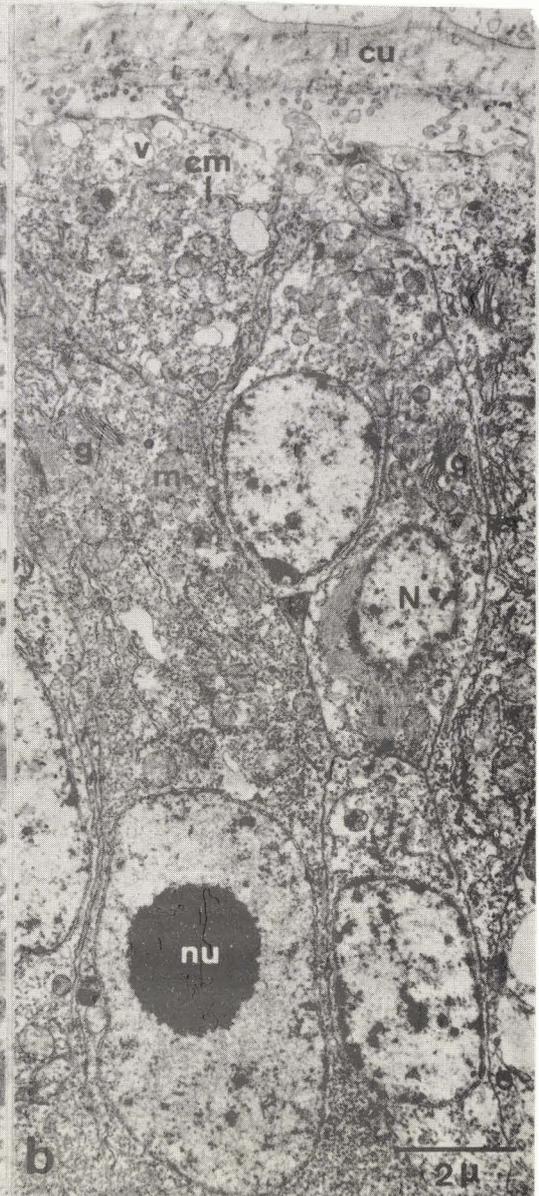
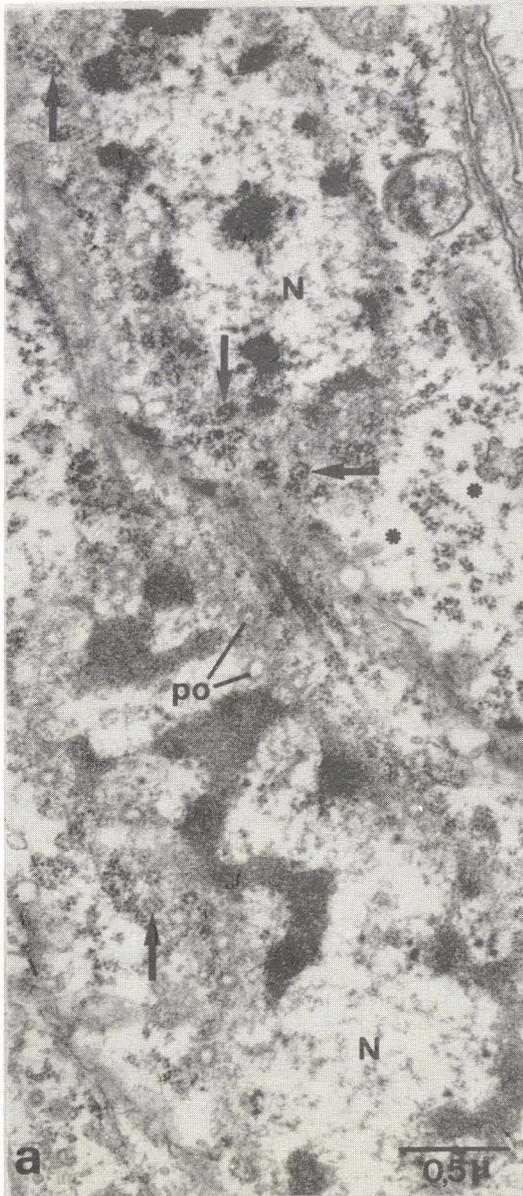
S.amica en régénération (5 jours après la section).

Fig.a - Régénération antérieure. Epiderme du blastème. Coupe tangentielle de la membrane nucléaire de deux noyaux (N). Remarquer les pores nucléaires (po) et les polysomes placés au-dessus de certains d'entre eux (flèches). Noter la présence d'aires cytoplasmiques contenant un matériel filamenteux et dépourvues de ribosomes (astérisques).

Fig.b - Régénération postérieure. Epiderme du blastème. Remarquer l'abondance des ribosomes. cm : corps multivésiculaire; cu : cuticule; er : ergastoplasme; g : dictyosome ; m : mitochondrie; N : noyau; nu : nucléole; t : tonofilaments; v : vacuole sous-cuticulaire.

Fig.c - Régénération antérieure. Epiderme du blastème. Vue de détail de tonofibrilles (t). Noter la présence de lamelles ergastoplasmiques allongées parallèlement aux tonofilaments (flèches). Remarquer les zones cytoplasmiques dépourvues de ribosomes (astérisques); m : mitochondrie.





BUS
LILLE

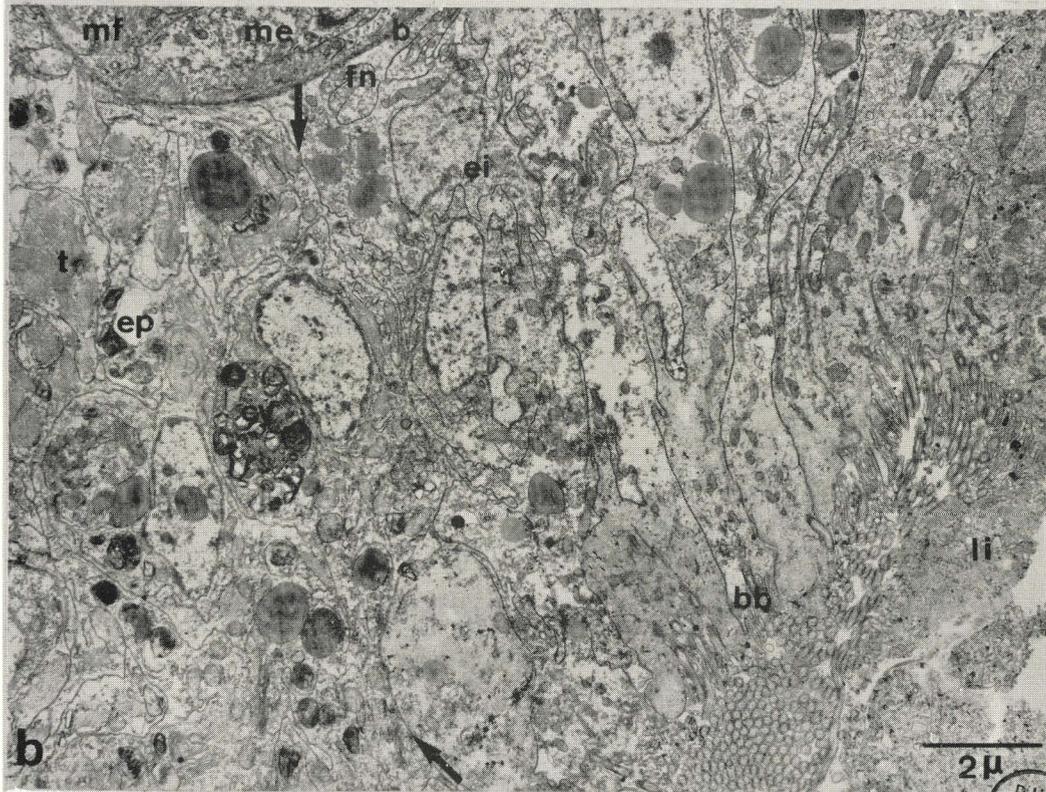
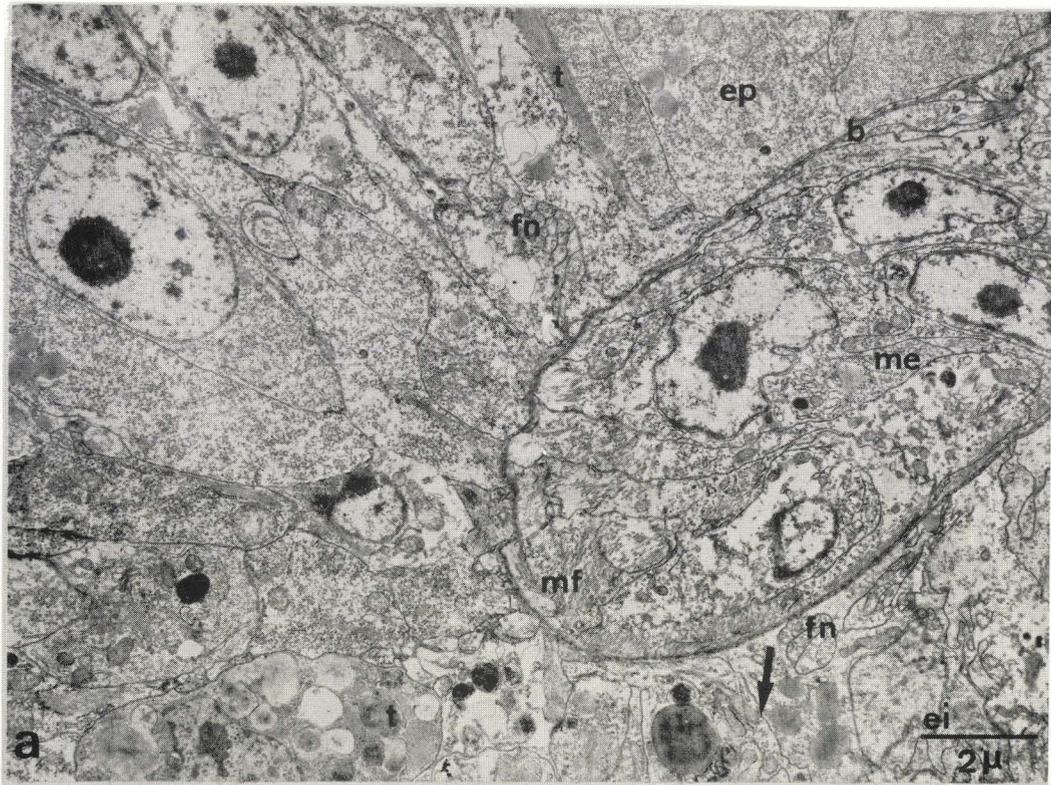
P L A N C H E XII

S.amica en régénération (5 jours après la section).

Fig.a - Régénération postérieure. Coupe frontale du blastème montrant les trois tissus le composant : épiderme (ep); mésoderme (me); épithélium intestinal (ei). Le mésoderme est séparé des autres tissus par une basale (b); ses cellules ont différencié des myofilaments (mf). L'épiderme et l'épithélium intestinal sont simplement juxtaposés (au niveau de la flèche). Remarquer l'abondance des ribosomes dans les cellules épidermiques, les sections de fibres nerveuses (fn). t : tonofilaments.

Fig.b - Régénération postérieure. Même coupe et même légende que la fig.a. Remarquer la bordure en brosse ciliée de l'intestin (bb). cy : cytolysome; li : lumière de l'intestin.

168
3-7

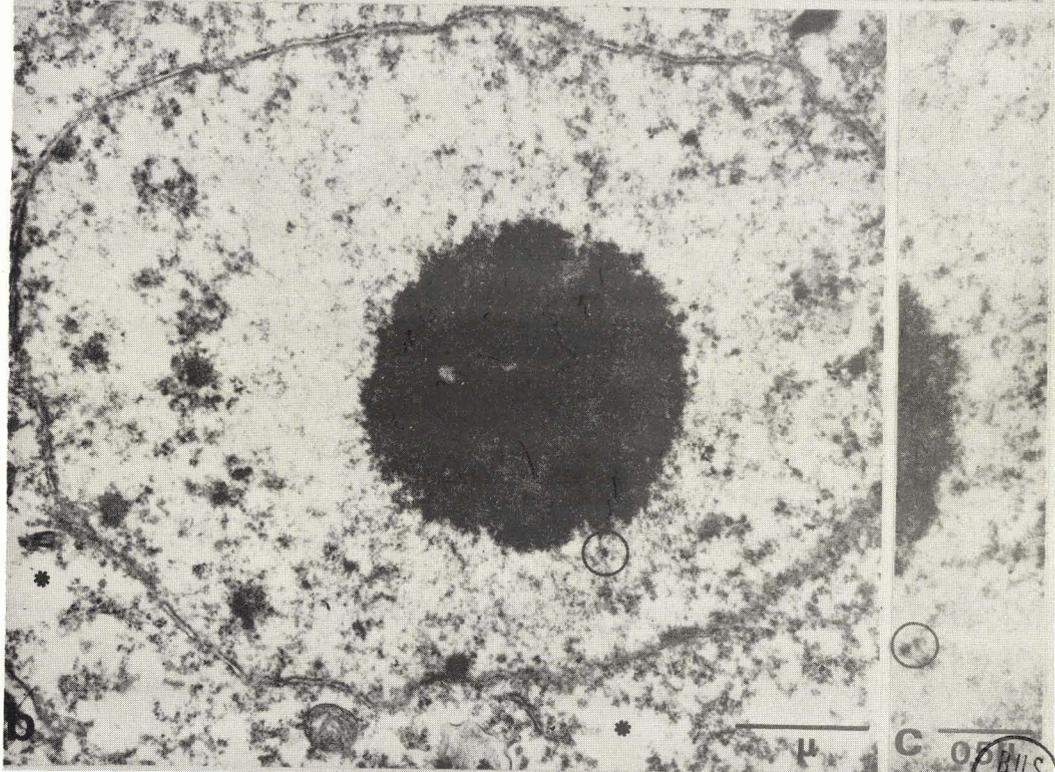
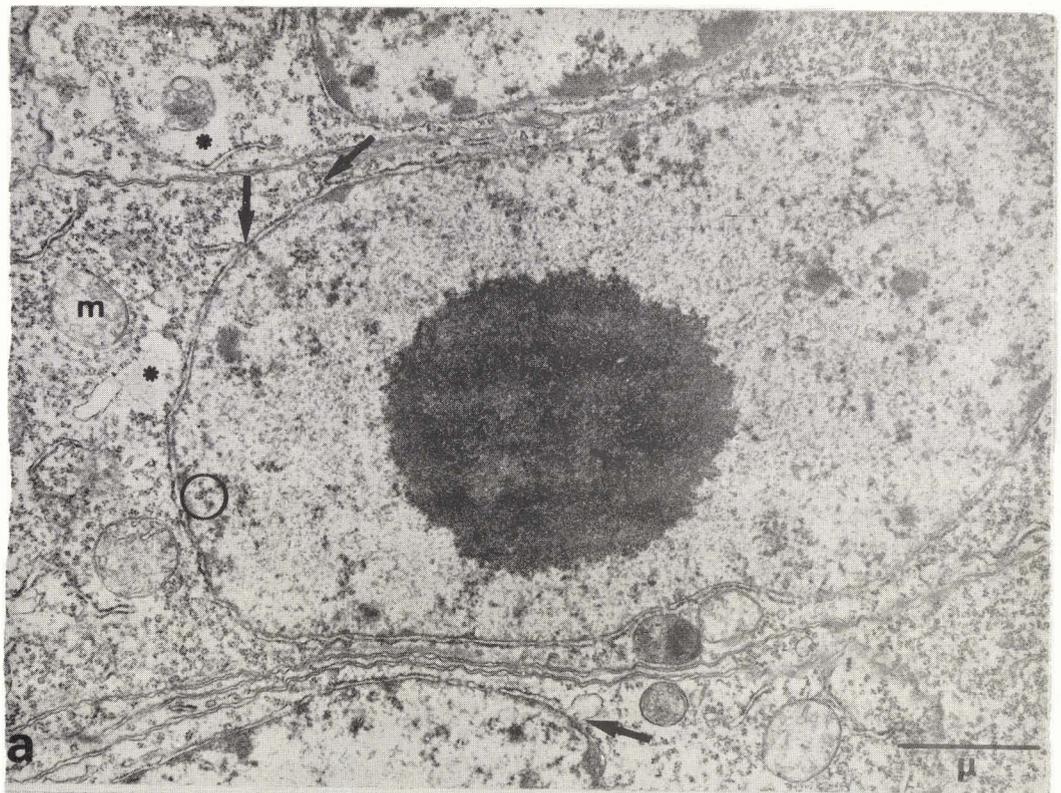


BUS
LILLE

P L A N C H E XIII

S.amica en régénération (5 jours après la section).

- Fig.a - Régénération postérieure. Cellule épidermique du blastème. Remarquer la nature granulaire du cortex nucléolaire, la présence de granules de type nucléolaire dans le nucléoplasme (encerclés); noter l'orientation radiale de la trame filamenteuse du nucléoplasme autour du nucléole. Dans le cytoplasme, on distingue de nombreux polysomes, des espaces clairs (astérisques); l'ergastoplasme est souvent en continuité avec la citerne périnucléolaire (flèches). m : mitochondrie.
- Fig.b - Régénération postérieure. Cellule mésodermique activée. Même légende que la fig.a. L'orientation radiale(par rapport au nucléole) de la trame filamenteuse périnucléolaire est particulièrement visible.
- Fig.c - Détail de la fig.b (coupe différente). Même légende que la fig.b.

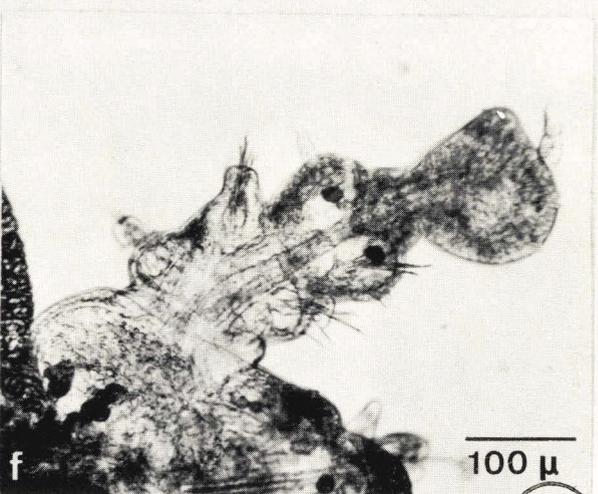
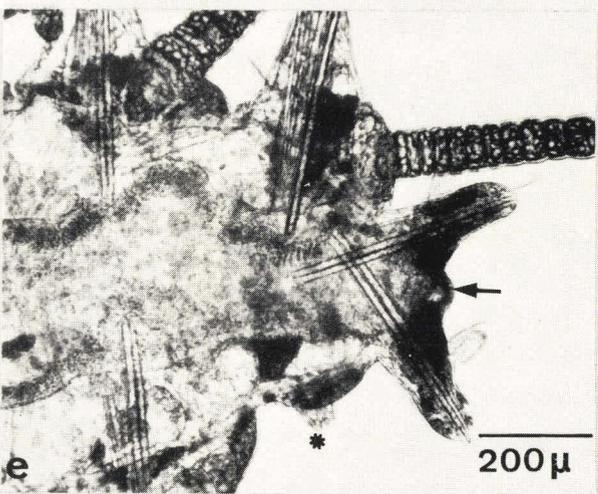
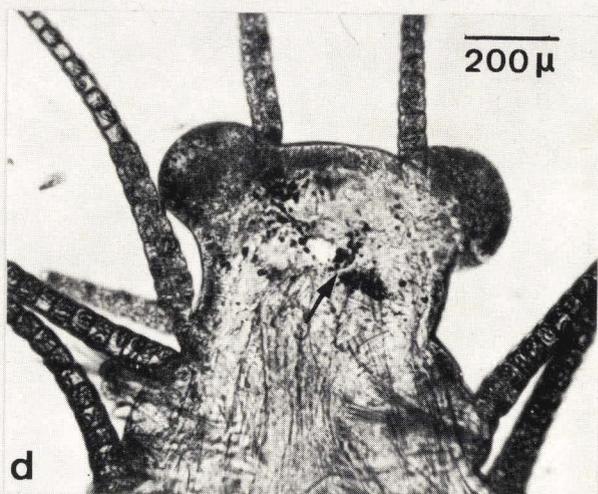
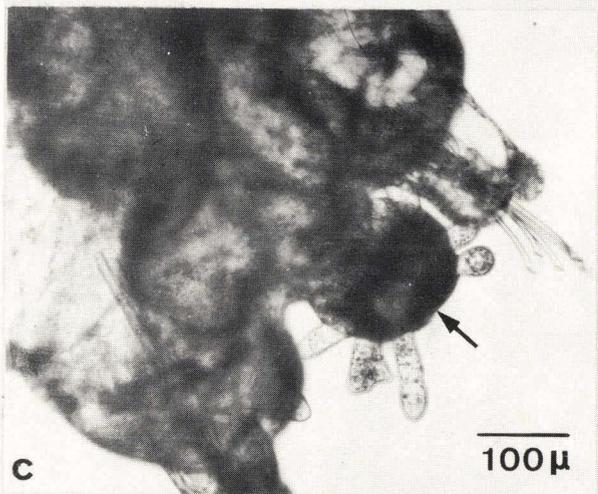
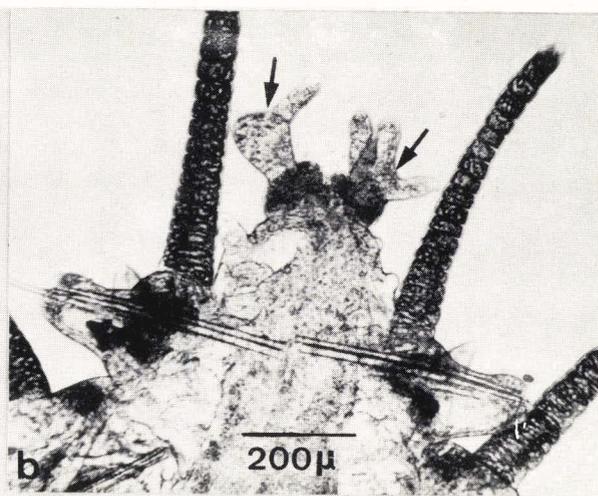
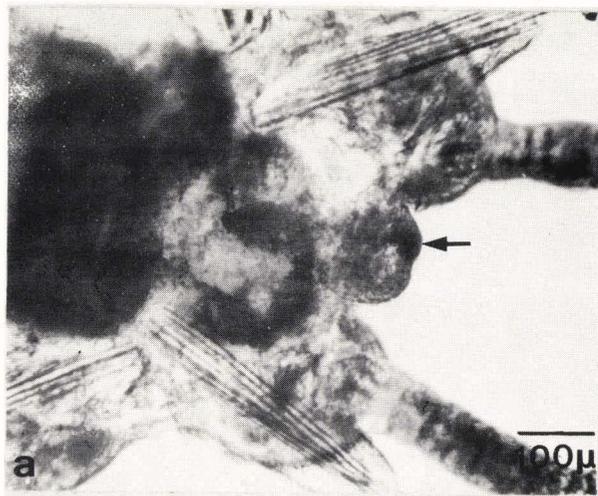


OPHIS
LILLE

P L A N C H E XIV

Morphologie des régénérats de Syllis irradiés (30.000 r).

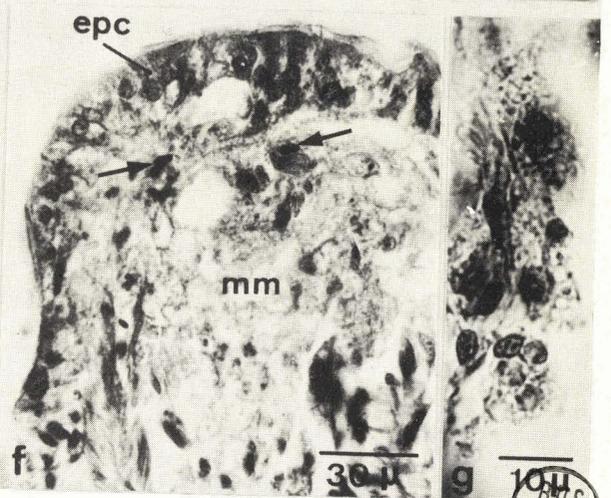
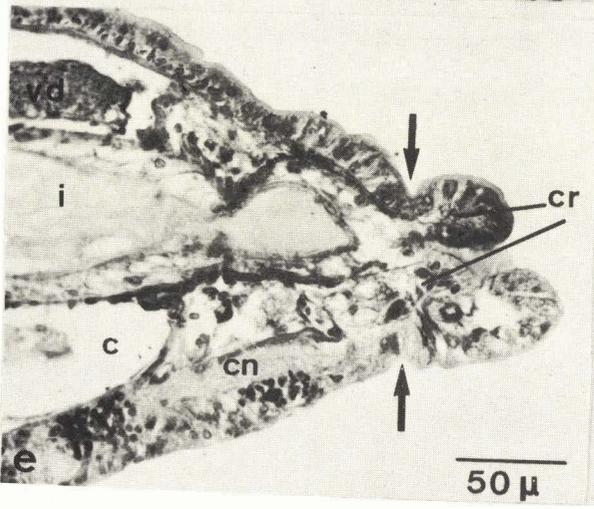
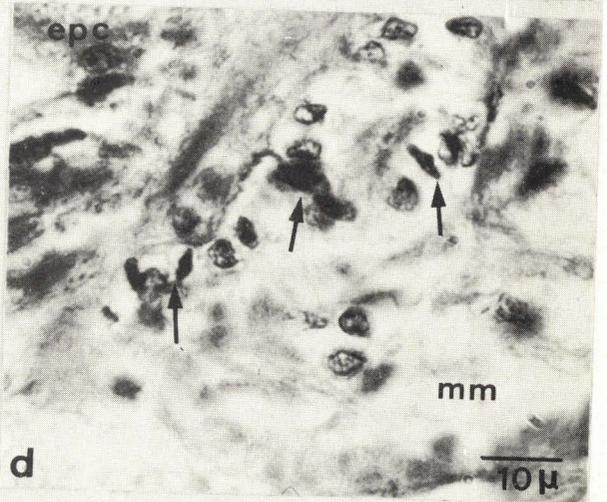
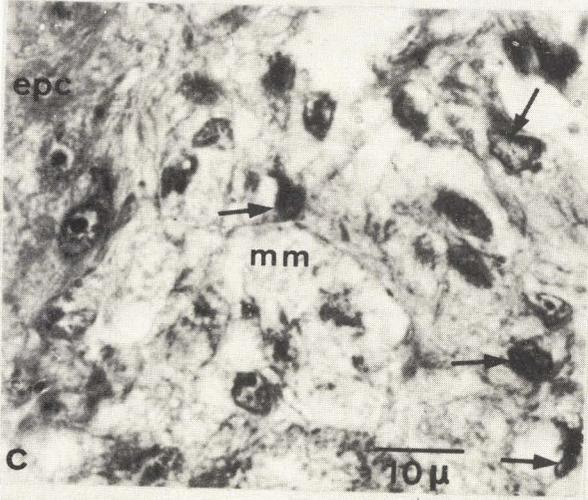
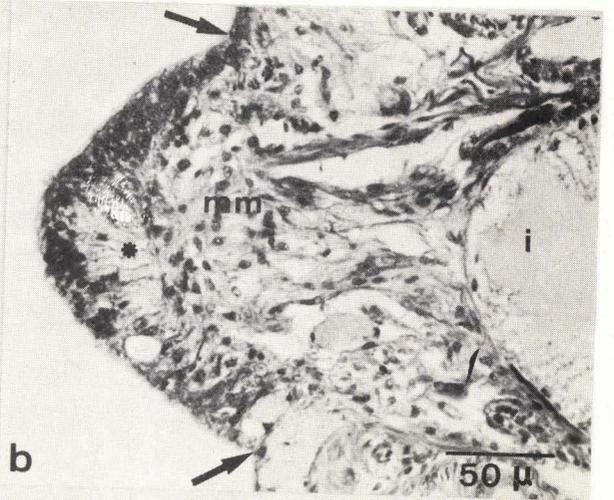
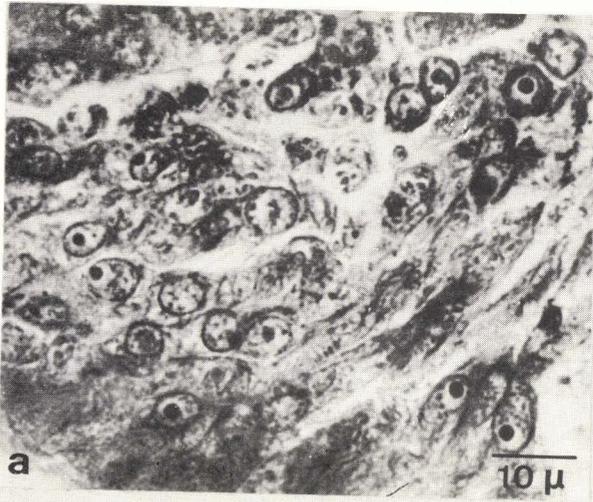
- Fig.a - Blastème caudal indifférencié (flèche) 70 jours après la section (irradiation 48 heures après l'amputation).
- Fig.b - Régénérat caudal 60 jours après la section (segmentation bloquée). Les cirres anaux du pygidium néoformé sont bifurqués (flèches). (irradiation 24 heures avant l'amputation).
- Fig.c - Régénérat caudal 70 jours après la section (segmentation bloquée). Le pygidium néoformé (flèche) a différencié cinq cirres (irradiation 48 heures après l'amputation).
- Fig.d - Régénérat céphalique 70 jours après la section (segmentation bloquée). Le prostomium est incomplètement différencié; les palpes sont écartés vers l'extérieur; remarquer les nombreuses taches pigmentaires (flèche) sur la face dorsale du prostomium (irradiation 48 heures après l'amputation).
- Fig.e - Blastème caudal (flèche) après régression d'une partie du dernier segment et du parapode gauche (astérisque) de l'avant dernier segment, 70 jours après la section (irradiation 48 heures après l'amputation).
- Fig.f - Régénérat céphalique 60 jours après la section comprenant le prostomium (incomplet) et trois segments sétigères (de petite taille) (irradiation 24 heures avant l'amputation).



P L A N C H E X V

Structure des régénérats de Syllis irradiés (30000 r, 48 heures après la section).

- Fig.a - Coupe tangentielle de l'épiderme cicatriciel d'un régénérat caudal 13 jours après la section. Remarquer l'aspect activé des noyaux.
- Fig.b - Vue d'ensemble d'un régénérat céphalique 15 jours après la section. Les ganglions cérébroïdes sont partiellement différenciés (astérisque). i : intestin; mm : massif mésodermique; les flèches indiquent le niveau de section.
- Fig.c - Vue de détail du massif mésodermique (mm) d'un régénérat céphalique 15 jours après la section. Noter l'aspect sinueux du contour nucléaire des cellules mésodermiques (flèches). epc : épiderme cicatriciel.
- Fig.d - Même légende que pour la fig.c. Remarquer les noyaux pycnotiques (flèches) du massif mésodermique.
- Fig.e - Vue d'ensemble d'un régénérat caudal 20 jours après la section (les flèches indiquent le niveau de section). Le pygidium (dépourvu de cirres anaux) est édifié, l'anus percé. Les cavités coelomiques du régénérat (cr) contiennent très peu de cellules mésodermiques. c : coelome; cn : chaîne nerveuse; i : intestin; vd : vaisseau dorsal.
- Fig.f - Vue de détail d'un régénérat caudal 13 jours après la section. Les noyaux ont pratiquement tous disparu du massif mésodermique (mm); d'autres sont en pycnose (flèches). epc : épiderme cicatriciel.
- Fig.g - Vue de détail de cellules pariétopleurales d'un régénérat caudal 70 jours après la section. Remarquer l'aspect granuleux de leur cytoplasme.



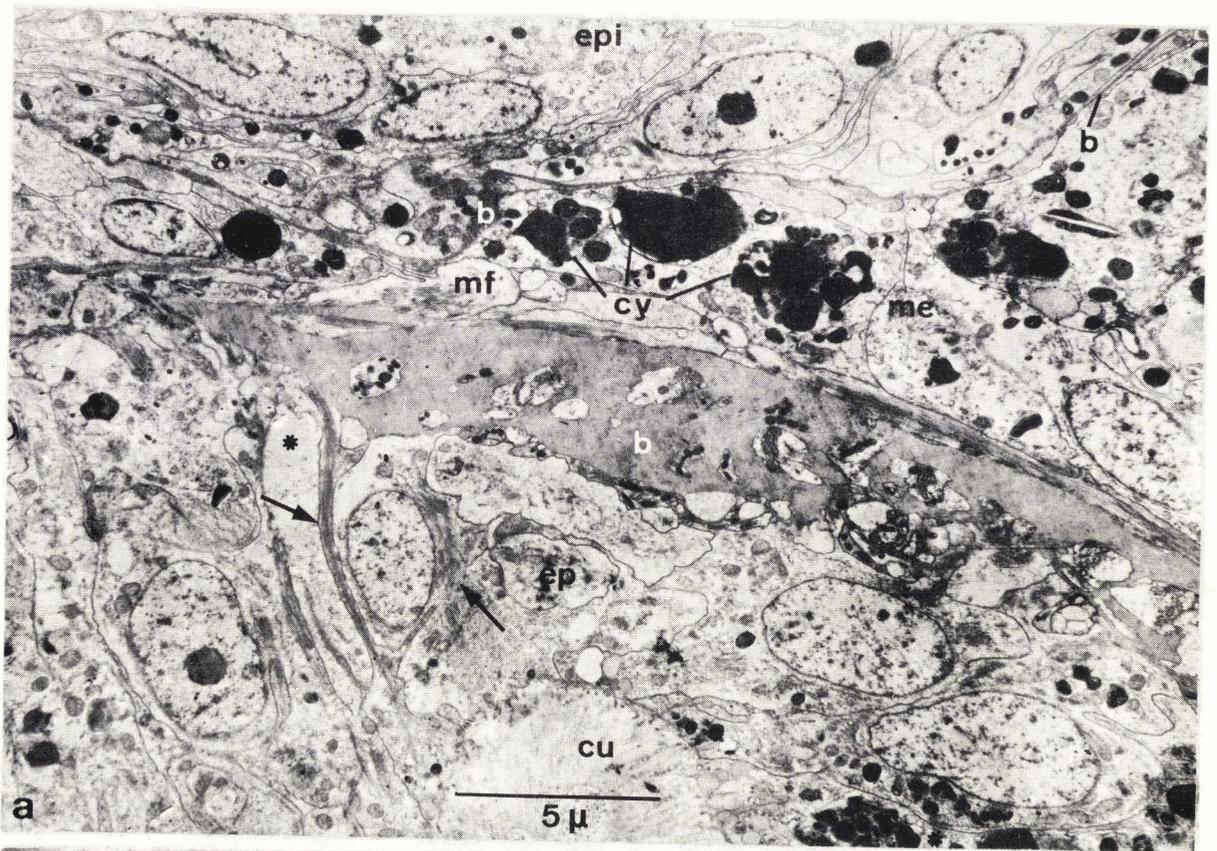
BUS
LILLE

P L A N C H E XVI

Ultrastructure d'un blastème caudal de S.amica irradié (30.000 r)
48 heures après l'amputation et fixé 2 mois après l'irradiation.

Fig.a - Vue d'ensemble d'une partie du blastème. Remarquer la présence des trois tissus (ep : épiderme; me : mésoderme; epi : épithélium intestinal) séparés l'un de l'autre par une basale (b). Les cellules épidermiques ont édifié une cuticule (cu) et des tonofilaments (flèches); quelques unes apparaissent claires ou contiennent de nombreux cytolysomes (astériques). Certaines cellules mésodermiques ont différencié des myofilaments (mf); la plupart contiennent de volumineux cytolysomes (cy).

Fig.b - Vue de détail de cellules épidermiques (ep) et mésodermiques (me). Remarquer l'état activé des cellules épidermiques (noyau volumineux, nucléole (nu) de grande taille, ribosomes abondants), l'aspect vide des cellules mésodermiques. Noter la présence d'une basale (b) séparant ces deux types de cellules, de fibres nerveuses (flèches) à la base de l'épiderme.



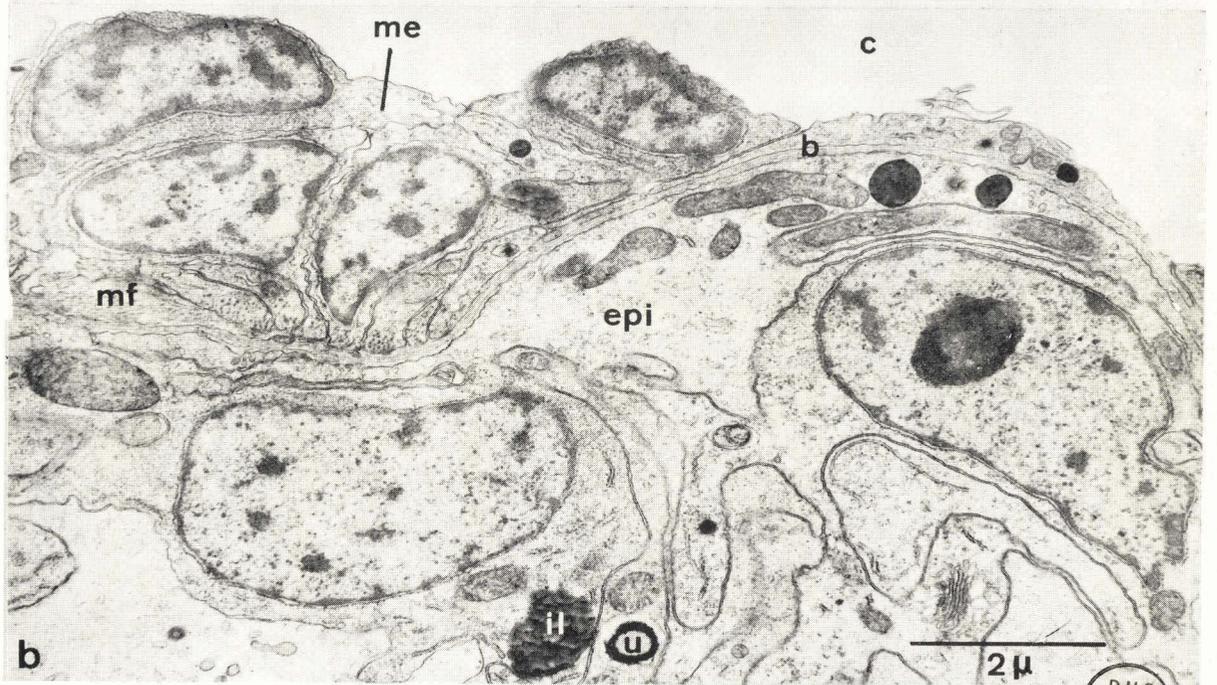
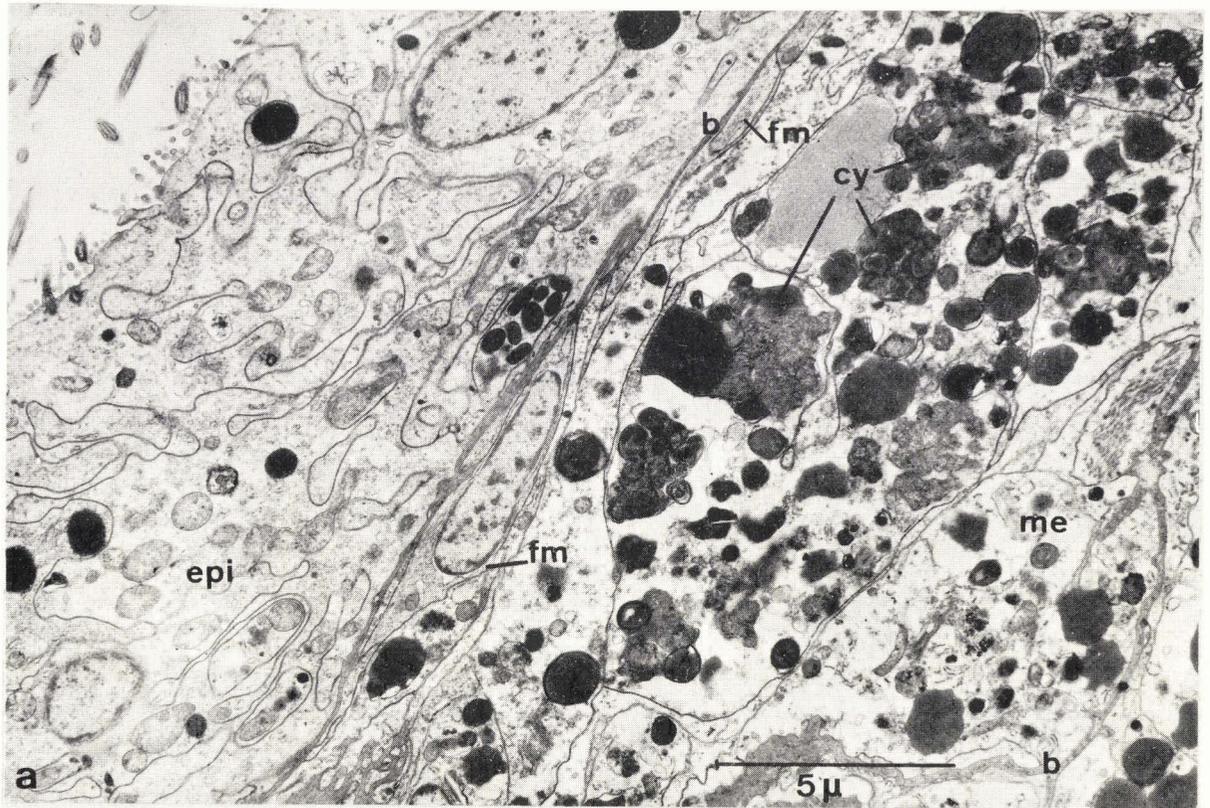
P L A N C H E XVII

Ultrastructure d'un blastème caudal de S.amica irradié (30000r)
48 heures après l'amputation et fixé 2 mois après l'irradiation.

Fig.a - Vue d'ensemble d'une partie du blastème montrant l'épithélium intestinal (epi) et le mésoderme (me) séparés l'un de l'autre par une basale (b). La basale située dans le coin inférieur droit du cliché sépare le mésoderme de l'épiderme. L'épithélium intestinal apparaît normal : remarquer sa bordure en brosse ciliée. Certaines cellules mésodermiques se sont différenciées en fibres musculaires (fm); les autres contiennent de nombreux cytolysomes (cy) de grande taille.

Fig.b - Vue de détail de la zone basale des cellules intestinales (epi) Remarquer la présence d'urosphériles (u), d'inclusions lipidiques (il), de la basale (b). Les cellules mésodermiques (me) constituent un revêtement relativement peu différencié : les myofilaments (mf) sont peu nombreux. c : coelome.





BUS
LILLE

P L A N C H E XVIII

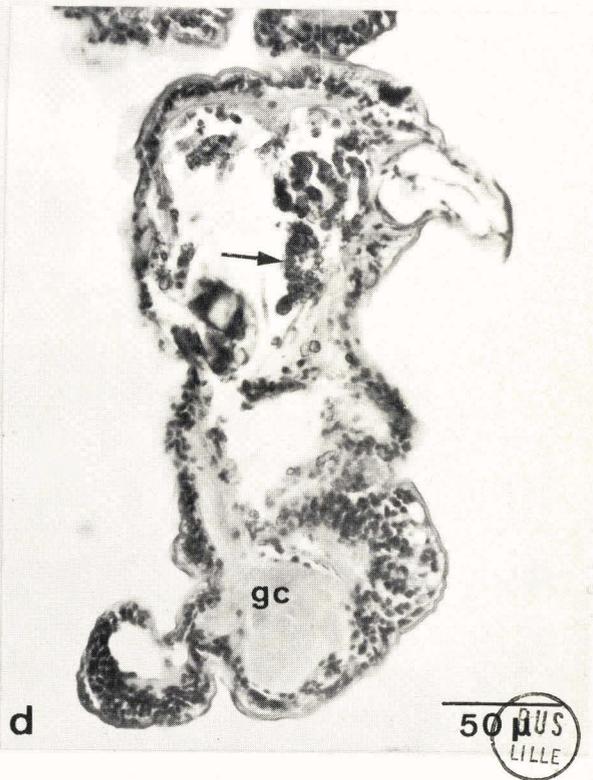
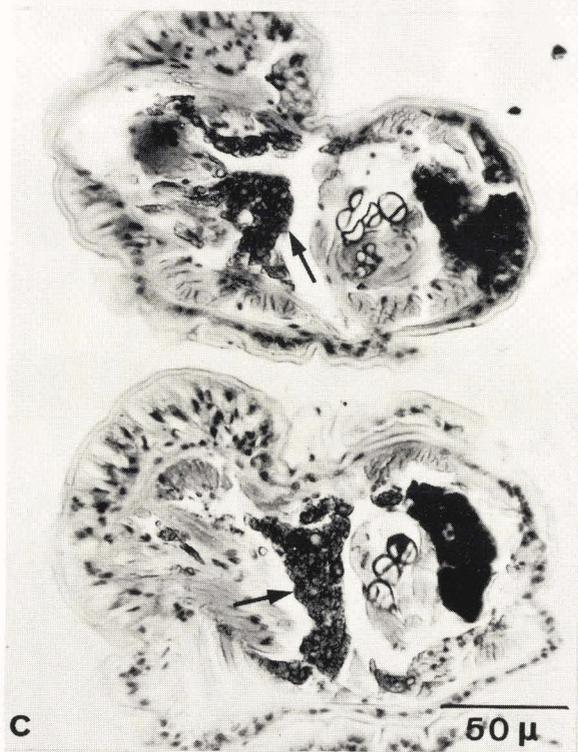
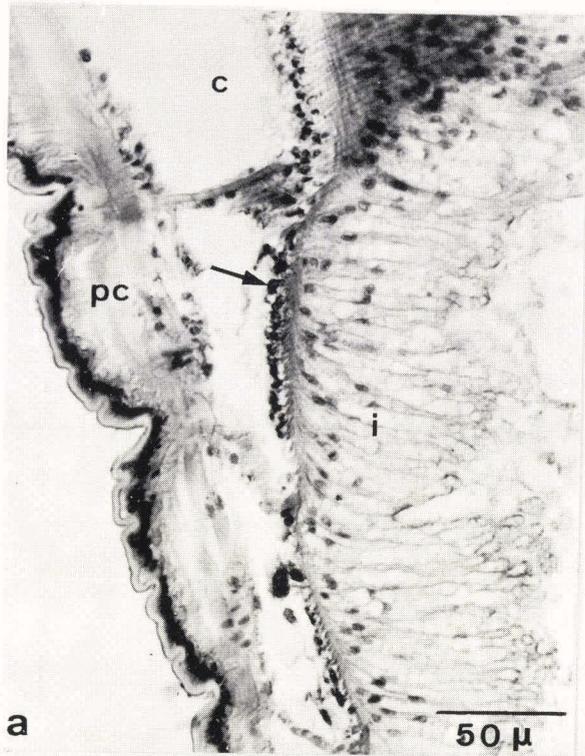
Structure de Syllis ayant reçu une injection intra-coelomique de "Thorotrast".

Fig.a - Blocage de la segmentation caudale. Coupe longitudinale montrant la présence de thorium au niveau des épithéliums coelomiques, splanchnopleure en particulier (flèche). c : coelome; i: intestin; pc : paroi du corps.

Fig.b - Amas thorotrastiques dans la cavité coelomique (flèches). La musculature (ms) est dépourvue de thorium. c : coelome.

Fig.c - Amas thorotrastiques au niveau des parapodes (flèches).

Fig.d - Blocage de la segmentation céphalique. Seul le prostomium est régénéré; les ganglions cérébroïdes (gc) sont différenciés. Noter la présence d'amas thorotrastiques (flèche).



50 μS
LILLE

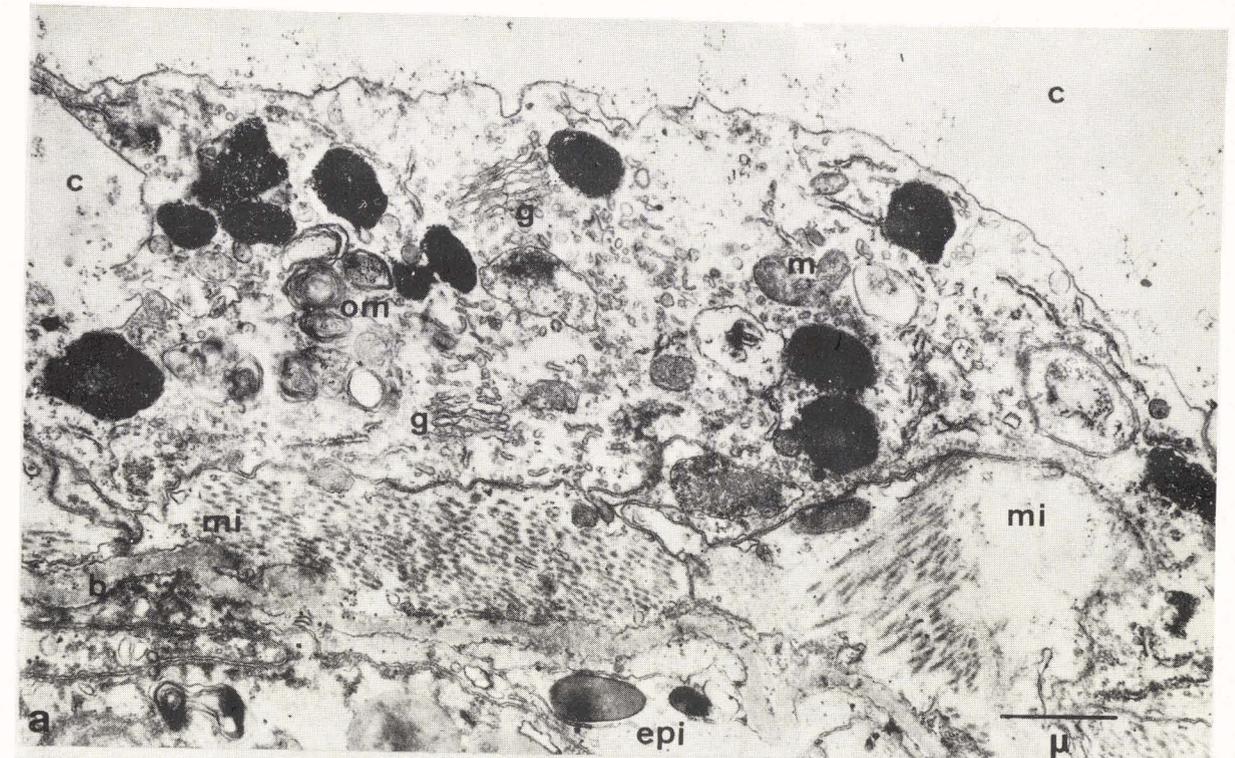
P L A N C H E X I X

Ultrastructure de Syllis ayant reçu une injection intra-coelomique de "Thorotrast".

Fig.a - Cellule splanchnopleurale de Syllis en régénération (amputation dans la zone contenant du "Thorotrast" 20 heures après l'injection; fixation 48 heures après l'amputation). Remarquer les vacuoles remplies de particules de thorium (zones très denses). b : basale; c : coelome; epi : épithélium intestinal; g : dictyosome; m : mitochondrie; mi : musculature intestinale; om : organite, à structure de type myélinique.

Fig.b - Musculature longitudinale de Syllis entier, fixé 20 heures après l'injection de "Thorotrast". Remarquer la présence de particules de thorium dans les espaces intercellulaires séparant les fibres musculaires (fm). Le sarcoplasme (sa) est totalement dépourvu de thorium m: mitochondrie.





P L A N C H E X X

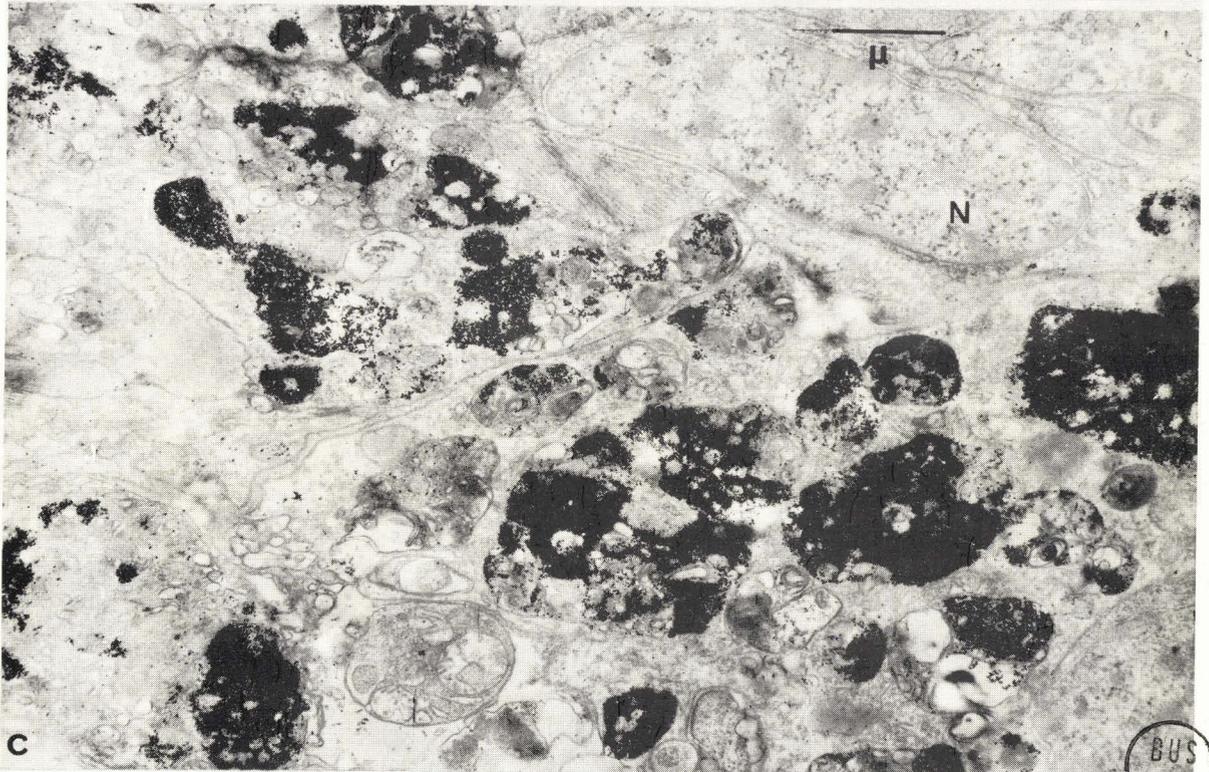
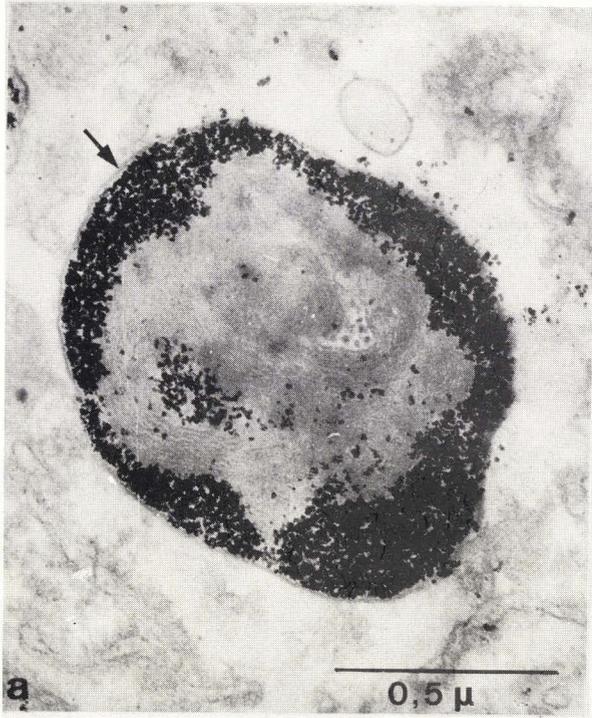
Ultrastructure de Syllis ayant reçu une injection intra-coelomique de "Thorotrast".

Fig.a. - Vue de détail d'une portion de cellule pariétopleurale de Syllis entier fixé 20 heures après l'injection. Le thorium est contenu dans une vacuole limitée par une membrane simple (flèche); à l'intérieur de la vacuole, on distingue des systèmes lamellaires de type myélinique.

Fig.b - Vue de détail d'une portion de cellule pariétopleurale de Syllis en régénération (section dans la zone contenant du "Thorotrast" 20 heures après l'injection, fixation 48 heures après la section). Même légende que Fig.a. Remarquer la présence de ribosomes, de mitochondries en dégénérescence (m) à l'intérieur de la vacuole.

Fig.c - Vue d'ensemble d'un épithélium coelomique (coupe tangentielle) d'un Syllis en régénération (section dans la zone contenant du "Thorotrast" 1 heure après l'injection, fixation 3 jours après la section). Noter l'abondance des cytolysomes contenant du thorium. N : noyau.





P L A N C H E XXI

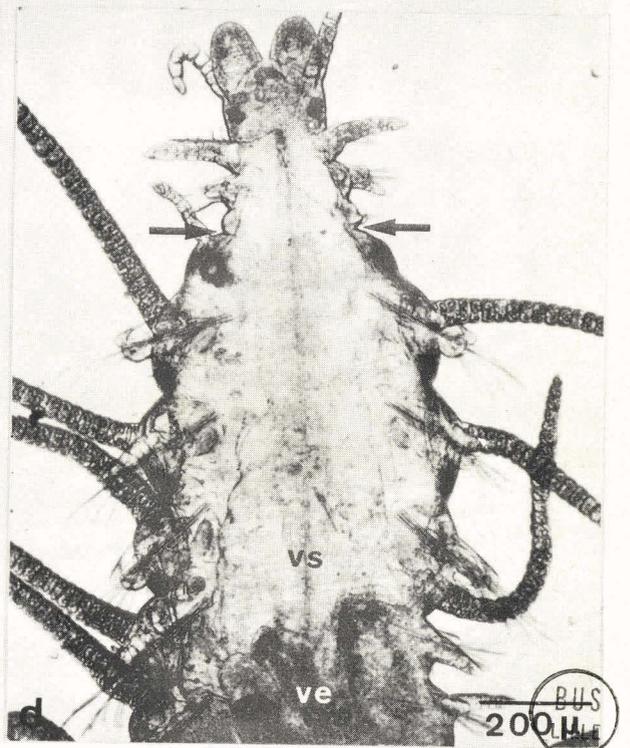
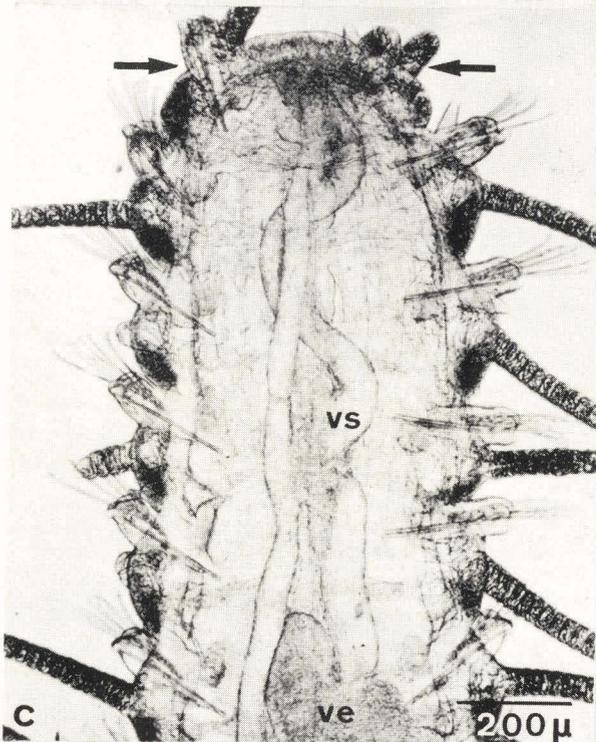
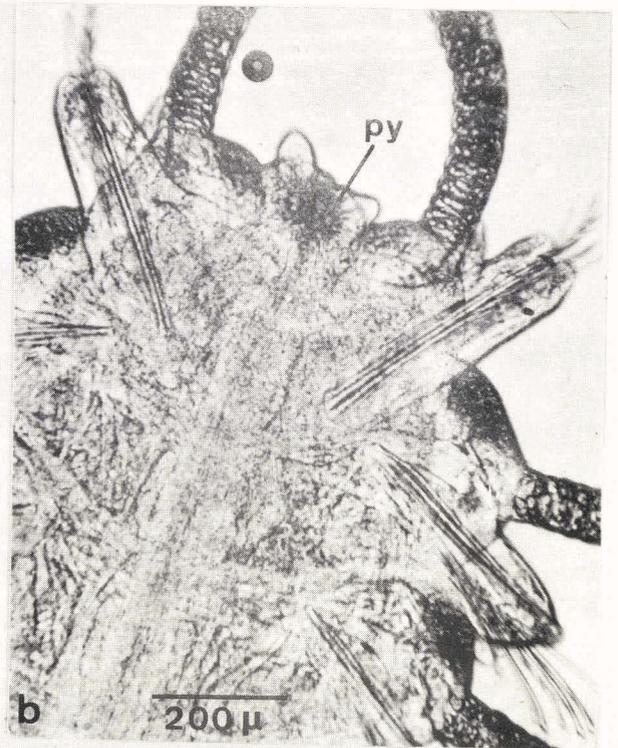
Régénération chez Syllis après ablation du tube digestif.

Fig.a - Régénération postérieure 12 jours après la section transversale dans une zone ayant préalablement subi une ablation de l'intestin (les flèches indiquent le niveau de cette ablation). L'intestin (i) a régénéré (ir) sa portion amputée jusqu'au niveau de l'extrémité du tronçon où le premier segment sétigère commence à se différencier.
py : pygidium néoformé.

Fig.b - Ablation du pharynx. Régénération postérieure 20 jours après section transversale dans la zone dépourvue de tube digestif. Le régénérat ne comporte que le pygidium (py). Remarquer l'absence de tube digestif à l'intérieur du tronçon.

Fig.c - Ablation du pharynx. Seul subsiste le ventricule (ve). Régénération antérieure 8 jours après section transversale du ver au niveau indiqué par les flèches; le blastème n'est pas encore différencié. Remarquer les deux vaisseaux sanguins(vs) dans la cavité coelomique.

Fig.d - Ablation du pharynx. Régénération antérieure 36 jours après la section; le régénérat comprend le prostomium, le péristomium et deux segments sétigères. Même légende que pour la fig.c. Les vaisseaux sanguins occupent toute la cavité coelomique. Le ventricule n'a pas régénéré antérieurement.



P L A N C H E XXII

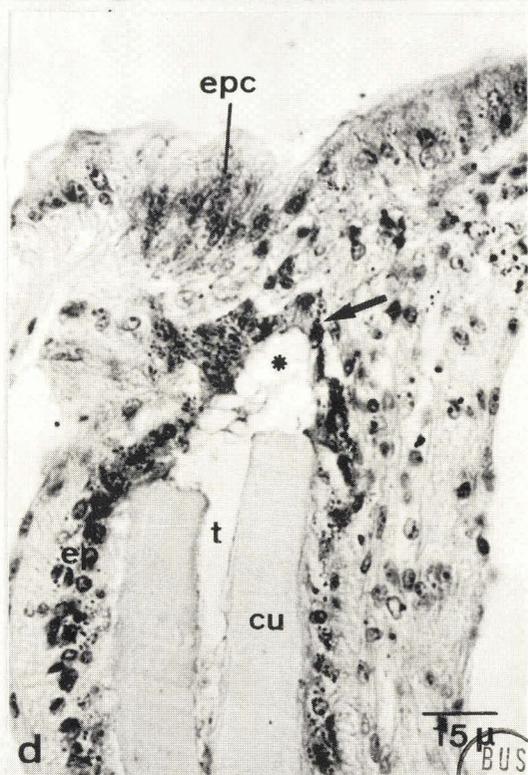
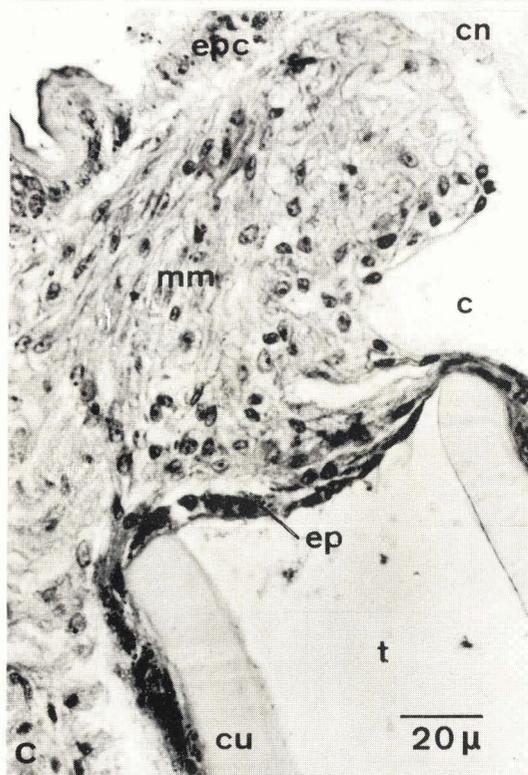
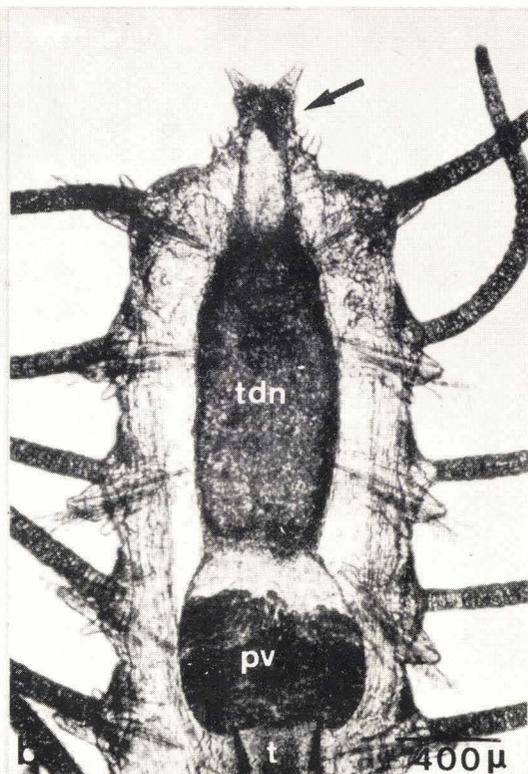
Régénération caudale de Syllis dans la zone pharyngienne.

Fig. a - Aspect général de l'extrémité d'un tronçon antérieur provenant d'un Syllis sectionné dans la zone de la trompe, 10 jours après l'amputation. Remarquer le tube digestif néoformé (tdn) et le blastème (flèche).
t : trompe.

Fig. b - Aspect général de l'extrémité d'un tronçon antérieur provenant d'un Syllis sectionné dans la zone proventriculaire, 18 jours après l'amputation. Remarquer le tube digestif néoformé (tdn) et le régénérat de 3 segments (flèche). pv : proventricule; t : trompe.

Fig. c - Vue d'ensemble de l'extrémité d'un tronçon de Syllis (sectionné dans la zone de la trompe) 48 heures après l'amputation (coupe sagittale). L'extrémité sectionnée de la trompe est obturée par l'épithélium pharyngien (ep). c : coelome; cn : chaîne nerveuse; cu : cuticule; epc : épiderme cicatriciel; mm : massif mésodermique; t : trompe.

Fig. d - Même légende que pour la Fig. c. (3 jours après la section, coupe frontale). Remarquer l'évagination de l'épithélium pharyngien (flèche), les membranes internes (astérisque). cu : cuticule; ep : épithélium pharyngien; epc : épiderme cicatriciel; t : trompe.



BUS
LILLE

P L A N C H E XXIII

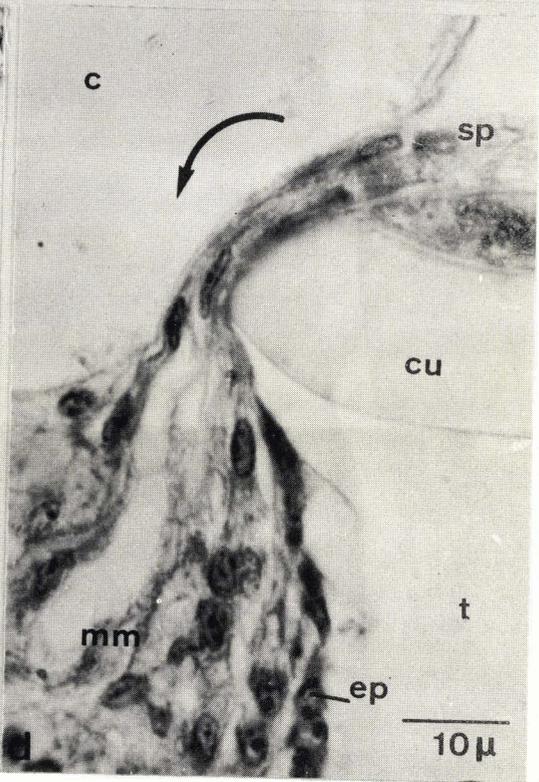
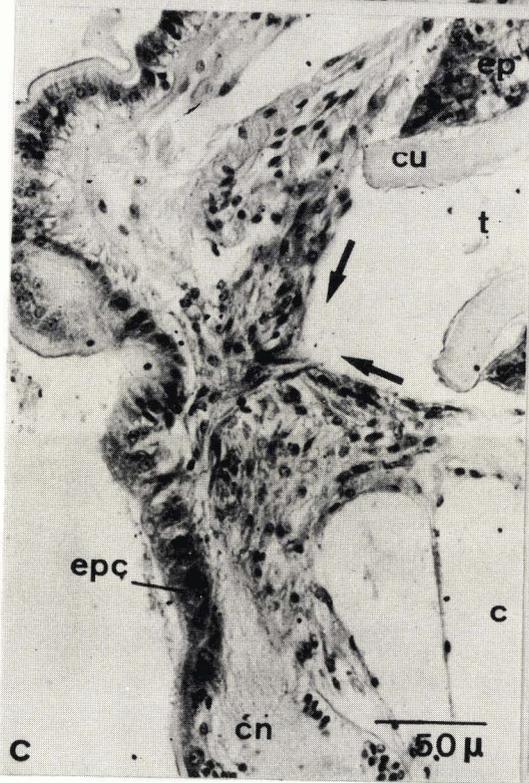
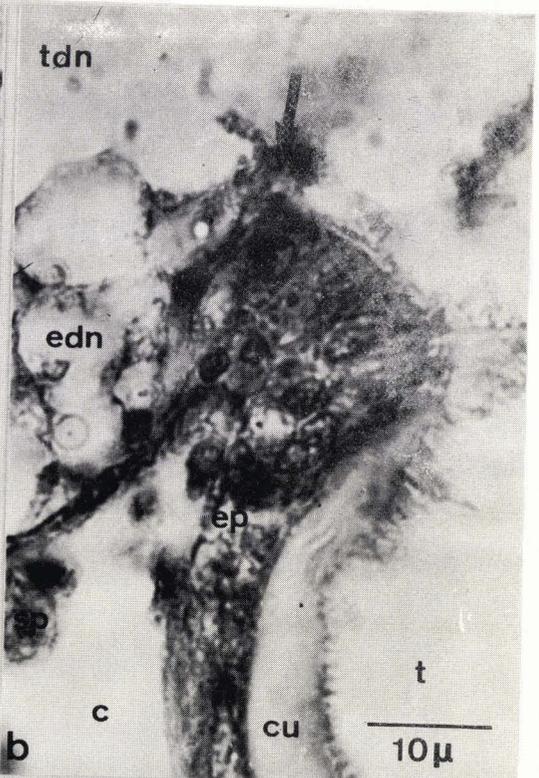
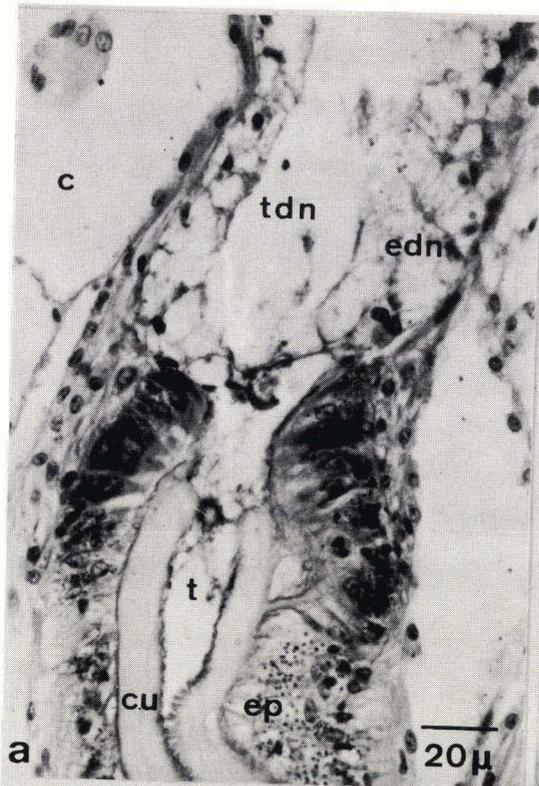
Régénération caudale de Syllis dans la zone de la trompe.

Fig.a - Aspect histologique du tube digestif néoformé (tdn) 9 jours après la section (coupe frontale). c : coelome; cu : cuticule; edn : épithélium digestif néoformé; ep : épithélium pharyngien; t : trompe.

Fig. b - Vue de détail de la jonction trompe.- tube digestif néo - formé (flèche) 11 jours après la section. Remarquer l'aspect déchiqueté de la surface cuticulaire. c : coelome; cu : cuticule; edn : épithélium digestif néoformé; ep : épithélium pharyngien; tdn : tube digestif néoformé; sp : splanchnopleure; t:trompe.

Fig.c - Vue d'ensemble de l'extrémité du tronçon 48 heures après la section (coupe sagittale).Noter les " courants" de cellules mésodermiques (flèches). c : coelome; cn : chaîne nerveuse ; cu : cuticule; ep : épithélium pharyngien; epc:épiderme cicatriciel; mm : massif mésodermique; t : trompe.

Fig.d - Vue de détail de "l'écoulement" des cellules de l'épithélium pharyngien (ep) et de la splanchnopleure (sp); la flèche indique le sens du mouvement. c : coelome; cu : cuticule; mm : massif mésodermique; t : trompe.



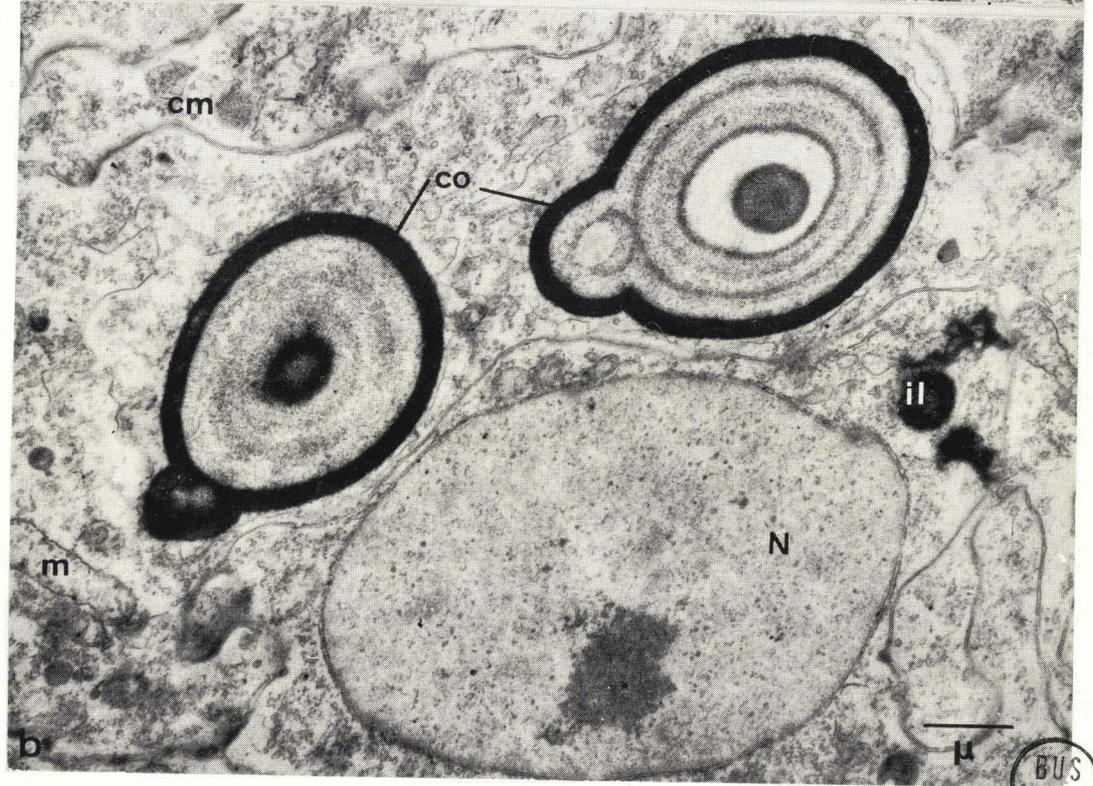
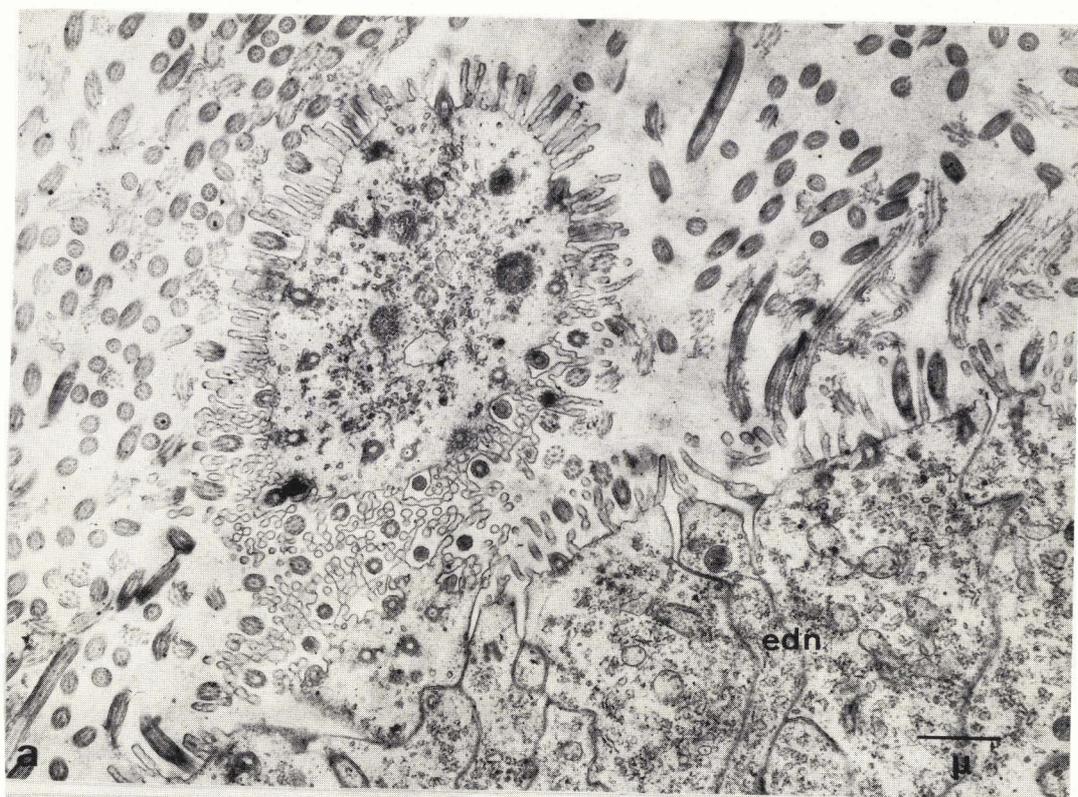
P L A N C H E XXIV

Régénération caudale de Syllis dans la zone de la trompe; ultrastructure du tube digestif néoformé (régénérats de 3 segments).

Fig.a - Zone apicale de l'épithélium digestif néoformé (edn). Noter l'abondance des cils et des microvillosités.

Fig.b - Zone moyenne de l'épithélium digestif néoformé. Remarquer les "concrétions urinaires" (co) et les inclusions lipidiques (il).
cm : corps multivésiculaires; m : mitochondries; N : noyau.





BUS
LILLE

P L A N C H E XXV

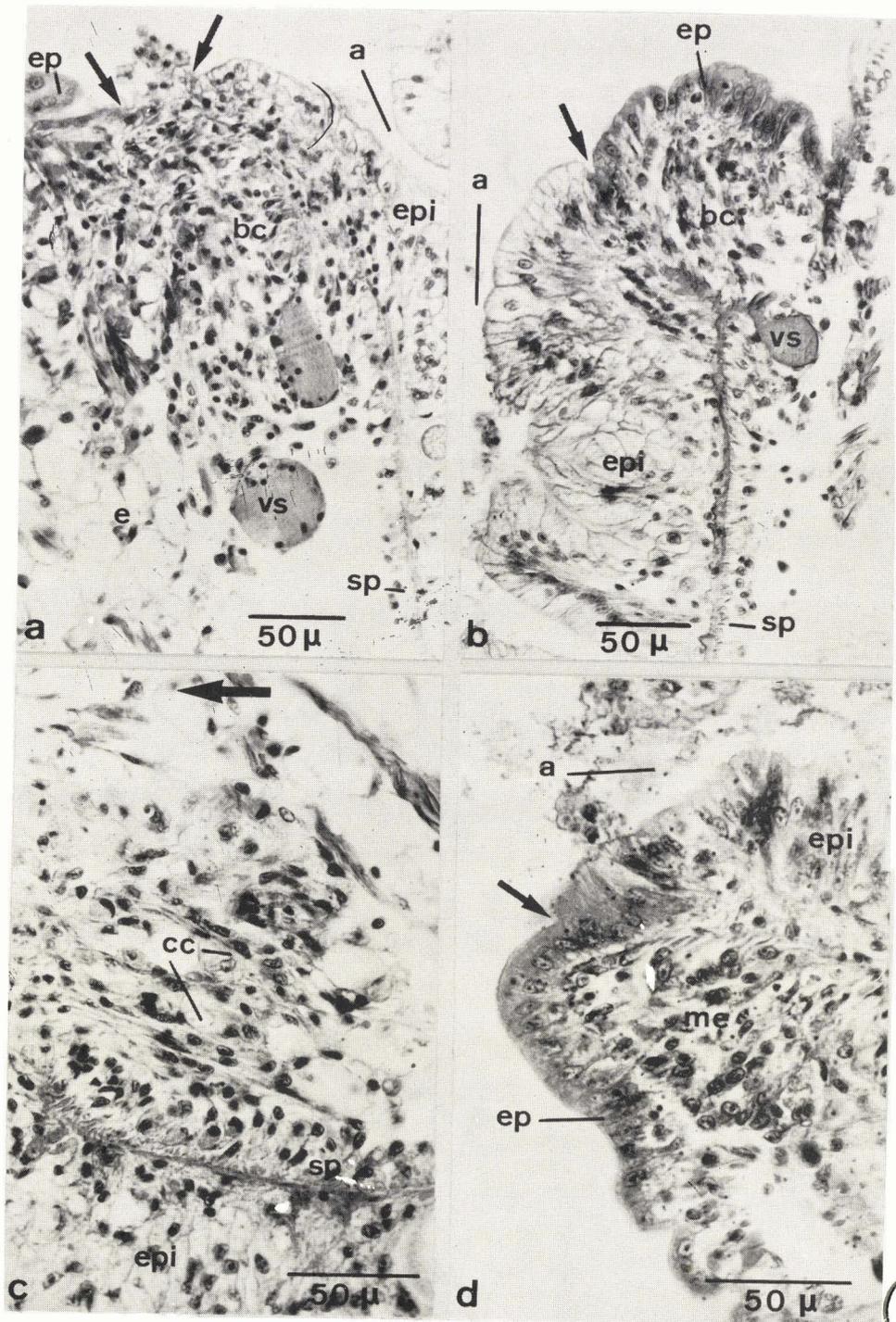
Régénération caudale de N.diversicolor.

Fig.a - Vue d'ensemble de l'extrémité du tronçon 17 heures après l'amputation. La jonction entre l'épiderme (ep) et l'épithélium intestinal (epi) n'est pas encore assurée (les flèches indiquent le niveau de section de chacun de ces deux tissus). Remarquer le grand nombre de cellules constituant le "bouchon cicatriciel" (bc), les hémocytes dans les vaisseaux sanguins(vs). a : anus; e : éléocytes; sp : splanchopleure.

Fig.b - Vue d'ensemble de l'extrémité du tronçon 3 jours après l'amputation. La jonction entre l'épiderme (ep) et l'épithélium intestinal (epi) est assurée (au niveau de la flèche). Noter l'état activé de l'épiderme, le faible nombre de cellules au niveau du "bouchon cicatriciel" (bc) (comparer avec la fig.a), la présence d'une basale sous l'épiderme. a : anus ; sp : splanchopleure; vs : vaisseau sanguin.

Fig.c - Vue de détail du " bouchon cicatriciel " (17 heures après l'amputation). Les cellules coelomiques (cc) sont allongées parallèlement à l'axe céphalo-caudal (indiqué par la flèche). epi : épithélium intestinal; sp : splanchopleure.

Fig.d - Vue de détail de l'extrémité du tronçon 4 jours après l'amputation. La flèche indique, le niveau de jonction entre l'épiderme (ep) et l'épithélium intestinal (epi); ces deux tissus sont activés; ils sont séparés du mésoderme sous-jacent (me) par une basale; les cellules mésodermiques sont activées. a : anus.



P L A N C H E XXVI

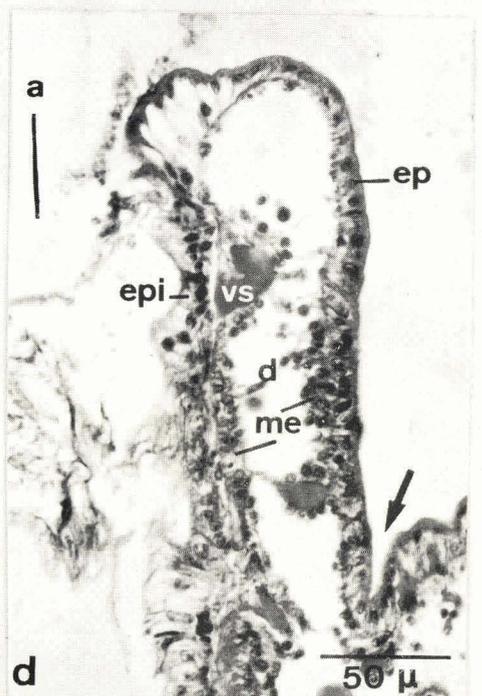
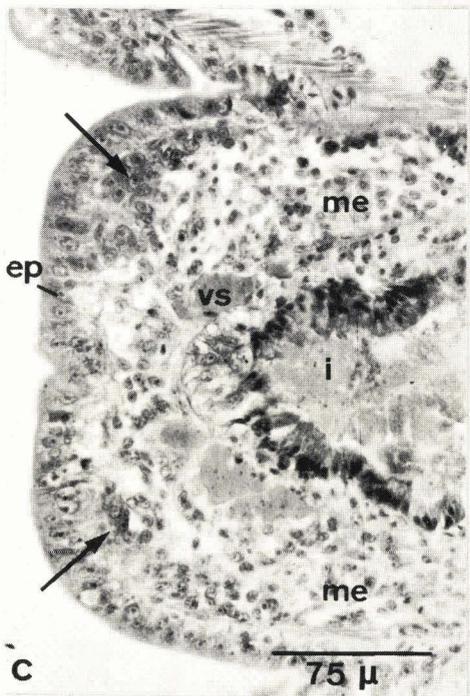
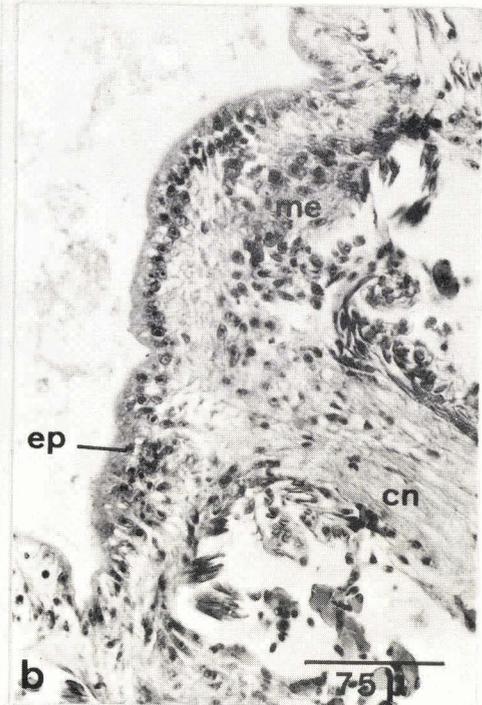
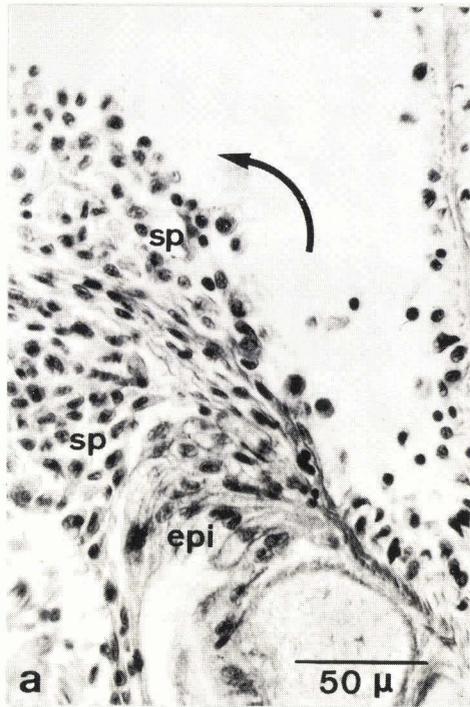
Régénération caudale de N.diversicolor.

Fig.a - Vue de détail d'une zone située à proximité du front de section (17 heures après l'amputation) montrant les cellules splanchnopleurales (sp) s'échappant de leur assise (la flèche indique le sens du déplacement).epi : épithélium intestinal.

Fig.b - Vue d'ensemble de l'extrémité d'un tronçon 4 jours après l'amputation - coupe frontale passant par la chaîne nerveuse (cn). Remarquer l'étalement de l'extrémité de la chaîne nerveuse sous l'épiderme (ep); les cellules épidermiques et mésodermiques (me) sont activées.

Fig.c - Section transversale passant dans un blastème de 7 jours. Remarquer les deux bandelettes mésodermiques (flèches).ep : épiderme; i : intestin; me : cellules mésodermiques; vs : vaisseau sanguin.

Fig.d - Répartition des cellules mésodermiques à l'intérieur d'un régénérat de 8 jours - coupe frontale, médiane (la flèche indique le niveau d'amputation). La plupart des cellules mésodermiques (me) sont placés à une certaine distance de l'extrémité du régénérat; quelques dissépiments (d) sont ébauchés. a : anus; ep : épiderme; epi : épithélium intestinal; vs : vaisseau sanguin.



BUS
LILLE

P L A N C H E XXVII

Régénération caudale de N. diversicolor après irradiation X (22500 r) suivie ou non de greffe de tissus sains.

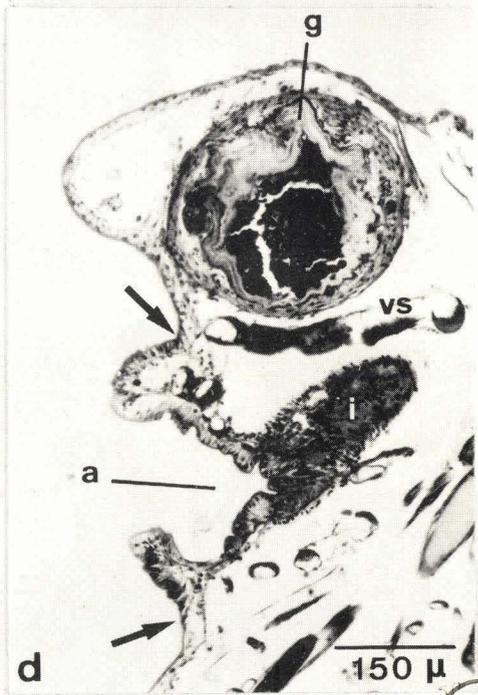
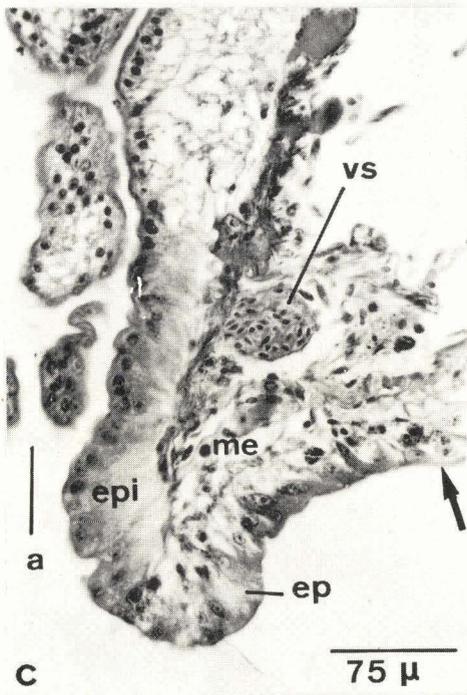
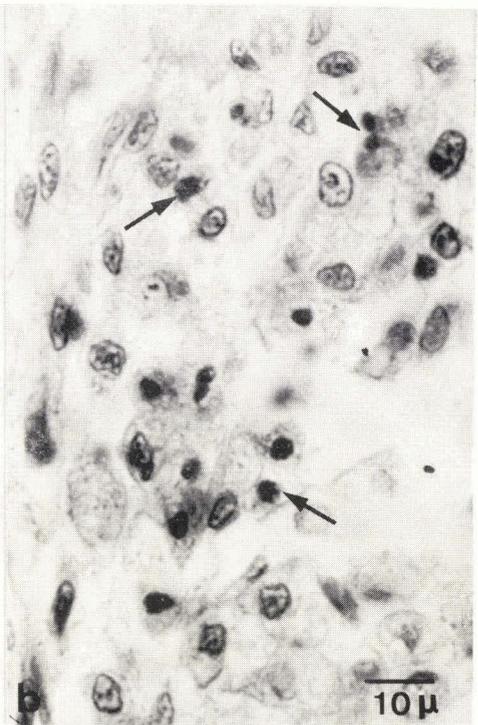
Fig.a - Irradiation X seule. Epiderme du blastème 2 mois après l'amputation; ses cellules sont activées: remarquer les noyaux de grande taille à nucléole volumineux (flèches); noter la présence de deux mitoses anormales (multipolaires).

Fig.b - Irradiation X seule. Etat des cellules du "bouchon cicatriciel" 48 heures après la section; remarquer la présence de nombreux noyaux en pycnose (flèches).

Fig.c - Irradiation X seule. Vue d'ensemble d'un blastème de régénération 2 mois après l'amputation (la flèche indique le niveau de la section); l'épiderme (ep) et l'épithélium intestinal (epi) sont activés; le mésoderme (me) n'est représenté que par un petit nombre de cellules pour la plupart non activées; le vaisseau sanguin (vs) contient un grand nombre d'hémocytes. a : anus.

Fig.d - Irradiation X suivie d'une greffe de pygidium sain. Vue d'ensemble de l'extrémité du tronçon 2 mois après l'amputation. Le blastème est édifié (les flèches indiquent le niveau d'amputation); le greffon (g) est complètement désorganisé et encapsulé par les linocytes. a : anus; i : intestin; vs : vaisseau sanguin.





BUS
LILLE

P L A N C H E XXVIII

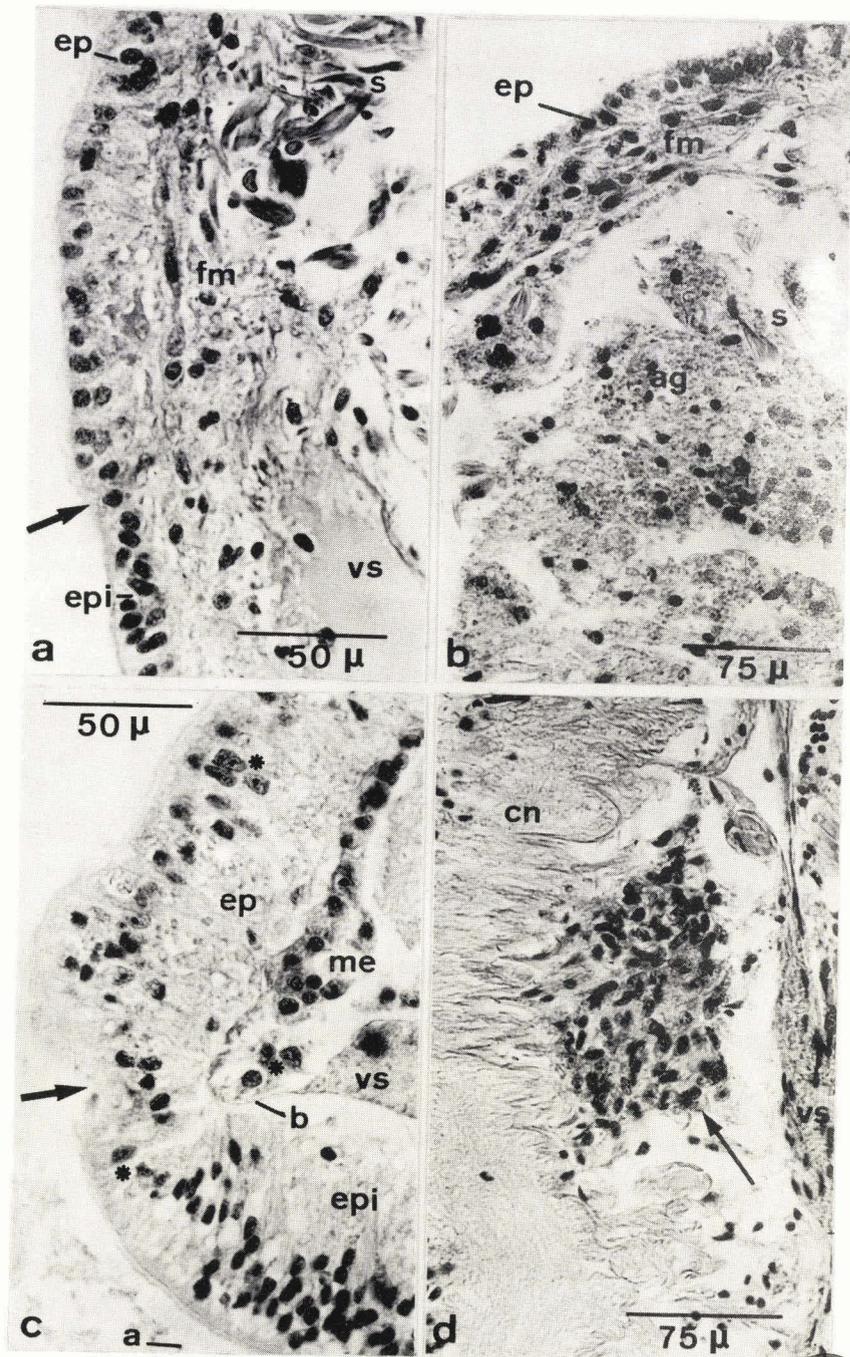
Régénération caudale de A.foetida.

Fig.a - Vue de détail de la jonction épiderme (ep) - épithélium intestinal (epi)(au niveau de la flèche) et des fibres musculaires dédifférenciées (fm) sous-jacentes (3 jours après la section). s : sarcolyte; vs : vaisseau sanguin.

Fig.b - Dédifférenciation musculaire dans l'extrémité d'un tronçon (4 jours après l'amputation). Remarquer les fibres musculaires pariétales dédifférenciées (fm) et l'amas granuleux (ag), contenant des noyaux et des sarcolytes (s), provenant vraisemblablement de la dédifférenciation de fibres musculaires. ep : épiderme.

Fig.c - Vue de détail d'une ébauche de blastème (5 jours après la section). L'épithélium intestinal (epi) et l'épiderme(ep) (soudés entre eux au niveau de la flèche) sont séparés du mésoderme sous-jacent (me) par une basale (b). Remarquer les cellules activées (astérisques). a : anus; vs : vaisseau sanguin.

Fig.d - Amas de cellules mésodermiques activées (flèches) situé à 4 segments du front de section (6 jours après l'amputation). cn : chaîne nerveuse; vv : vaisseau sanguin ventral.



BUS
LILLE

P L A N C H E XXIX

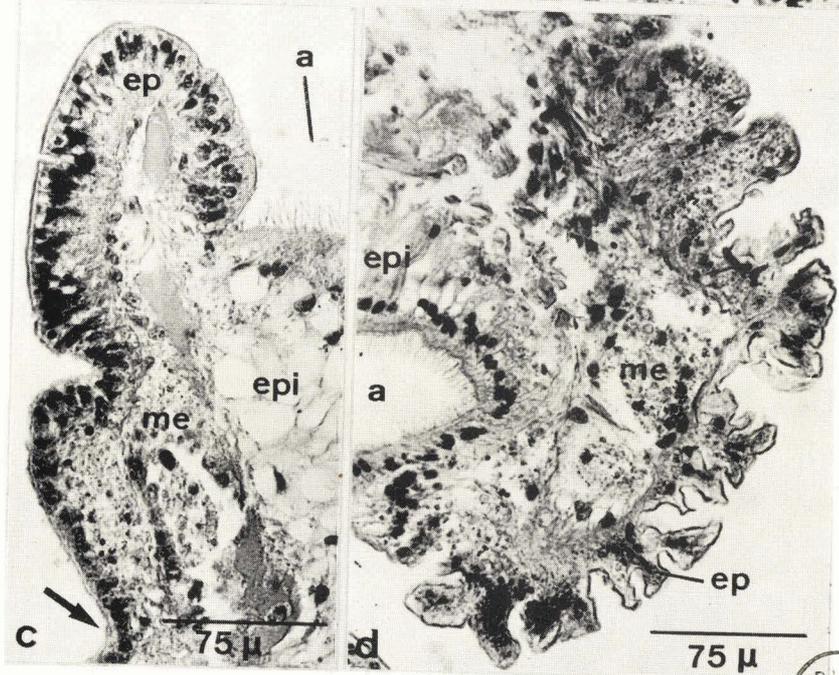
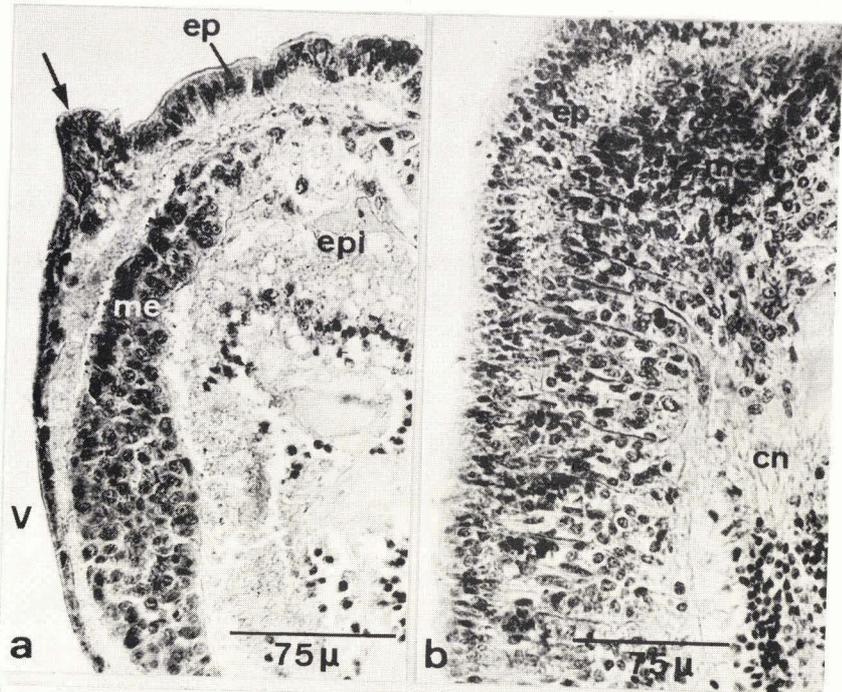
Régénération caudale de A.foetida.

Fig.a - Coupe transversale de blastème (6 jours après l'amputation). Remarquer l'ébauche de cirre anal (flèche), le nombre important de cellules mésodermiques (me). ep : épiderme; epi : épithélium intestinal; V : face ventrale du blastème.

Fig.b - Coupe frontale de blastème (7 jours après la section). Noter l'abondance des cellules mésodermiques (me); en dehors de la zone terminale du blastème, ces éléments sont organisés en travées transversales. cn : chaîne nerveuse; ep : épiderme.

Fig.c - Partie de blastème d'un individu irradié (10000r) 24 heures après l'amputation et fixé 64 jours après l'irradiation. Le mésoderme (me) est représenté par quelques rares cellules et apparaît granuleux. a : anus; ep : épiderme; epi : épithélium intestinal; la flèche indique le niveau d'amputation.

Fig.d - Partie de blastème d'un individu irradié (20000r) 24 heures après la section et fixé 60 jours après irradiation. Le mésoderme (me) présente les mêmes caractères que dans la fig.c;l'épiderme (ep) décrit de nombreuses circonvolutions.a : anus; epi : épithélium intestinal.

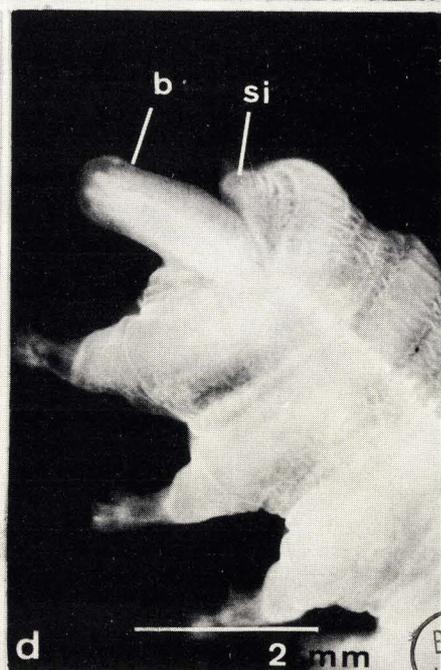
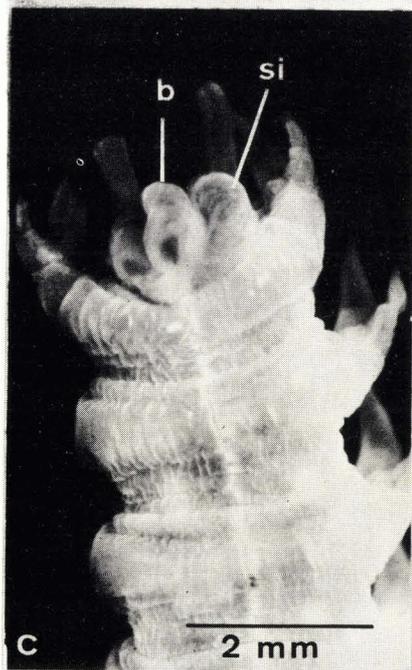
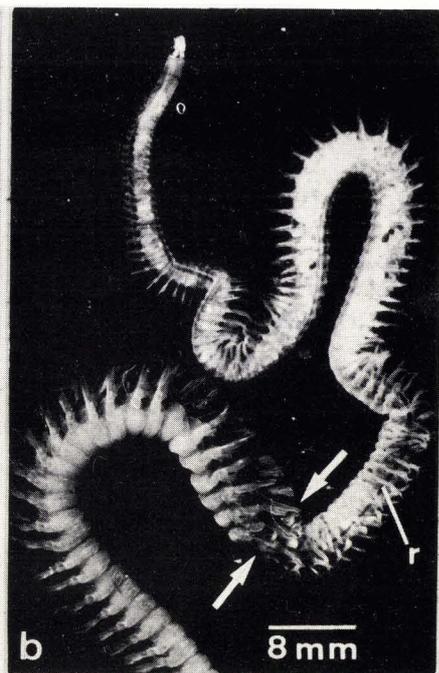


BUS
LILLE

P L A N C H E X X X

Régénération caudale d'Aricia foetida irradié localement (10000r, 24 heures après la section) 45 jours après l'irradiation.

- Fig.a - Irradiation du seul segment contigu au front de section. Le segment irradié (si) est intact, le blastème (b) indifférencié.
- Fig.b - Irradiation de l'ensemble du tronçon à l'exception du seul segment contigu au front de section. Le régénérat (r) comporte un grand nombre de segments; les flèches indiquent le niveau d'amputation.
- Fig.c - Irradiation du seul segment contigu au front de section. Le segment irradié (si) n'est plus représenté que par deux mamelons; le blastème (b) est indifférencié.
- Fig.d - Irradiation du seul segment contigu au front de section. Le segment irradié (si) est pratiquement résorbé; le blastème (b), en contact avec l'avant dernier segment, s'est allongé et commence à se métamériser.



BUS
LILLE

DEUXIEME THESE

Propositions données par la Faculté

ULTRASTRUCTURE DE LA CUTICULE
DES ANNELIDES

