

50376
1978
209

THESE

présentée

50376
1978
209

à l'Université des Sciences

et Techniques de Lille

pour obtenir

le Diplôme de Doctorat de III^e Cycle

de Biologie du Développement et de la Reproduction

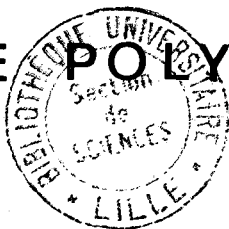
(Mention Endocrinologie des Invertébrés)

par

René-Pierre ENGELHARDT

CONTRIBUTION A L'ETUDE DES PHENOMENES NEUROENDOCRINES CHEZ

NEREIS DIVERSICOLOR O.F. MÜLLER
(ANNELIDE POLYCHETE)



soutenue le Septembre 1978

devant la commission d'examen

Président : M. M. DURCHON

Rapporteur : Mme N. DHAINAUT-COURTOIS

Examineurs : Mme J. GIRARDIE

: M. R. JOLY

SOMMAIRE

	Pages
INTRODUCTION	1
MATÉRIEL ET MÉTHODES	3
a - <u>Matériel</u>	3
b - <u>Méthodes</u>	3
1. <u>Techniques de microscopie photonique</u>	3
2. <u>Techniques de microscopie électronique</u>	
<u>à transmission</u>	3
2.1. <u>Préparation des pièces</u>	3
2.2. <u>Préparation des coupes</u>	4
3. <u>Capture de 5-hydroxytryptamine et</u>	
<u>de dopamine tritiées</u>	4
4. <u>Détermination de l'activité cholinestérasique</u>	5
RÉSULTATS	6
I - <u>ANATOMIE DU GANGLION SUS-OESOPHAGIEN</u>	6
A - <u>HISTORIQUE</u>	6
B - <u>OBSERVATIONS</u>	7
a - <u>Matériel et méthodes</u>	7
b - <u>Résultats</u>	7
1. <u>Description générale</u>	7
2. <u>Fibres nerveuses et noyaux ganglionnaires</u>	7
2.1. <u>Nerfs</u>	7
2.2. <u>Racines du collier périoesophagien</u>	8
2.3. <u>Commissures</u>	9
2.3.1. <u>Les commissures du collier</u>	
<u>périoesophagien</u>	9
2.3.2. <u>La commissure optique</u>	10
2.3.3. <u>La commissure postérieure</u>	10
2.3.4. <u>La commissure I</u>	10
3. <u>Les noyaux ganglionnaires ou <i>nuclei</i></u>	10

	Pages
II - <u>CYTOLOGIE ET CYTOCHIMIE DU GANGLION SUS-OESOPHAGIEN</u>	12
A - <u>HISTORIQUE</u>	12
B - <u>OBSERVATIONS</u>	13
a - <u>Matériel et méthodes</u>	13
1. <u>Techniques de microscopie photonique</u>	13
1.1. <u>Détection de la neurosécrétion</u>	13
1.1.1. Techniques sans prétraitement oxydatif	13
1.1.2. Techniques avec prétraitement oxydatif	13
1.2. <u>Mise en évidence des glucides</u>	14
b - <u>Résultats</u>	15
1. <u>Types cellulaires observés en microscopie photonique</u>	15
1.1. <u>Localisation générale des péricaryons neurosécréteurs</u>	15
1.2. <u>Description fine des types cellulaires I-VI</u>	17
1.2.1. Le type cellulaire I	17
1.2.2. Le type cellulaire II	19
1.2.3. Le type cellulaire III	19
1.2.4. Le type cellulaire IV	19
1.2.5. Le type cellulaire V	20
1.2.6. Le type cellulaire VI	20
1.3. <u>Mise en évidence des glucides</u>	20
2. <u>Types cellulaires observés en microscopie électronique à transmission</u>	22
2.1. <u>Description ultrastructurale des types cellulaires I-VI</u>	22
2.1.1. Le type cellulaire I	22
2.1.1.1. Le type cellulaire Ia	22
2.1.1.2. Le type cellulaire Ib	23
2.1.1.3. Le type cellulaire Ic	24
2.1.2. Le type cellulaire II	24
2.1.3. Le type cellulaire III	25
2.1.4. Le type cellulaire IV	26

	Pages
2.1.5. Le type cellulaire V	27
2.1.5.1. Description générale	27
2.1.5.2. Les cellules "b" de SCHARRER	27
2.1.6. Le type cellulaire VI	28
3. <u>Comparaison avec les types cellulaires décrits antérieurement chez d'autres <i>Nereidae</i></u>	28
c - <u>Discussion</u>	30
 III - <u>LE COMPLEXE CEREBRO-VASCULAIRE</u>	33
A - <u>HISTORIQUE</u>	33
B - <u>OBSERVATIONS</u>	34
a - <u>Matériel et méthodes</u>	34
1. <u>Etude histologique</u>	34
2. <u>Etude expérimentale</u>	34
b - <u>Résultats</u>	35
1. <u>Observations réalisées en microscopie photonique</u>	35
1.1. Le cône intracérébral	35
1.2. La capsule cérébrale	36
1.3. Les cellules infracérébrales	37
2. <u>Observations réalisées en microscopie électronique</u>	37
2.1. Le cône intracérébral	37
2.1.1. Les fibres névrogliques	37
2.1.2. Terminaisons axonales riches en mitochondries	38
2.1.3. Terminaisons axonales riches en grains élémentaires (neurosecré- toires)	38
2.2. La capsule cérébrale	39
2.3. Les cellules infracérébrales	40
3. <u>Etude expérimentale</u>	41
c - <u>Discussion</u>	41

	Pages
IV - <u>ETUDE DES AMINES BIOGENES</u>	44
A - <u>HISTORIQUE</u>	44
B - <u>OBSERVATIONS</u>	45
a - <u>Matériel et méthodes</u>	45
b - <u>Résultats</u>	45
c - <u>Discussion</u>	46
V - <u>DOSAGE DE LA BUTYRYLCHOLINESTERASE (E.C.3.1.1.8.)</u>	47
A - <u>HISTORIQUE</u>	47
B - <u>ETUDE BIOCHIMIQUE</u>	47
a - <u>Techniques de dosage</u>	47
1. <u>Dosage de l'activité cholinestérasique</u>	47
2. <u>Dosage des protéines</u>	48
b - <u>expression des résultats</u>	48
c - <u>Discussion</u>	49
DISCUSSION ET CONCLUSION GÉNÉRALES	50
RÉSUMÉ	55
SUMMARY	56
BIBLIOGRAPHIE	57

CONTRIBUTION A L'ETUDE DES
PHENOMENES NEUROENDOCRINES

CHEZ

NEREIS DIVERSICOLOR O.F. MÜLLER

(ANNELIDE POLYCHETE)

INTRODUCTION

De nombreuses études expérimentales entreprises sur le système nerveux des *Nereidae* ont pu apporter des preuves décisives quant à l'influence du ganglion sus-oesophagien dans les processus de maturation génitale, de régénération et d'inhibition de l'épitoquie (DURCHON, 1948 à 67 ; HAUENSCHILD, 1956 à 65 ; CHOQUET, 1962 ; CLARK et RUSTON, 1963 ; DHAINAUT et PORCHET, 1967 ; MALECHA, 1967 ; GOLDING, 1967a ; BASKIN et GOLDING, 1970).

L'activité endocrine cérébrale n'est pas constante : importante durant la phase juvénile, elle diminue progressivement chez le ver d'âge moyen pour s'annuler pratiquement à l'approche de la maturité sexuelle. La chute de cette activité cérébrale pouvant résulter d'un conditionnement externe de l'animal (HAUENSCHILD, 1959, 1960a, 1960b ; CLARK, 1966) et de facteurs internes (DURCHON, 1952 ; PORCHET, 1970, 1974).

Des recherches morphologique et histochimiques entreprises sur le système nerveux de ces vers (cf bibliographie dans les chapitres suivants) ont permis de mettre en évidence l'existence de très nombreux types cellulaires et d'au moins deux types de cellules neurosécrétrices (définition conventionnelle de KNOWLES et BERN (1966)) dont les axones se terminent au niveau d'un espace neurohémal : le complexe cérébro-vasculaire.

D'autres recherches essentiellement biochimiques, autoradiographiques et enzymatiques (cf bibliographie chapitre IV) ont également permis d'émettre l'hypothèse de la présence simultanée chez la *Nereis* de monoamines biogènes, d'acide gamma-amino-butyrique et d'un système cholinergique.

Dans le but d'une meilleure connaissance des systèmes nerveux des *Nereidae*, nous avons choisi comme matériel *Nereis diversicolor* O.F. Müller ; ce ver très étudié dans notre laboratoire et dans les laboratoires étrangers, est susceptible d'être cultivé *in vitro* ; il fournit par conséquent un excellent matériel biologique.

Nous étudierons successivement :

- l'anatomie du ganglion sus-oesophagien en précisant la position des noyaux ganglionnaires et des principaux faisceaux de fibres ;
- la structure fine de la région postérieure de ce ganglion, zone où sont situées les cellules neurosécrétrices et où l'activité endocrine est la plus importante chez le ver jeune (DURCHON et DHAINAUT-COURTOIS, 1964 ; HOFFMANN, 1975 ; GOLDING et WHITTLE, 1977) ;

- l'architecture du complexe cérébro-vasculaire ;
- la capture, au niveau du système nerveux de *Nereis diversicolor*, de certaines substances marquées au tritium : 5-hydroxytryptamine, dopamine ; sa signification physiologique sera discutée.

Nous envisagerons aussi les résultats d'un dosage biochimique de l'activité butyrylcholinestérasique présente au sein du corps de *Nereis diversicolor*.

MATERIEL ET METHODES

a - Matériel

Les différents lots de *Nereis diversicolor* ont été récoltés dans le petit port de Boulogne.

Accessoirement, d'autres espèces de *Nereis* ont été étudiées : les exemplaires de *Nereis pelagica* ont été récoltés à Ambleteuse ; les *Perinereis cultrifera* proviennent de la station biologique de Luc-sur-Mer ; les exemplaires de *N. succinea* ont été pêchés dans le canal de Caen à la mer, près de Pegasus Bridge, en eau saumâtre (salinité de 12 ‰). Ces vers sont ensuite utilisés immédiatement ou conservés quelques jours en chambre froide à 4°C et à l'obscurité.

b - Méthodes

Dans le but de pouvoir observer l'ensemble du ganglion sus-oesophagien, des têtes entières et des prostomiums de *Nereis* ont été fixés et coupés en vue de l'examen histologique par les techniques de microscopie photonique et électronique.

D'autres exemplaires ont été traités en vue des techniques d'autoradiographie (incorporation de 5-HT-³H et de DA-³H) et de la technique de détermination de l'activité cholinestérasique.

1. Techniques de microscopie photonique

Deux méthodes de fixation ont été utilisées :

- pour l'étude anatomique du ganglion sus-oesophagien de *Nereis diversicolor* par les techniques d'imprégnation argentique et pour la méthode de fluorescence à la géranine G, nous avons utilisé un milieu à base de formol.
- pour l'étude cytochimique de ce ganglion, nous avons employé le liquide de Bouin Hollande dépourvu d'acide acétique.

Les pièces ainsi traitées sont ensuite incluses dans de la cytoparaffine (point de fusion 56-58°C) et coupées à 5-7 µ. Les coupes ainsi obtenues sont alternées de manière à faciliter la correspondance entre les différentes techniques de coloration.

2. Techniques de microscopie électronique à transmission

2.1. Préparation des pièces

Des prostomiums de *Nereis* sont fixés pendant 3 h 30 à 4°C dans le mélange glutaraldéhyde 25 %, tampon phosphate 0,4 M pH 7,2,

chlorure de sodium 2,5 % (3:6:15) puis lavés à 4°C trois fois dans le mélange tampon phosphate 0,4 M, sucrose 0,33 M (1:3). Les pièces sont ensuite post-fixées pendant 1 heure à 2°C dans le mélange : tétroxyde d'osmium 2 %, tampon phosphate 0,4 M pH 7,2, chlorure de sodium 2,5 % (5:3:3) puis deshydratées et incluses dans l'araldite.

2.2. Préparation des coupes

Les pièces sont coupées à l'aide d'un ultramicrotome Sorvall Porter Blum MT 1 muni de couteaux en verre. Les coupes semi-fines (épaisseur de 0,5 μ environ) sont colorées à chaud par une solution de bleu azur à 0,1 % en milieu alcalin.

D'autres coupes semi-fines (épaisseur de 2,5 μ environ) sont colorées par la fuchsine paralaldéhyde selon GABE (1953) suivie d'une contre coloration par le trichrome de HALMI (1952), modifié par CLARK (1955), par une technique que j'ai adaptée pour l'inclusion à l'araldite.

Des coupes ultrafines (épaisseur de 600 Å à 800 Å) sont traitées par la double coloration acétate d'uranyle (selon WATSON, 1958) pendant 1 mn 30 sec, citrate de plomb (selon REYNOLDS, 1963) pendant 10 mn.

3. Capture de 5-hydroxytryptamine et de dopamine tritiées

Des prostomiums choisis pour l'observation du système nerveux central, ont été incubés en présence de 5-HT-³H (Amersham Searle, activité spécifique 10-20 Ci/mM), et de DA-³H (C.E.A., activité spécifique 18 Ci/mM) selon le protocole utilisé par (TAXI et GAUTRON 1969; DHAINAUT-COURTOIS et DHAINAUT, 1976) pour la mise en évidence de la sérotonine respectivement chez *Aplysia californica* et *Nereis diversicolor*.

L'incubation a été effectuée à 15°C dans de l'eau de mer stérile contenant de la 5-HT-³H ou de la DA-³H à une concentration de 25 à 40 μ Ci/mM. Le milieu d'incubation est agité modérément et de manière continue. Les temps d'incubation de 30 mn, 1h 30 ou 2 heures, n'ont pas apporté de différences appréciables.

Les prostomiums sont ensuite rincés dans l'eau de mer pendant quinze minutes et fixés pendant trois heures dans une solution de glutaraldéhyde à 3% dans du tampon phosphate Sørensen 0,2 M à pH 7,2.

Après fixation, le matériel est rincé pendant une heure dans le tampon puis post-fixé dans une solution tamponnée de tétroxyde d'osmium à 2%.

Après deshydratation, les pièces sont incluses dans l'araldite. Les coupes semi-fines de 2 à 3 μ d'épaisseur sont ensuite préparées pour l'autoradiographie et exposées pendant 4 à 6 semaines.

4. Détermination de l'activité cholinestérasique

Ce dosage effectué sur des corps de *Nereis diversicolor* décapitées ne constitue qu'une étude préliminaire. Nous avons prévu d'effectuer d'autres dosages sur des cerveaux et des trompes de *Nereis diversicolor*.

Dix corps de *Nereis* décapitées sont rincés quatre fois dans du tampon phosphate 0,1 M pH 7,2 à 4°C puis homogénéisés dans 5ml de tampon avec un homogénéisateur Virtis à vitesse maximum pendant 15 minutes à 4°C.

La suspension est ensuite congelée à -20°C et centrifugée à 20000 g à 4°C pendant 20 minutes.

Le surnageant est gardé à -20°C jusqu'à utilisation :

- une partie de ce surnageant servira à la détermination des concentrations protéiques (LOWRY *et al.*, 1951),
- l'autre partie a été utilisée pour le dosage des cholinestérases non spécifiques : substrat butyrylthiocholine.

RESULTATS

I - ANATOMIE DU GANGLION SUS-OESOPHAGIEN

A - HISTORIQUE

Une mise au point bibliographique récente ayant été effectuée par DHAINAUT-COURTOIS (1970), nous rappelons brièvement les travaux importants effectués sur le ganglion sus-oesophagien des *Nereidae*.

Les premières descriptions ont été l'oeuvre de QUATREFAGES (1867), RACOWITZA (1896) et HAMAKER (1899). Ce dernier auteur décrit le cerveau des *Nereidae* comme ayant "une forme trapézoïdale dont la paire d'yeux antérieurs marque l'extrémité du côté le plus court". (cité in DHAINAUT-COURTOIS, 1970). D'autres études entreprises par HOLMGREN (1916), BOBIN et DURCHON (1952, 1953), DEFRETIN (1952, 1953, 1955, 1956), RICHARD (1964), ont permis de confirmer cet aspect morphologique chez de nombreuses espèces de *Nereidae*, et notamment chez *N. diversicolor*, *P. cultrifera*, *N. irrorata*, *P. marionii*, *N. fucata*, *N. longissima* et *L. glauca*.

Les premières études histologiques menées sur le système nerveux central des annélides en général, et des *Nereidae* en particulier, datent du siècle dernier : EHLERS (1868), RETZIUS (1895), RACOWITZA (1896), HAMAKER (1898).

Les observations de ces premiers auteurs, ainsi que les importantes descriptions de HOLMGREN (1916) et de HANSTRÖM (1928), présentent encore actuellement une grande valeur scientifique (travaux souvent cités dans BULLOCK et HORRIDGE, 1965 ; DHAINAUT-COURTOIS, 1970).

Ces nombreux travaux ont apporté une contribution importante à la connaissance actuelle du système nerveux central de *Nereis diversicolor*. Le ganglion sus-oesophagien de ce ver présente une architecture semblable à celle retrouvée chez d'autres annélides : "centre fibreux formé par le neuropile, anneau de corps cellulaires périphériques, entouré par de la névroglie" (BULLOCK et HORRIDGE, 1965, cité in DHAINAUT-COURTOIS, 1970).

HOLMGREN (1916) puis HANSTRÖM (1928) y ont décrit seize paires de nerfs auxquelles viennent s'ajouter les racines du collier périoesophagien, et les différentes commissures (cf. tableau I. Ces auteurs ont également établi une nomenclature des nombreux groupes cellulaires présents dans le cerveau de ce ver : ils ont distingué dans chaque moitié du cerveau vingt-six noyaux ganglionnaires (cf. tableau II). Deux d'entre-eux : les noyaux 12 et 21

Tableau I - Fibres nerveuses présentes dans le ganglion sus-oesophagien de *N. diversicolor* : nomenclature de HOLMGREN (1916) parfaite par HANSTRÖM (1927, 1928), cité in DHAINAUT-COURTOIS (1970).

Fibres	Nomenclature ou classification	Position
Nerfs antérieurs et médians	I	Nerfs médians du prostomium (moteurs et sensitifs), innervent également le proboscis.
	II	Nerfs antennaires immédiatement latéraux aux précédents qui se dirigent vers la région dorsale du prostomium.
Nerfs antéro-latéraux	III	Nerfs commençant par un organe sensoriel caractéristique (RETZIUS, 1895) situé entre le prostomium et le bord dorsal et médian du palpe (sensitifs).
	IV	Nerfs s'étendant vers le bord latéral du prostomium (moteurs).
	V	Nerfs essentiellement sensitifs, mais avec des faisceaux moteurs, se divisant le plus souvent en trois au niveau de la partie médiane du palpe.
	VI	Grands nerfs palpaux.
	VII	Nerfs palpaux dorsaux.
	VIII	Nerfs palpaux latéraux.
	IX	Nerfs palpaux dont la racine est située ventralement.
Nerfs latéraux et postérieurs	X et XI	Nerfs optiques.
	XII, XIII et XIV	Nerfs formant des plexus en liaison avec le système nerveux périphérique localisé dans le prostomium. Les nerfs XII et XIII se trouvent immédiatement derrière les yeux antérieurs et postérieurs, les nerfs XIV sont situés au bord postérieur du cerveau.
	XV	Nerfs des organes nucaux sortant par l'angle postérieur du cerveau.
	XVI	Nerfs se rendant de l'aire postéro-dorsale du cerveau vers l'arrière.
Commissures	I	Région antérieure du cerveau ; elle est constituée en majeure partie par les fibres du nerf I.
	II	Située en peu en arrière de la première.
	III	Grande commissure des palpes, s'étend loin vers l'arrière.
	Commissure optique	Localisée dorsalement loin vers l'arrière, non loin de la région supérieure des yeux postérieurs.
	Commissure nucale	Se situe en-dessous et en arrière de la précédente.
Racines du collier périoesophagien	3 (HOLMGREN)	Les deux premières dorsales, la troisième ventrale.
	2 (HANSTRÖM)	La première ventrale, la seconde dorsale.

Tableau II - Localisation des groupes cellulaires dans le ganglion sus-oesophagien de *Nereis diversicolor* : nomenclature de HOLMGREN (1916) ; cité in DHAINAUT-COURTOIS (1970).

Noyaux ganglionnaires : Nomenclature	Position (et nature) des noyaux ganglionnaires
1 - 2 - 3	- Partie la plus antérieure du cerveau, les 3 <i>globuli</i> se suivent dans l'ordre de l'avant vers l'arrière. Les <i>globuli</i> 1 et 2 possèdent chacun un pédoncule (Stiele I et II), tandis que le <i>globulus</i> III en a deux (Stiele IIIa et IIIb) ; ils sont formés de petites cellules très chromatiques.
4	- Région antérieure et dorsale du cerveau, il est grand, rond et pair, mais s'associe avec son vis-à-vis sur la ligne médiane. Il est formé de grandes cellules piriformes.
5 - 6 - 7	- Bordant le neuropile latéralement et dorsalement. - Le noyau 5 est latéral et recouvert dans la région antéro-médiane par les <i>globuli</i> 2 - 3. - Le noyau 6 est en partie latéral, il est situé vers le haut du <i>globulus</i> 3. - Le noyau 7 est dorsal, il est recouvert dans sa partie antérieure par le <i>globulus</i> 3.
8	- Position dorsale au niveau de la région antérieure du <i>globulus</i> 3. Son bord distal relie les deux noyaux suivants.
9 - 10	- Divergent vers l'arrière à partir du noyau 8 ; noyaux de forme allongée. - La partie postérieure du noyau 9 est relativement latérale. - La partie postérieure du noyau 10 s'approche de la ligne médiane.
11	- Près du bord postérieur du noyau 10 ; noyau petit et pair, touchant son vis-à-vis sur la ligne médiane.
12	- Devant le noyau 11, noyau médian et impair.
13	- Ventral, il s'étend latéralement parallèlement au bord du neuropile non loin de la sortie du nerf antennaire. Il n'est pas recouvert par d'autres noyaux.
14	- Ventral, situé à la racine du nerf antennaire ; il n'est pas recouvert latéralement par les noyaux dorsaux.
15 - 16 - 17	- Forment de l'extérieur vers l'intérieur une rangée transversale. - Le noyau 15 en majeure partie latéral et ventral recouvre ventralement la partie basale du nerf nuchal. - Le noyau 16 n'est pas décrit par HOLMGREN. - Le noyau 17 occupe une portion plus médiane.
18	- Noyau sensoriel du nerf nuchal (XV)
19	- Noyau sensoriel du nerf dorso-ventral (XVI)
20	- Relié au noyau 17 vers l'arrière, il s'étend dans le noyau 19 avec deux appendices, l'un dorsal, l'autre ventral plus grand.
21	- Le plus postérieur des noyaux impairs, position dorso-médiane.
22	- Postérieur et ventral, et proche de la ligne médiane ; noyau de petite taille.
23	- Région antérieure du cerveau, entre le noyau 4 et les <i>globuli</i> .
24 - 25	- Ventraux, presque complètement recouverts par les <i>globuli</i> 2 et 3. Le noyau 25 s'étend latéralement et vers l'arrière jusqu'au bord latéral du neuropile et s'associe dans cette région avec la partie latérale du noyau 6.
26	- En avant de la racine ventrale du collier périoesophagien, ce noyau comprend des neurones unipolaires dont certains envoient leurs axones dans la deuxième racine du connectif périoesophagien. Il diffère d'un individu à l'autre.



fusionnent avec la formation symétrique par rapport au plan sagittal pour former un groupe cellulaire unique.

En dépit du nombre de ces précédents travaux, l'étude du cerveau de *Nereis diversicolor* s'avère longue et assez délicate. Les schémas des premiers auteurs ne sont pas toujours faciles à interpréter, surtout en l'absence d'un nombre suffisant de supports photographiques ; il nous a donc semblé utile de clarifier les données morphologiques existantes avant d'aborder l'étude des phénomènes neurosécrétoires.

B - OBSERVATIONS

a - Matériel et méthodes

Après fixation et inclusion selon les méthodes décrites précédemment, les prostomiums de *Nereis diversicolor* sont traités par deux techniques d'imprégnation argentique :

- l'imprégnation selon HOLMES (1947), effectuée sur des coupes transversales et horizontales de 20 μ d'épaisseur ;
- l'imprégnation selon BETCHAKU (1960), appliquée à des coupes de 8 μ d'épaisseur.

b - Résultats

1. Description générale

Le ganglion sus-oesophagien de *N. diversicolor* est bien différencié. En ce qui concerne la neurologie comparative : le neuropile y est plus important et plus complexe que chez *N. pelagica* et *N. succinea*. Les noyaux ganglionnaires y sont également mieux individualisés et on peut noter la présence chez ce ver d'un important noyau ganglionnaire : le noyau 26 (planches 1, fig. d ; planches 2 et 3, planche 10, fig. d). Nous n'avons pas retrouvé ce noyau chez les autres espèces que nous avons observées.

2. Fibres nerveuses et noyaux ganglionnaires

2.1. Nerfs

Des coupes sériées nous ont permis de retrouver les seize paires de nerfs précédemment cités.

Le nerf I, situé très antérieurement, a essentiellement pour origine le noyau 4 (planche 1, fig. a ; planche 9, fig. a ; planche 10, fig. e ; Fig. 8 et 12).

Le nerf II, qui constitue le nerf antennaire, occupe une position assez dorsale dans le cerveau antérieur (planche 1, fig. a, c, d ; planche 10, fig. a). Son origine se situe dans le cerveau moyen au niveau de la commissure ventrale de la racine postérieure dorsale du collier périoesophagien (planche 5, fig. a).

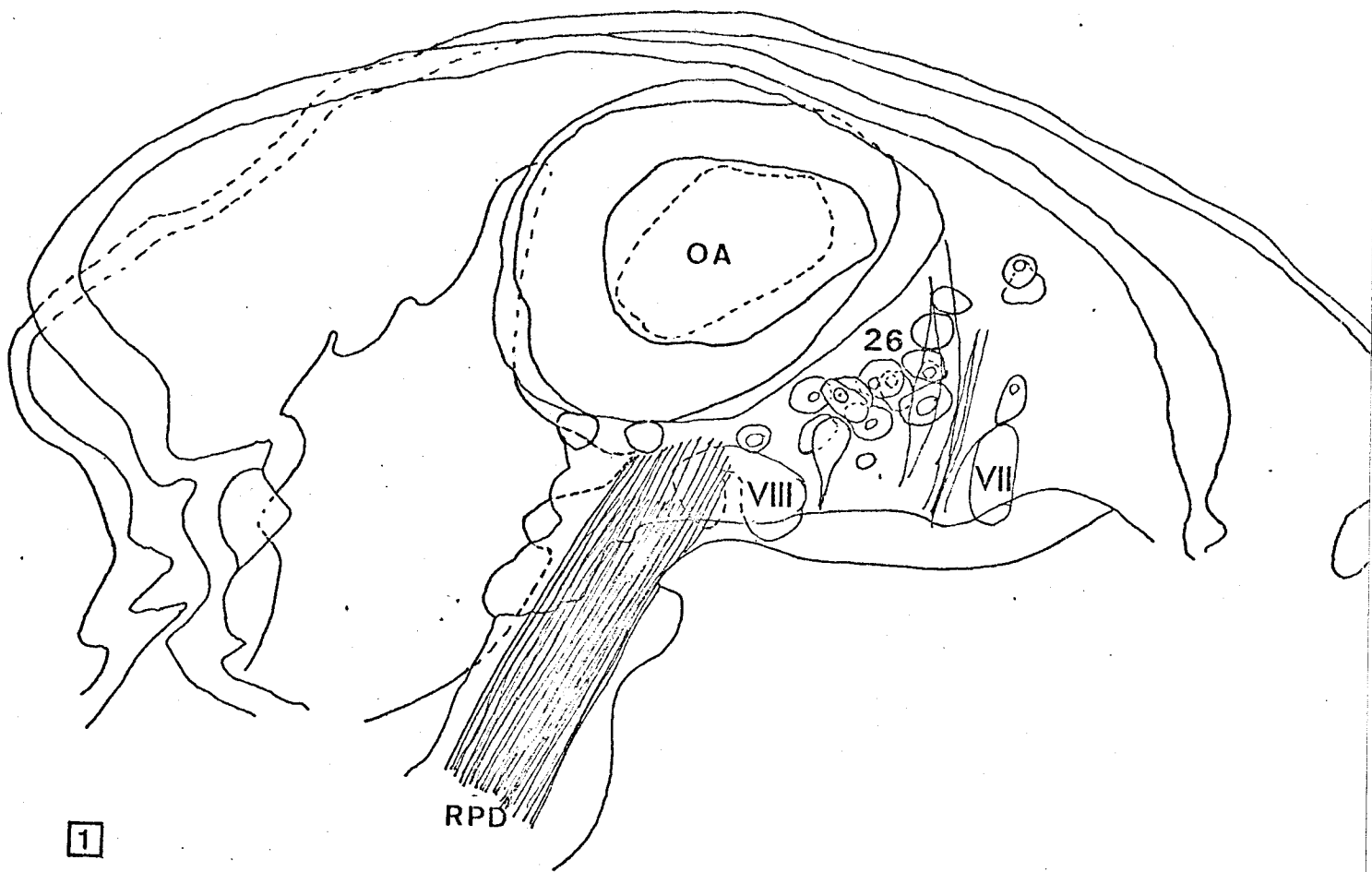
FIGURES 1 à 18

Représentation schématique de la structure fine du cerveau de *N. diversicolor* (diamètre ovocytaire environ 30 μ) à partir de coupes sagittales sériées de 8 μ d'épaisseur, traitées par l'imprégnation argentique (BETCHAKU, 1960).

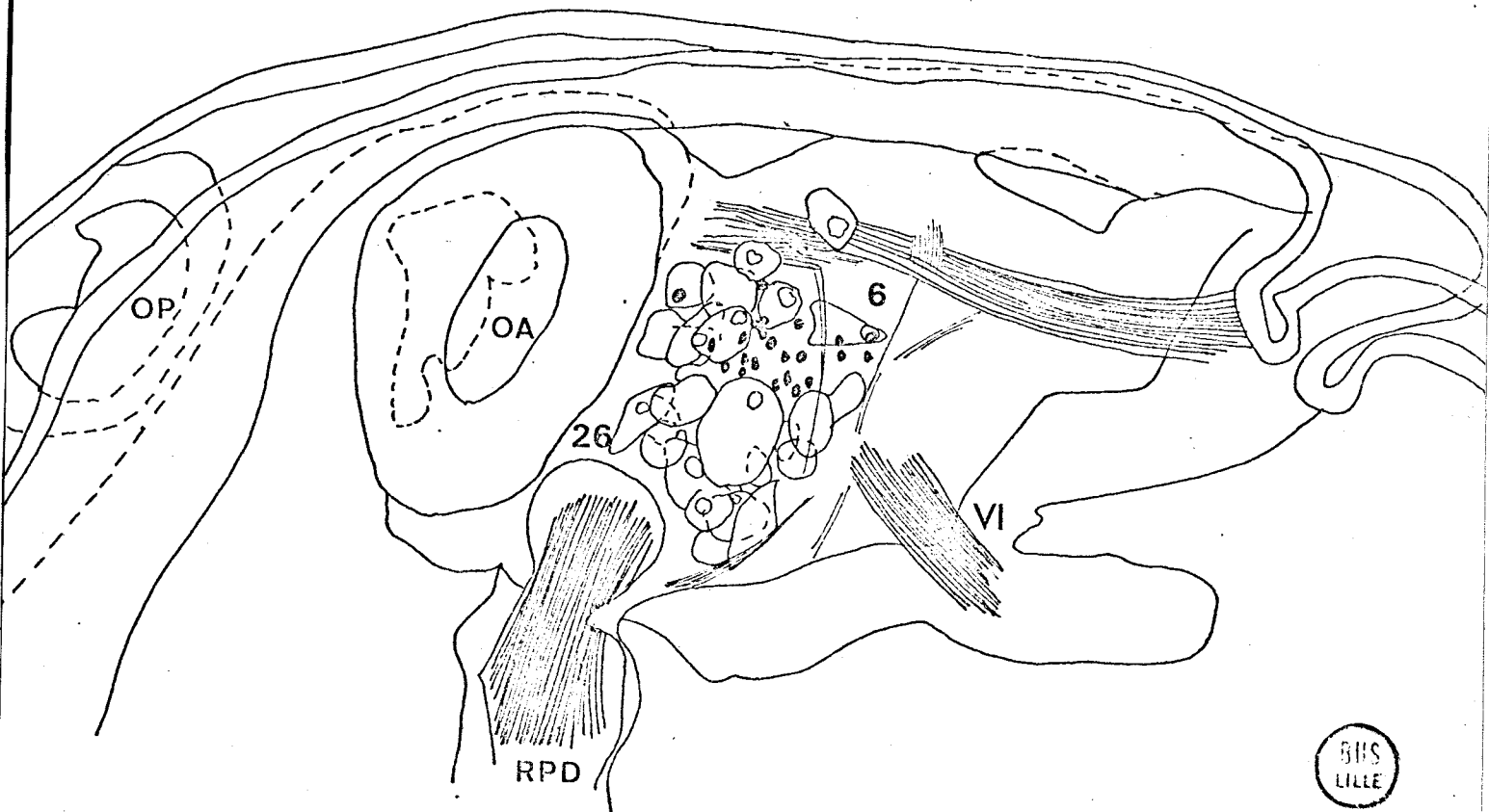
Chaque figure représente une épaisseur de 40 μ .

- CO : commissure optique
- GR : granulocytes (terminologie selon BASKIN, 1971b).
- NP : neuropile
- OA : oeil antérieur
- OP : oeil postérieur
- RAV : racine antérieure ventrale du collier périoesophagien
- RI : région infracérébrale
- RPD : racine postérieure dorsale du collier périoesophagien
- TCA : tube coelomique antérieur
- TCP : tube coelomique postérieur
- VS : vaisseau

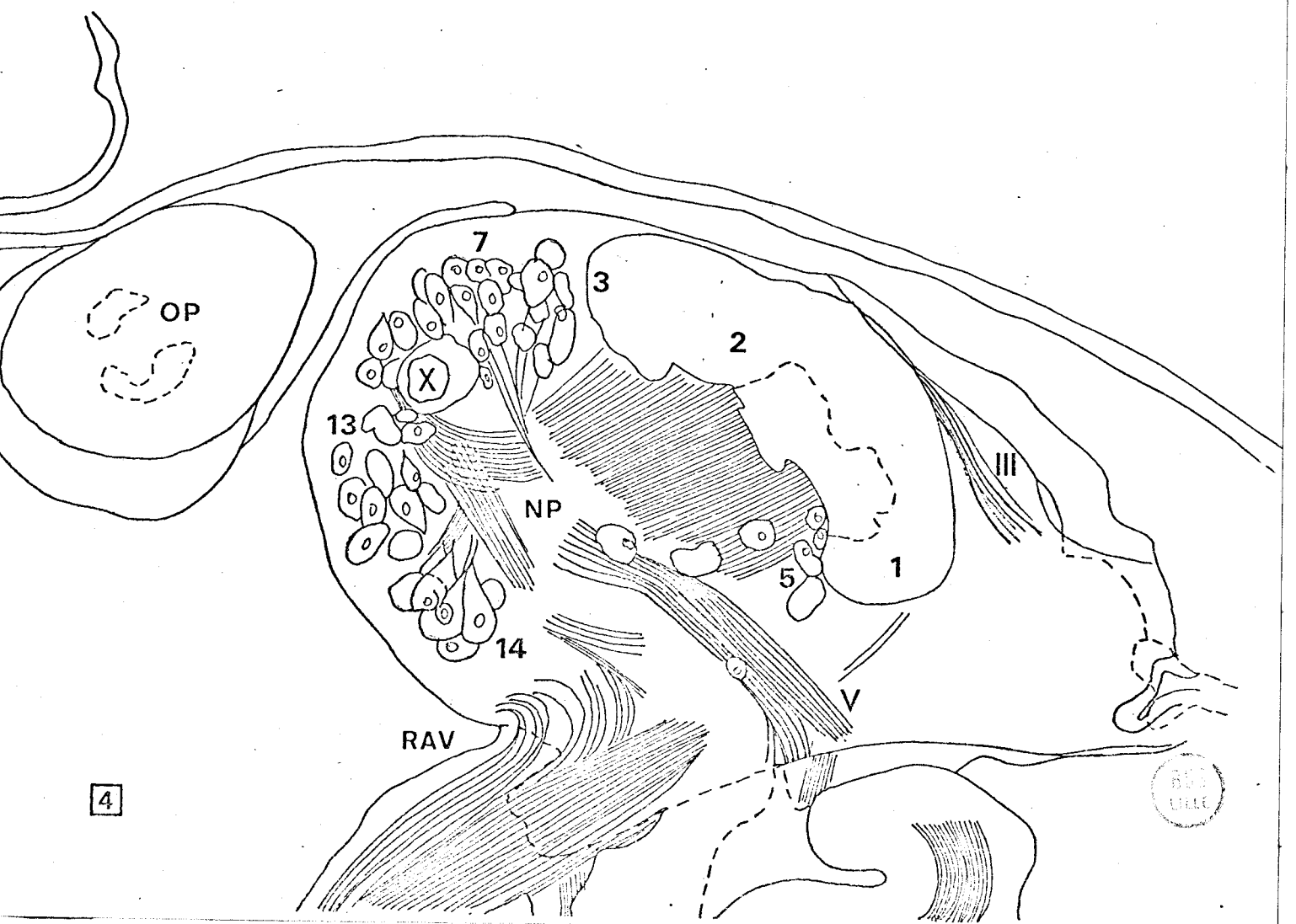
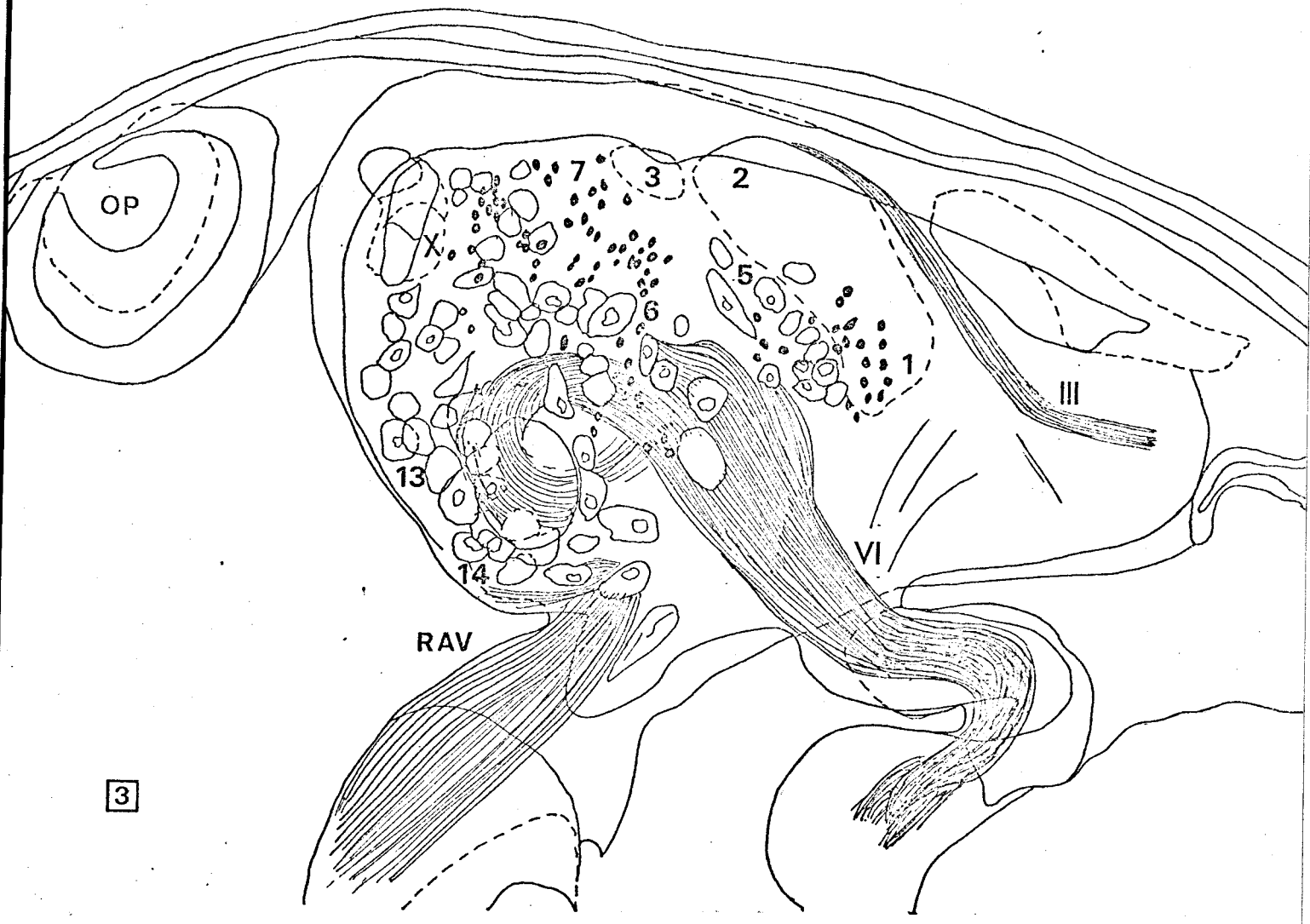
Les chiffres romains et arabes désignent respectivement les différents nerfs et noyaux ganglionnaires.



100μ

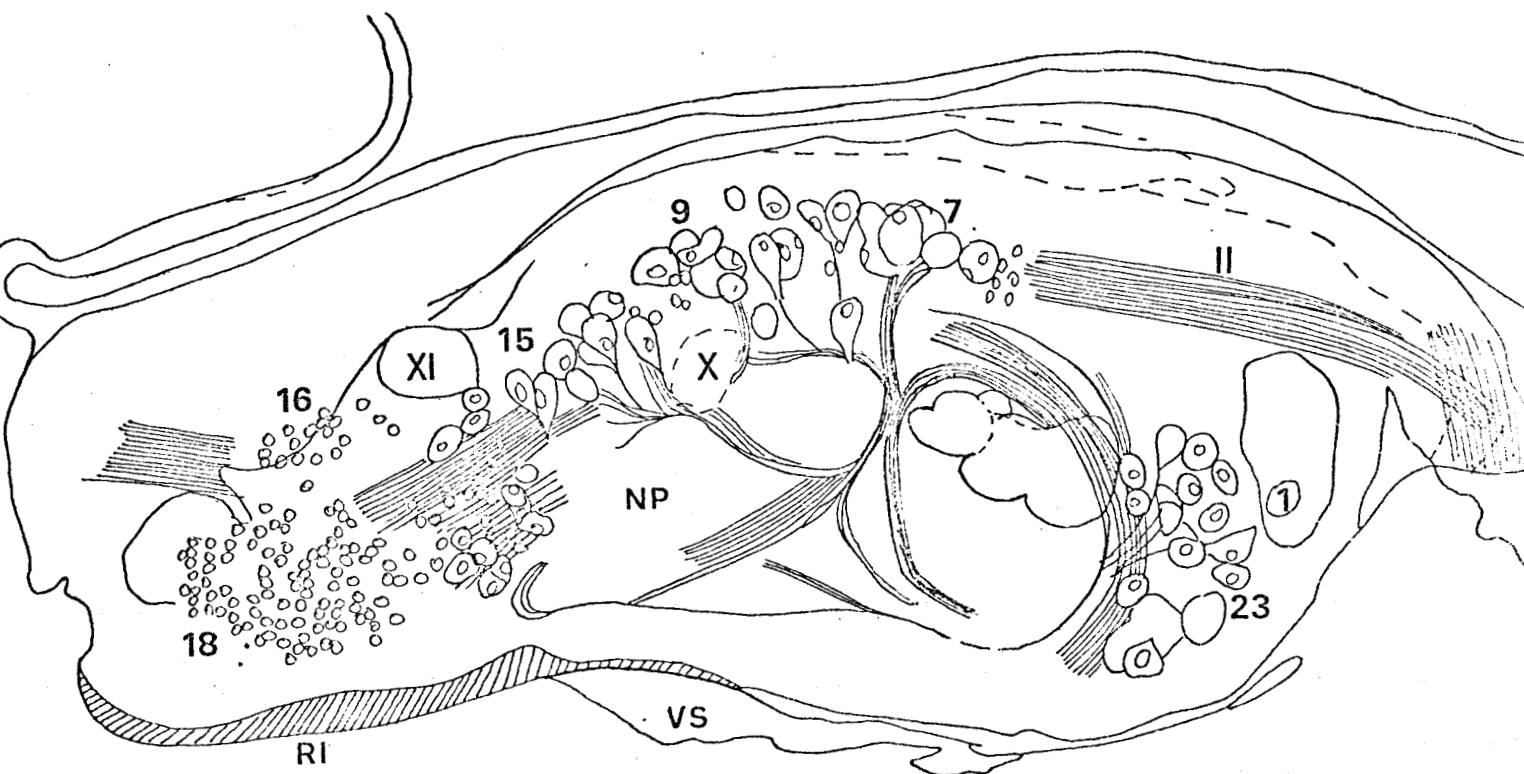


BUS
LILLE





5

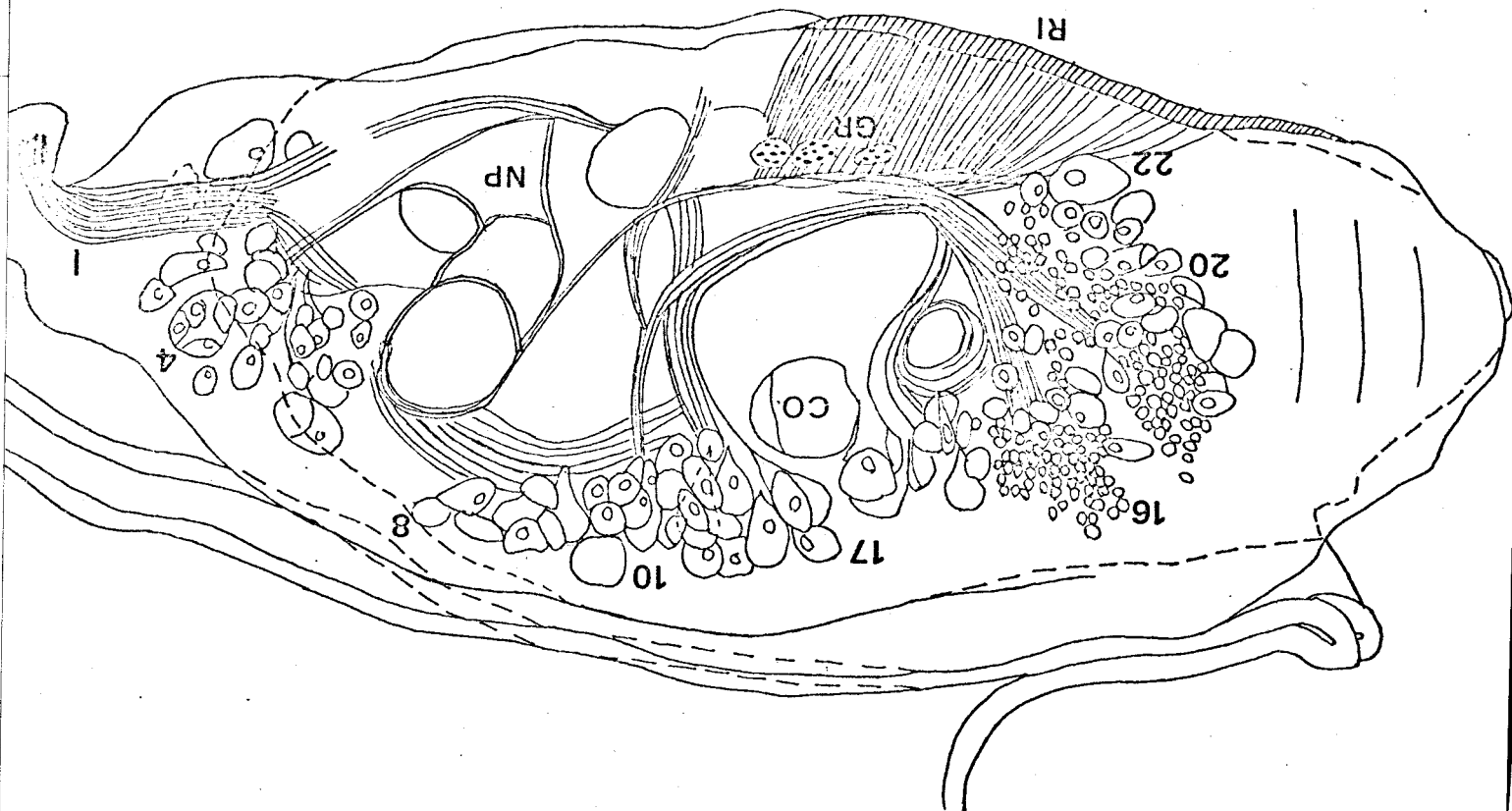


6

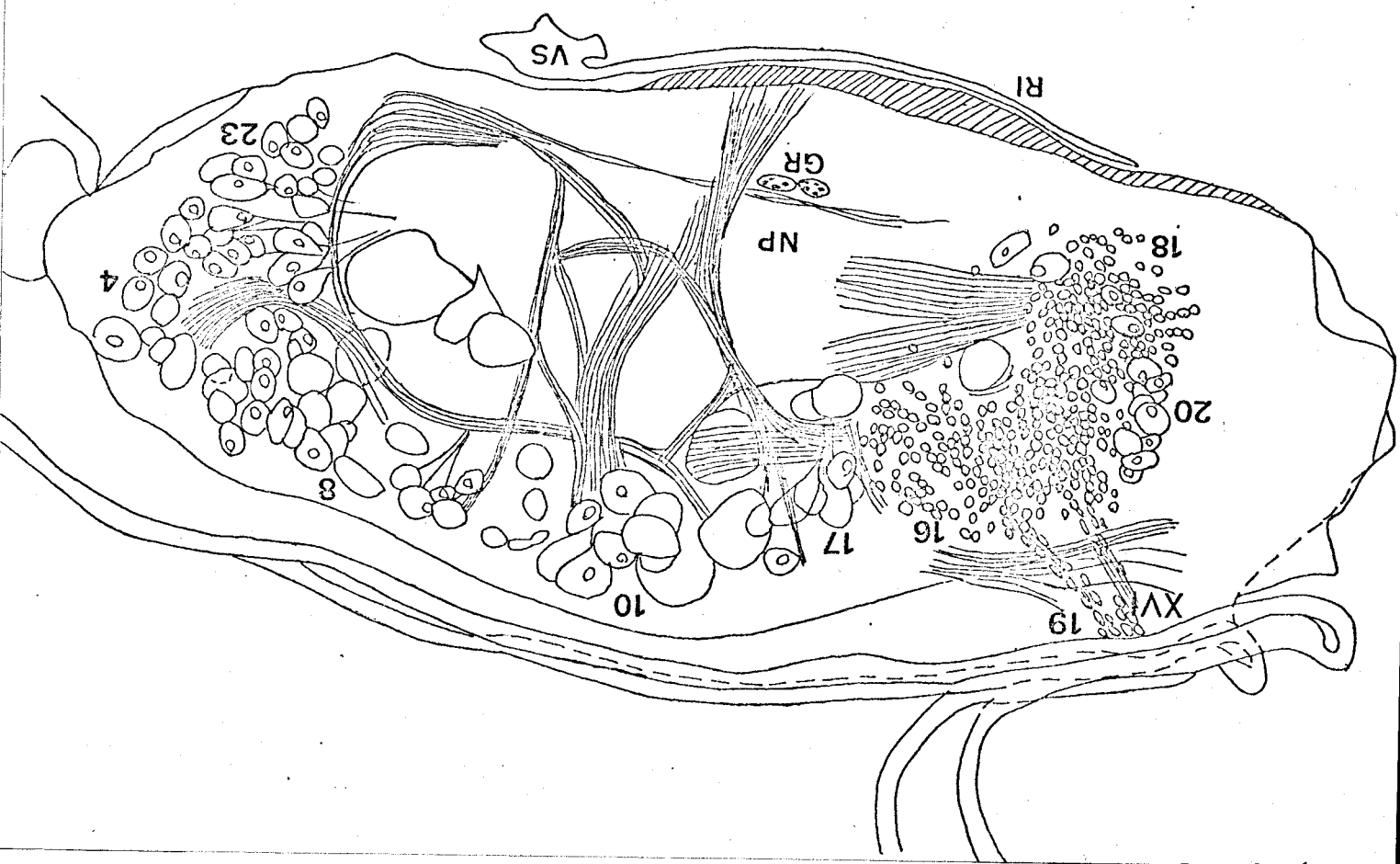


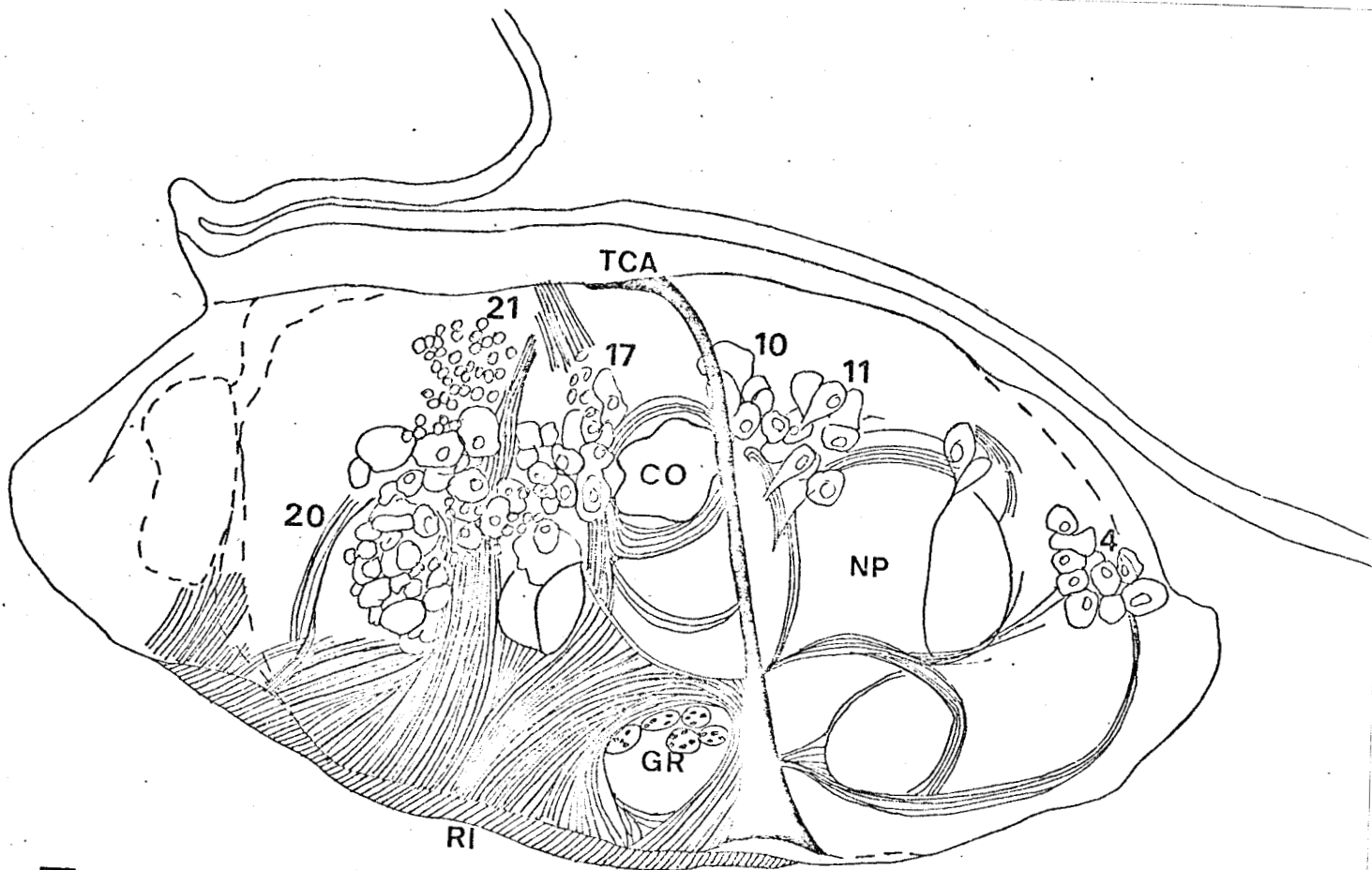
8

8US
LITE

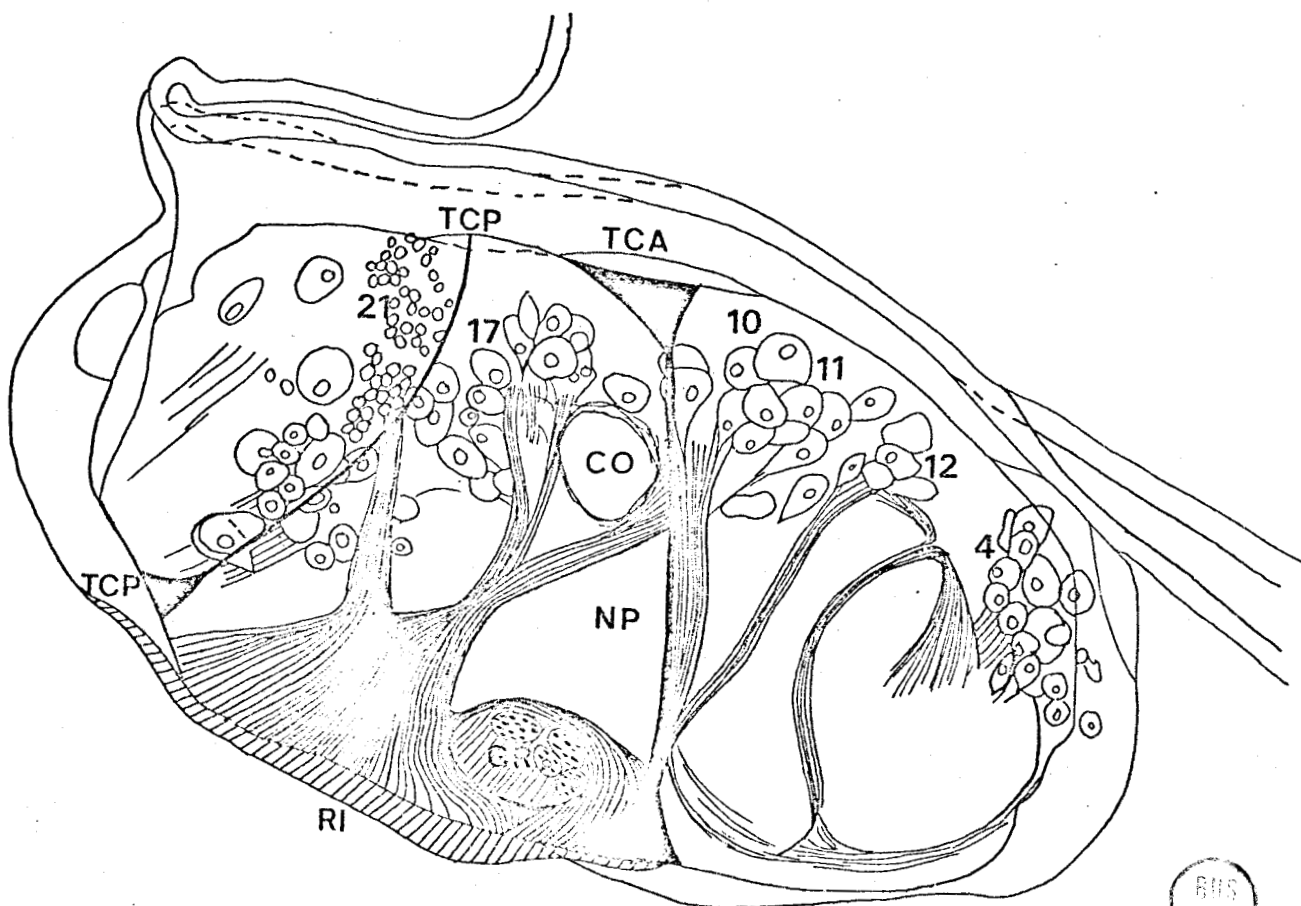


7



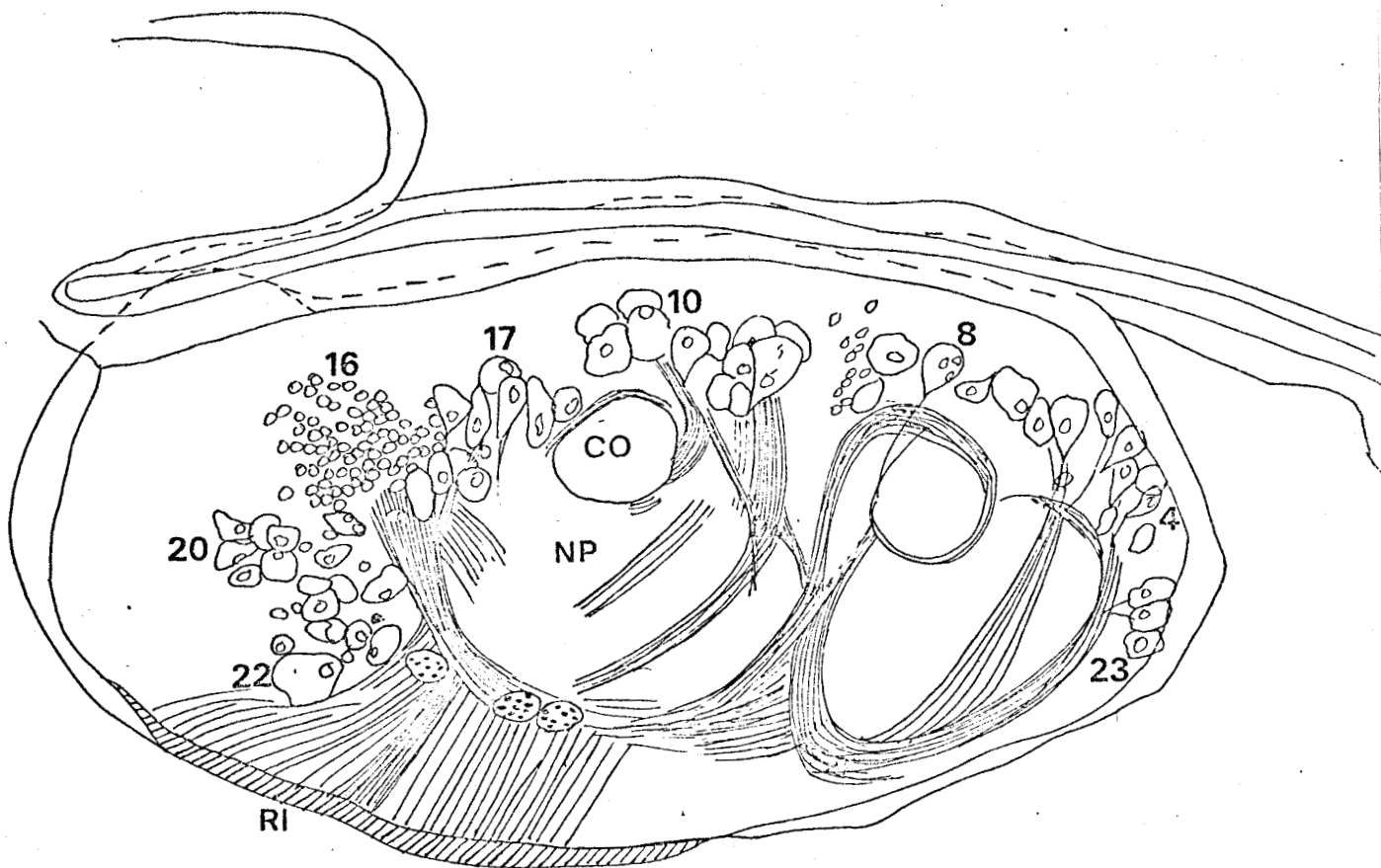


9

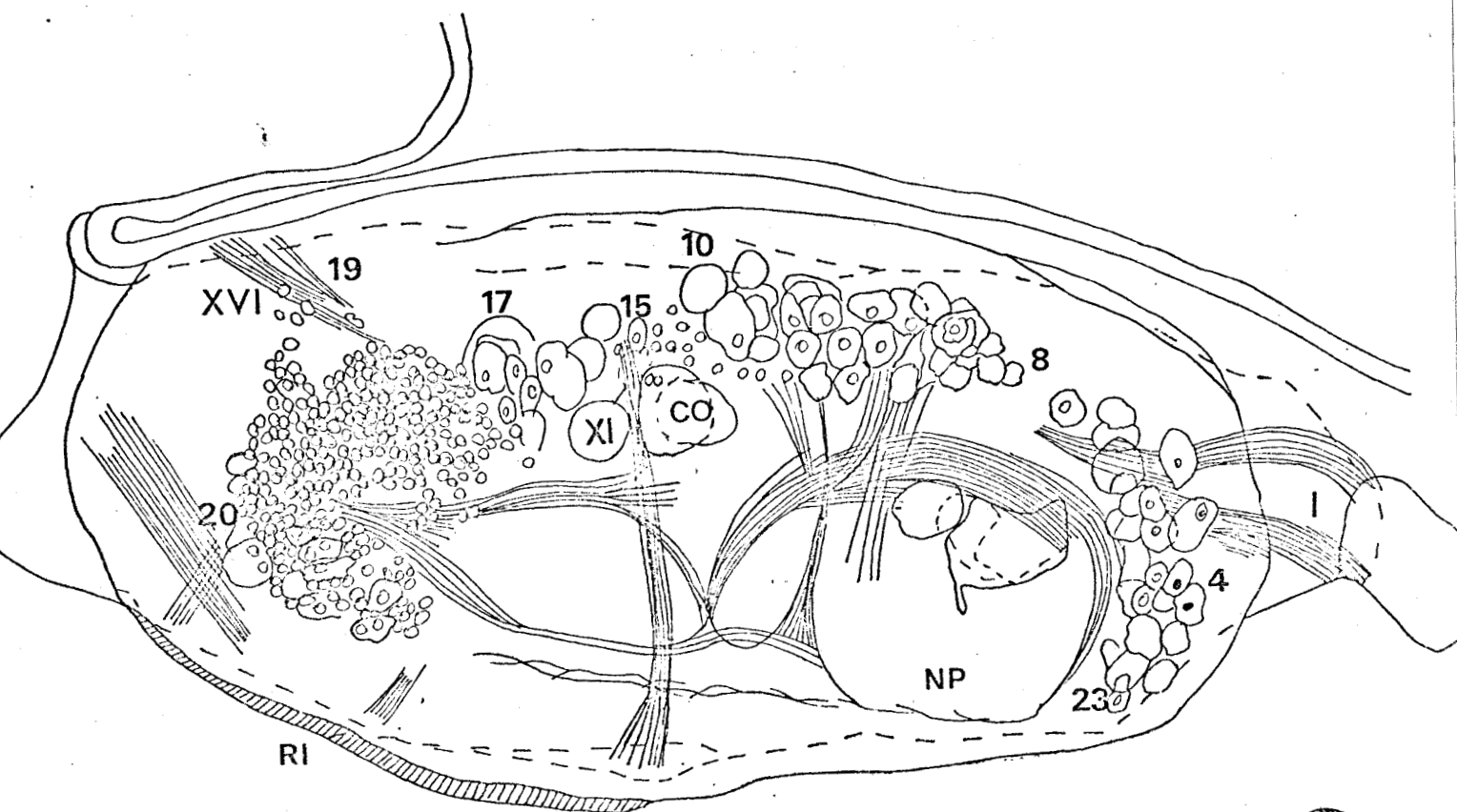


BUS
LILLE

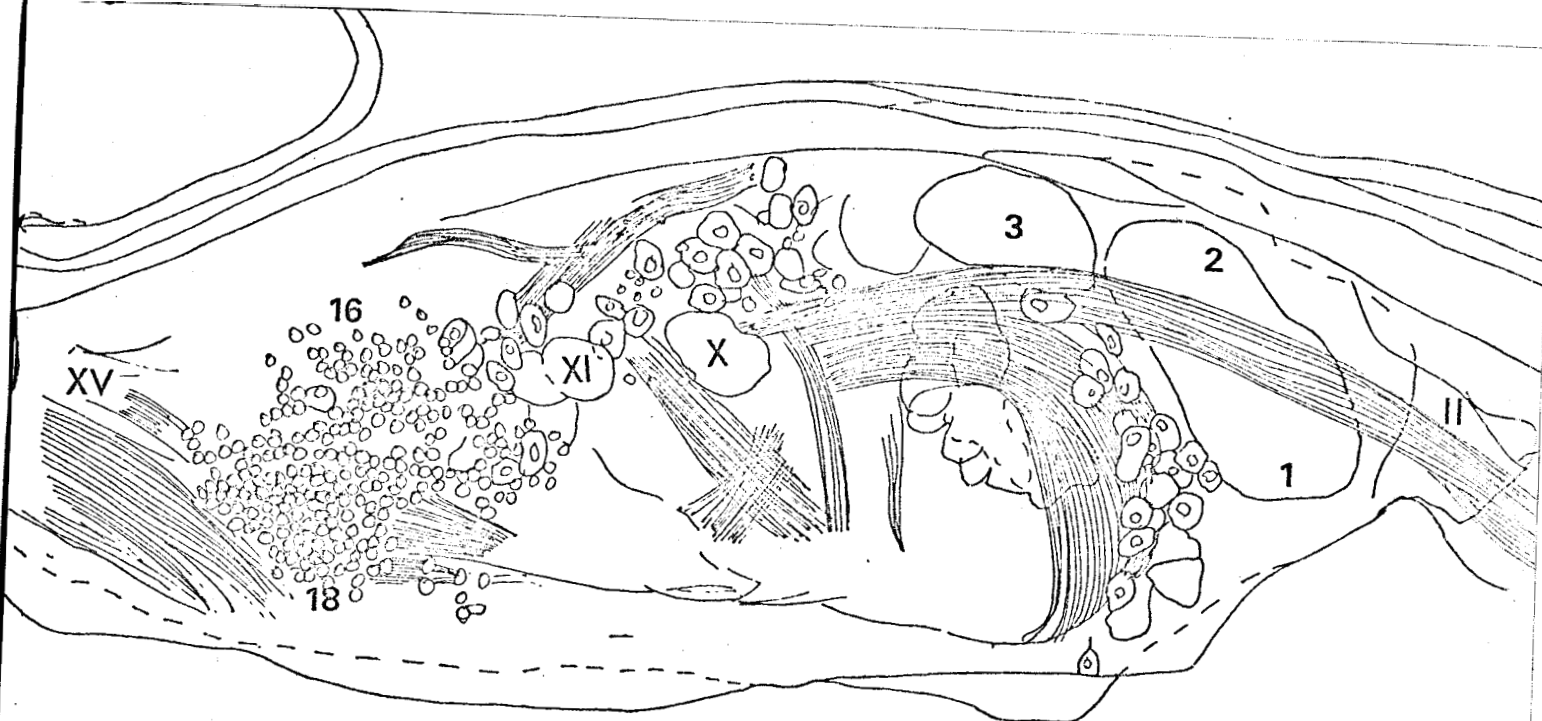
10



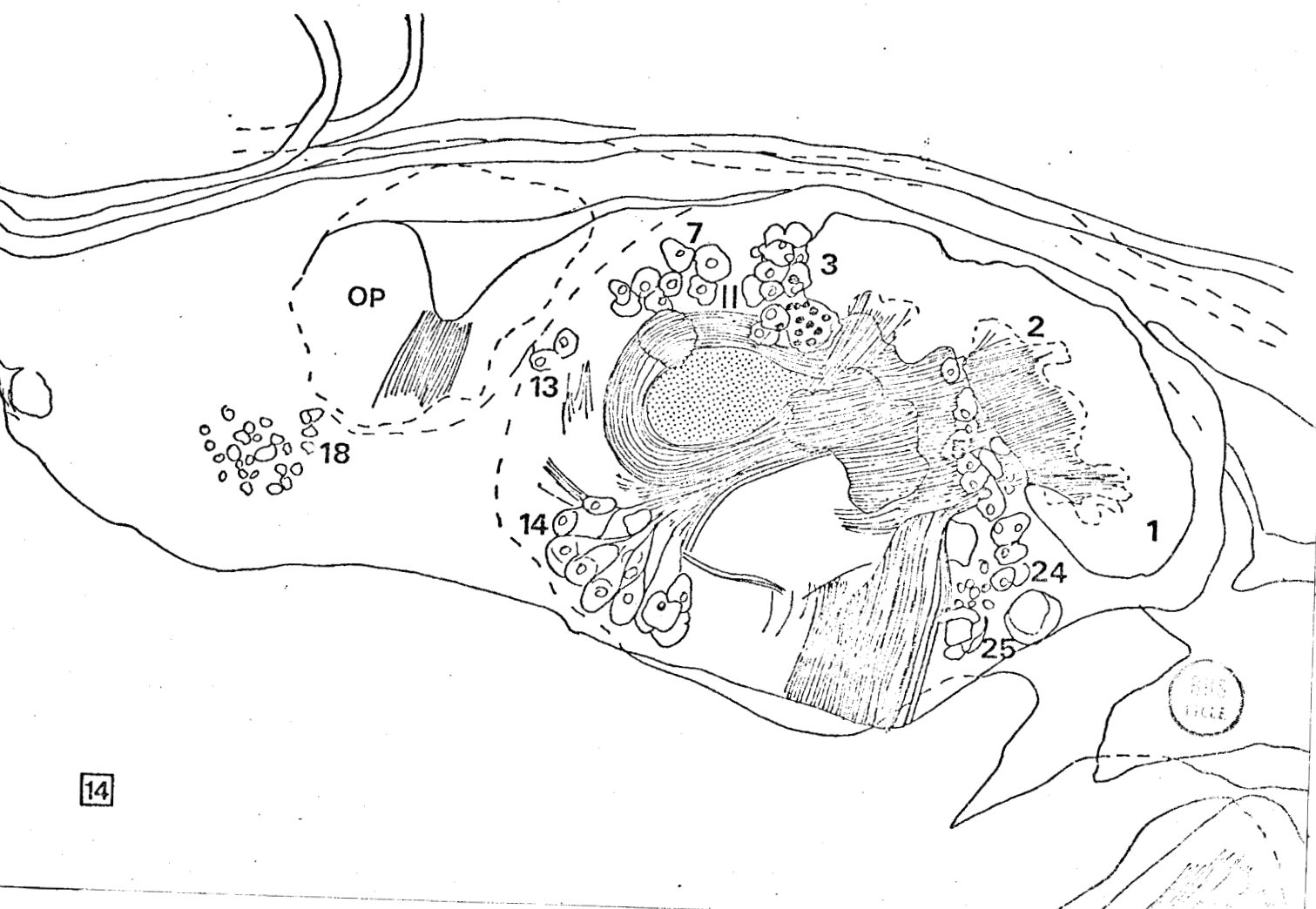
11



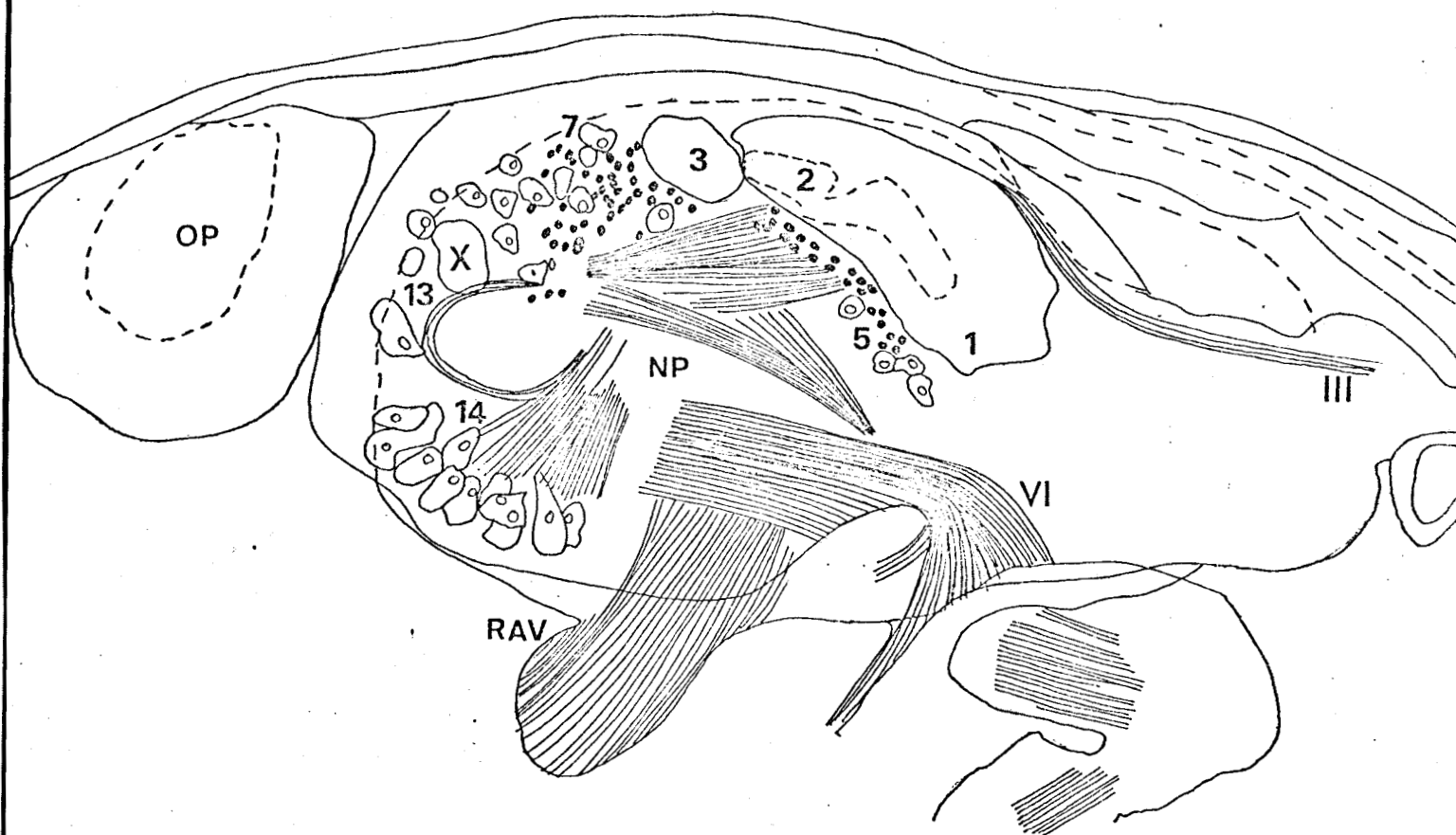
12



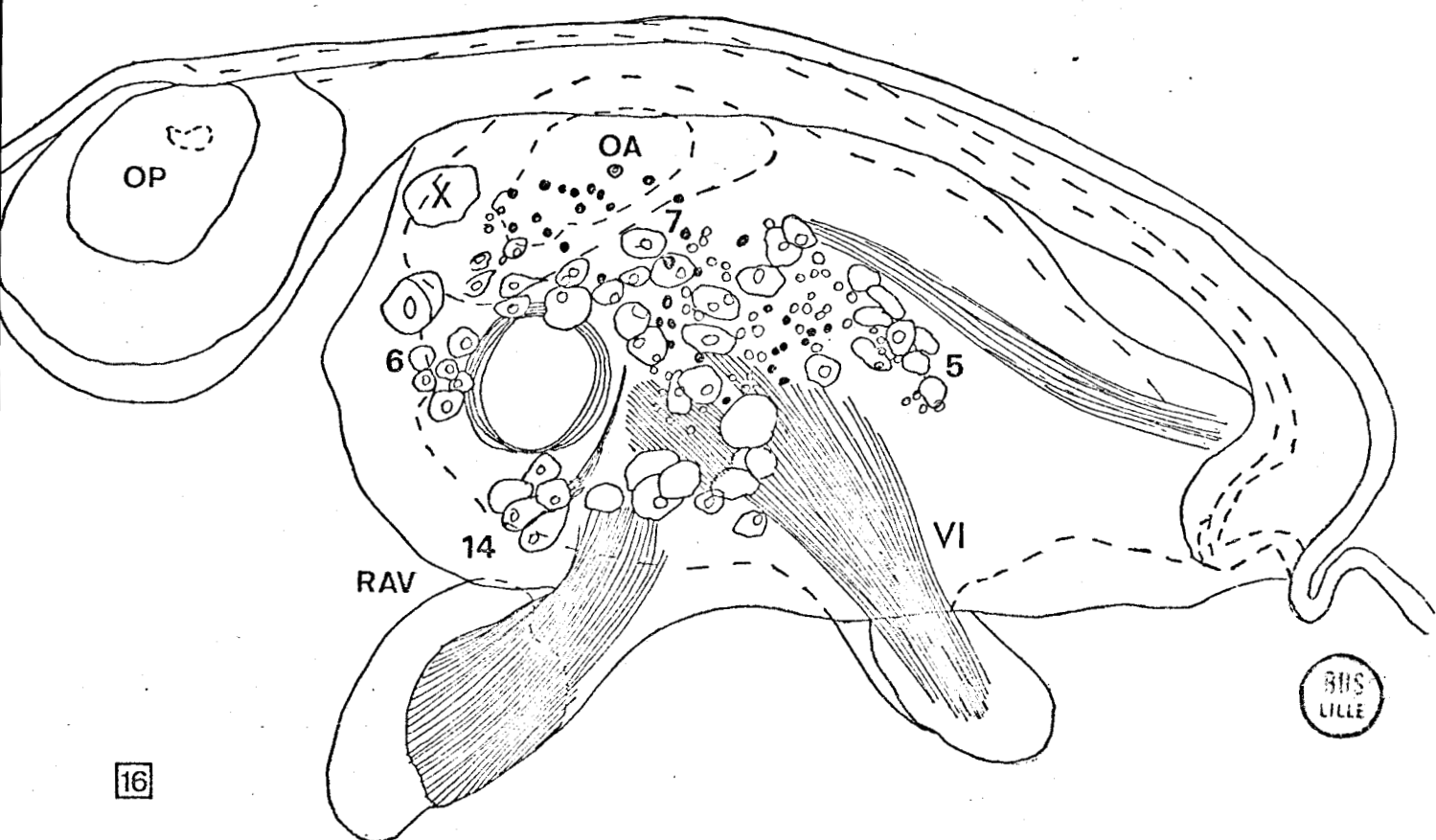
13



14

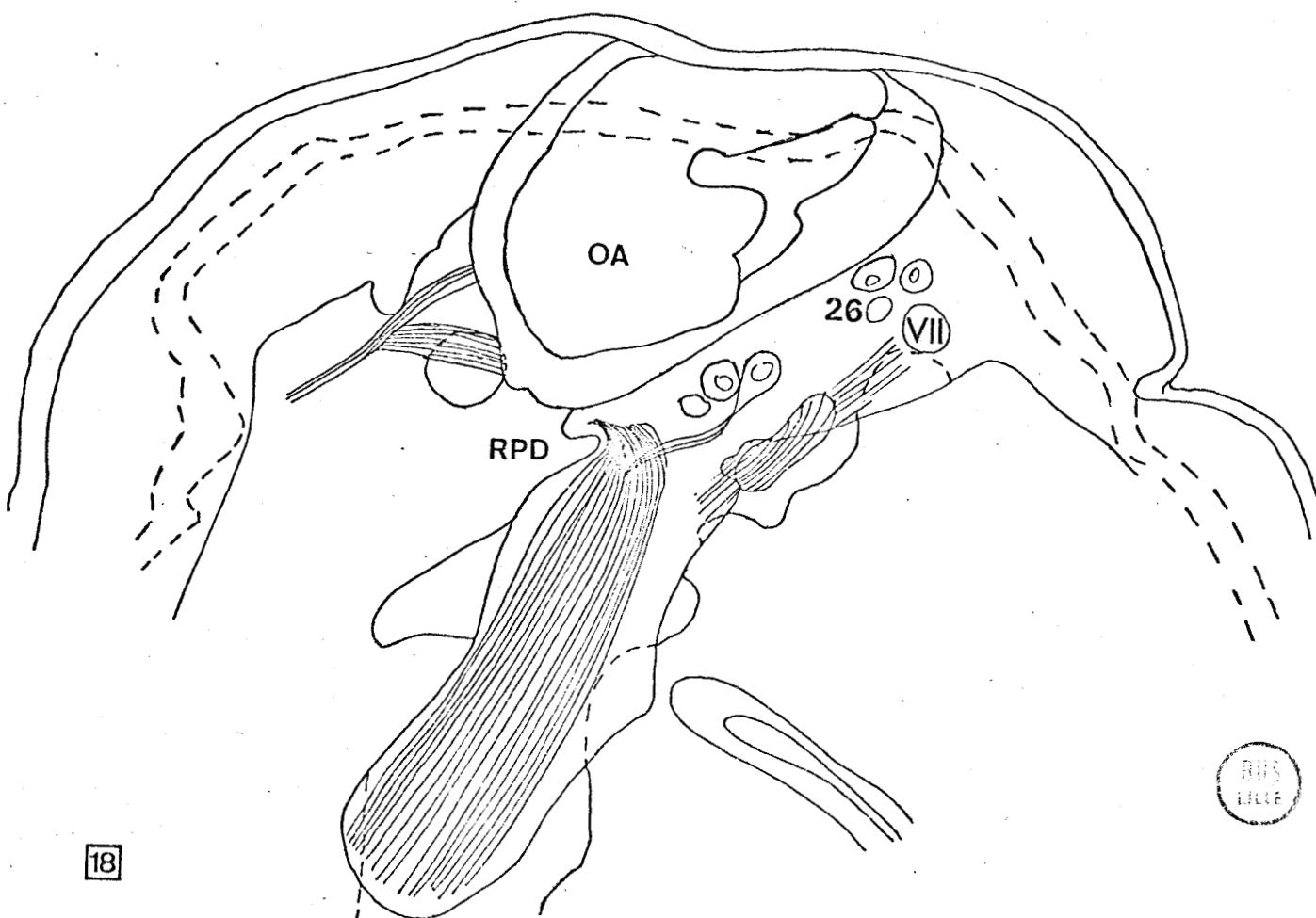
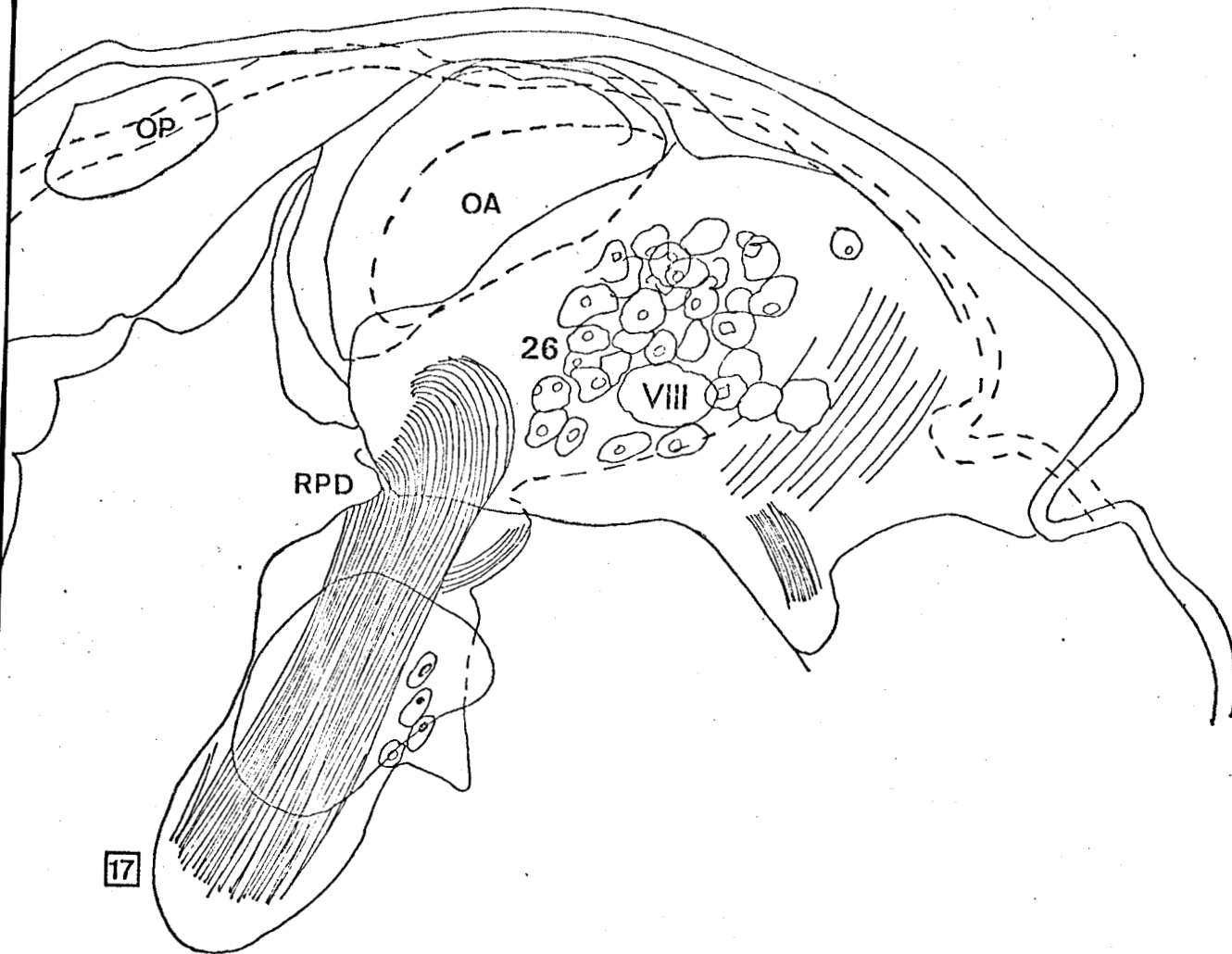


15



16

BIS
LILLE



RUS
LIVE

Ce nerf reçoit probablement des fibres des *corpora pedunculata* et notamment du *nucleus* 3 (planche 3, fig. d ; Fig. 5 et 14).

Le nerf III a essentiellement pour origine le *nucleus* 2 (planche 1, fig. a, b planche 10, fig. c, e) ; Fig. 3 et 15). Ce nerf est très proche d'un nerf du épidermique issu du noyau 5 (planche 19, fig. c ; Fig. 16).

Le nerf IV qui est un nerf épidermique a pour origine le *nucleus* 2 (planche 10, fig. b).

Les nerfs V à IX constituent les nerfs palpaire.

Le nerf V a une position plus médiane que le gros nerf palpaire VI. Il vient en contact du gros nerf VI dans une zone située latéralement et sous le *nucleus* 1 (planche 1, fig. b, c ; Fig. 4).

Le nerf VI qui est le nerf palpaire le plus volumineux a surtout pour origine les pédoncules des *corpora pedunculata* I et II (planche 2, fig. a et b). Il semble que certaines fibres puissent provenir de régions plus postérieures, et notamment des *nuclei* 4, 23 et 24 (planche 2, fig. b) ; Fig. 2, 3, 15, 16).

Les nerfs VII, VIII, IX, qui prennent leur origine dans la région antérieure du neuropile, se dirigent latéralement (planche 1, fig. d ; planche 2, fig. a : planche 8, fig. d ; planche 10, fig. d ; Fig. 17 et 18).

Les nerfs X et XI innervent respectivement les yeux antérieurs et postérieurs, ils viennent se brancher sur la commissure optique (pl. 10, fig. a ; Fig. 3-6, 12-16)

Les nerfs XII, XIII, XIV sont des nerfs latéraux localisés dans le prostomium (non représentés sur les planches).

Le nerf XV appelé aussi nerf nuchal se localise dans la partie latéro-ventrale du cerveau postérieur ; il se situe entre le noyau ganglionnaire 18 et l'organe nuchal (planche 7, fig. a ; planche 12, fig. d ; Fig. 15).

Le nerf XVI unit les noyaux postérieurs du cerveau, et notamment le noyau 19, à l'épiderme latéro-dorsal du prostomium (planche 7, fig. a ; Fig. 7 et 12).

2.2. Racines du collier périoesophagien

Contrairement aux observations de HOLMGREN (1916), mais en accord avec les descriptions de HANSTRÖM (1928) et GUSTAFSON (1930) et de DHAINAUT-COURTOIS (1970), nous dénombrons deux racines distinctes de chaque côté du ganglion susoesophagien.

Les racines les plus antérieures ont une position plus médiane et plus ventrale que les racines situées plus en arrière. Ces dernières sont très latérales : elles sont situées sous l'oeil antérieur.

Les racines antéro-ventrales reçoivent de nombreuses fibres en provenance de la partie antérieure du neuropile (planche 2, fig. a à d ; planche 8, fig. a ; Fig. 3, 4, 14, 15, 16).

Les racines postéro-latérales reçoivent de nombreuses fibres provenant de la partie antérieure du neuropile ; il semble cependant que certaines d'entre-elles proviennent également du noyau ganglionnaire 26 (planche 2, fig. d ; planche 3, fig. a, b ; planche 8, fig. d ; Fig. 1, 2, 17, 18).

Les branches des racines antéro-ventrales et postéro-latérales situées du même côté du cerveau se rejoignent à une certaine distance de celui-ci. Les deux gros troncs nerveux qui en résultent constituent le collier périoesophagien.

2.3. Commissures

De nombreuses commissures ont été décrites au sein du ganglion sus-oesophagien de *Nereis diversicolor* (cf tableau I). Malgré cela, les descriptions restent partiellement incomplètes. Nous nous sommes donc particulièrement attachés à ce problème, car le nombre et l'importance de ces commissures permettent de bien rendre compte du degré d'organisation général de ce ganglion. Celles-ci constituent par ailleurs d'excellents points de repère.

Nous avons dénombré sept commissures (cf Figure 19) dont six commissures importantes :

- les quatre commissures du collier périoesophagien,
 - la commissure optique,
 - la commissure postérieure,
- ainsi qu'une commissure de moindre importance : la commissure des nerfs I.

2.3.1. Les commissures du collier périoesophagien

On peut distinguer :

- les commissures ventrales et dorsales des racines antéro-ventrales du collier périoesophagien (appelées respectivement commissures a et b : terminologie selon ORRHAGE, 1966).
La commissure a est la plus antérieure, elle se situe juste sous l'avant du *nucleus* 8 (planche 3, fig. c ; planche 8, fig. b et c).
La commissure b est située dans la région du *nucleus* 8 (planche 4, fig. a ; planche 9, fig. c).
- Les commissures dorsales et ventrales des racines postéro-dorsales du collier périoesophagien (appelées respectivement commissures c et d : terminologie selon ORRHAGE, 1966).
La commissure c est la plus postérieure, elle se situe sous le *nucleus* 17, dans le plan transversal du noyau 15, au-dessus de l'important faisceau de fibres appartenant au complexe cérébro-vasculaire (planche 6, fig. b ; planche 9, fig. d).

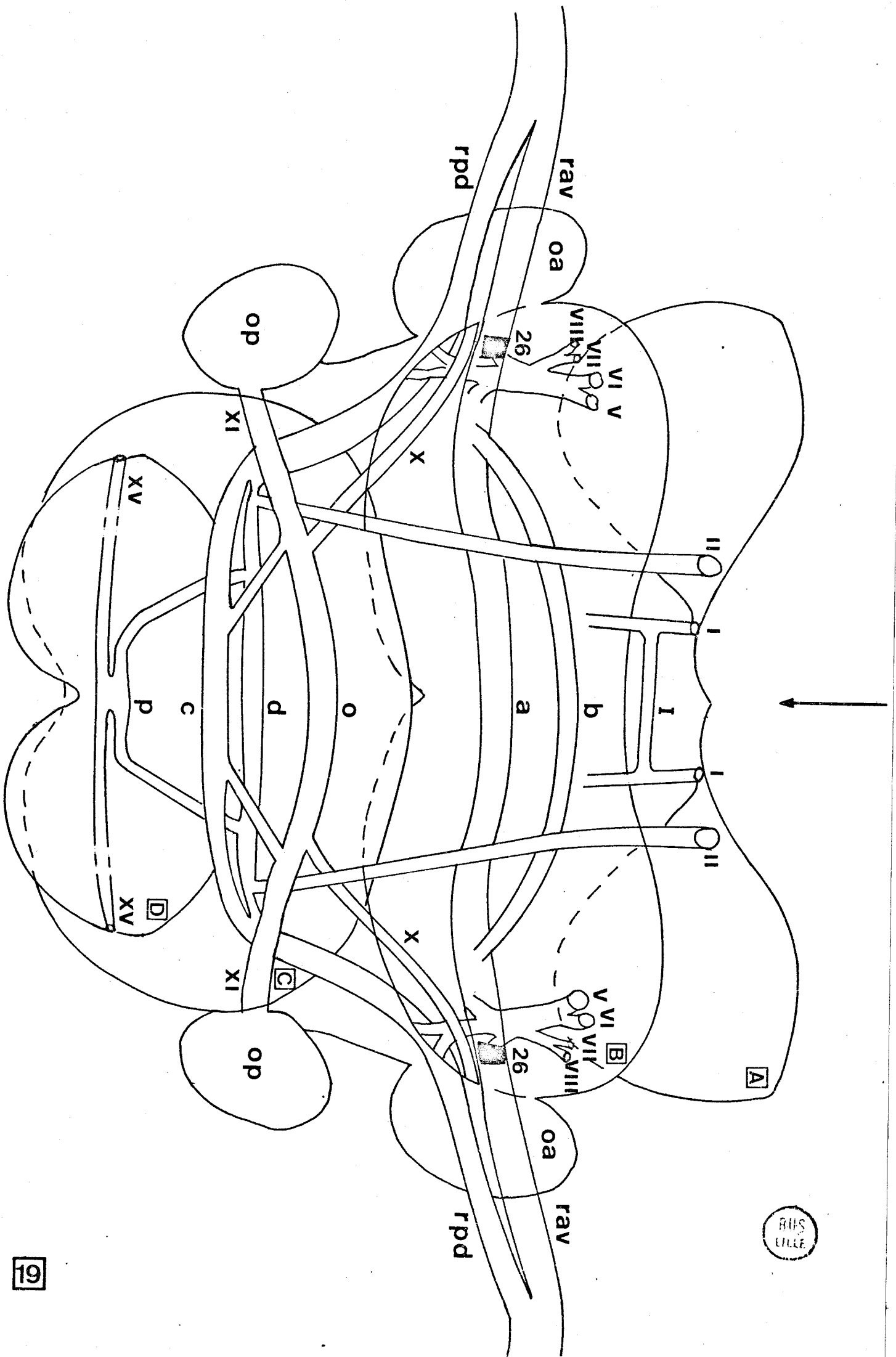
FIGURE 19

Organisation générale du ganglion sus-oesophagien de *Nereis diversicolor* d'après les observations effectuées sur des coupes traitées par l'imprégnation argentique (HOLMES, 1947) et en tenant compte des données antérieures (ORRHAGE, 1966).

- a : commissure a
- b : commissure b
- c : commissure c
- d : commissure d
- o : commissure optique
- p : commissure postérieure
- I : commissure des nerfs I
- oa : oeil antérieur
- op : oeil postérieur
- rav : racine antérieure ventrale du collier périoesophagien
- rpv : racine postérieure dorsale du collier périoesophagien

Les chiffres romains indiquent la position des différents nerfs.
La flèche indique la direction céphalo-caudale.

- A : cerveau antérieur
- B : cerveau antérieur et moyen
- C : cerveau moyen et postérieur
- D : cerveau postérieur



La commissure d est plus antérieure : elle se situe dans la région médiane du cerveau, à la base du neuropile, dans le plan des *nuclei* 17, 10 et 14 (planche 5, fig. b : planche 8, fig. c). Sur cette commissure vient se brancher le nerf II:

2.3.2. La commissure optique

Cette commissure occupe une position dorsale à proximité des noyaux 15 et 17. Elle se prolonge vers les yeux antérieurs et postérieurs par les nerfs X et XI (planche 5, fig. d ; planche 10, fig. a). Celle-ci est en relation avec la commissure c de la racine postérieure dorsale du collier périoesophagien par deux importants faisceaux de fibres se dirigeant vers l'arrière (planche 9, fig. d ; Fig. 8 à 12).

2.3.3. La commissure postérieure

Cette commissure qui correspond à la commissure nucale des précédents auteurs, est située à la base du neuropile ; elle reçoit des fibres en provenance des noyaux 16, 18, 20, 21, dont la plus grande partie va probablement aboutir au niveau de la région infracérébrale (planche 6, fig. d ; planche 9, fig. b). Elle est en relation avec la commissure d de la racine postérieure du collier périoesophagien par deux faisceaux de fibres se dirigeant vers l'avant.

2.3.4. La commissure I

Elle est constituée surtout par des fibres des deux nerfs I qu'elle relie (planche 8, fig. c).

3. Les noyaux ganglionnaires ou *nuclei*

Nous n'entreprendrons pas une description détaillée de ces noyaux ganglionnaires. Seules seront décrites des observations non mentionnées dans le tableau II.

Les noyaux 1, 2, 3, constituent les *corpora pedunculata*, ils sont plus ou moins coalescents chez *N. diversicolor* (planches 1, 2, 3, 9 et 10). Leurs pédoncules ou "Stiele" se terminent dans le neuropile ; certaines fibres participent probablement à la formation du nerf palpaire VI et du nerf antennaire II. Le *nucleus* 2 est probablement à l'origine des nerfs III et IV. (cf paragraphe précédent).

Le noyau 4 est à l'origine du nerf I (cf paragraphe précédent).

Les noyaux 5 et 6 ont une position latérale par rapport aux *corpora pedunculata* leurs axones se prolongent dans le neuropile (planche 1, fig. d ; planche 2, fig. a ; planche 3, fig. a ; Fig. 2, 3, 4, 14, 15, 16).

Les noyaux 7 à 12 sont dorsaux. Il est très facile de suivre les prolongements cellulaires des noyaux 8, 9, 10, 11, 12 : ces axones traversent verticalement le neuropile et se rejoignent à la base de celui-ci (planche 4). Le noyau 12, bien que très petit, se situe très près de la ligne médiane. Il est probablement pair contrairement aux affirmations des précédents auteurs : de ces deux *nuclei* 12 partent en effet deux faisceaux de fibres parallèles et bien distincts, situés de part et d'autre du plan médian du cerveau (planche 4, fig. b ; Fig. 3 à 16).

Les noyaux 13 et 14 ont une position ventrale (planches 4 et 5 ; Fig. 3-5, 14-16). Le *nucleus* 13 envoie des fibres dans le neuropile à proximité du nerf antérieur II (planche 5, fig. b, c ; Fig. 3, 4, 14-16).

Le *nucleus* 14 envoie des fibres vers la base du neuropile ; certaines d'entre-elles prennent une direction médiane, en direction de la commissure a du collier périoesophagien.

Le noyau 15 est en partie latéral, il se situe dans le plan transversal du noyau 17 (planche 6, fig. a, b ; Fig. 6, 12).

Le noyau 16 est constitué principalement de petites cellules ressemblant aux *globuli* des *corpora pedunculata*. Les fibres de ce *nucleus* se concentrent et convergent vers la commissure postérieure (planche 6, fig. c, d ; planche 7, fig. a ; Fig. 6-8, 11-13).

Le noyau 17 a une position dorsale et médiane, il se situe au-dessus d'un important faisceau de fibres intracérébrales (planche 6, fig. a, b, c ; Fig. 7-12).

Les noyaux 18, 19 et 20 seront décrits dans le chapitre relatif à la cytologie et à la cytochimie du ganglion sus-oesophagien. De nombreuses fibres issues de ces noyaux semblent se diriger vers la commissure postérieure (planche 7) ; Fig. 9 et 10).

Le noyau 21 est le seul noyau impair du ganglion cérébral. Ses fibres axonales semblent se diriger vers la commissure postérieure (planche 6, fig. d ; planche 7, fig. a ; Fig. 9 et 10).

Le noyau 22 est ventral, il est formé essentiellement de très gros neurones (planche 7, fig. b ; Fig. 8).

Le petit noyau ventral 23 se situe à proximité des racines ventrales du collier périoesophagien (planche 2, fig. b ; Fig. 6, 7, 11, 12).

Le noyau 24 a une position dorsale et latérale par rapport au noyau 23, il est situé sous les *corpora pedunculata* (planche 2, fig. b ; Fig. 5, 14).

Le noyau 25 est localisé à proximité des racines dorsales du collier périoesophagien (planche 3, fig. b et c ; Fig. 5, 14).

Le noyau 26 est bien développé chez *N. diversicolor* : environ 40 cellules de chaque côté ; celles-ci sont d'assez grande taille (20 μ environ). Les prolongements de ces neurones participent à la formation des racines latéro-dorsales du collier périoesophagien (planche 1, fig. d ; planches 2 et 3 ; Fig. 1, 2, 17, 18).

II - CYTOLOGIE ET CYTOCHIMIE DU GANGLION SUS-OESOPHAGIEN

A - HISTORIQUE

Des éléments ayant les caractéristiques cytologiques de cellules neuroglandulaires (Drüzennervenzellen) furent découverts pour la première fois chez les annélides par B. SCHARRER (1936) dans le ganglion cérébral de *Nereis virens*. Ces observations ont été confirmées par de nombreux auteurs et étendues à d'autres espèces de *Nereidae*

Les principaux travaux sont l'oeuvre de SCHAEFER (1939), chez *N. diversicolor* et *N. virens* ; DEFRETIN (1952, 1953, 1955, 1956, 1959) essentiellement chez *N. irrorata* ; BOBIN et DURCHON (1952, 1953), DURCHON et FREZAL (1955), essentiellement chez *P. cultrifera* ; HAUENSCHILD (1959), HAUENSCHILD et FISCHER (1962), MÜLLER (1973) sur *P. dumerilii* ; CLARK et BONNEY (1960), CLARK *et al.* (1962), HERLANT-MEEWIS et VAN DAMME (1962), GOLDING (1967b), AL SHAROOK (1975) sur *N. diversicolor* ; TAKEUCHI (1965) sur *N. japonica* et *Tylorhynchus heterochaetus* ; DHAINAUT-COURTOIS (1964, 1966c, 1967, 1968b, 1970) sur *N. pelagica* et *N. diversicolor*.

En dépit de l'importance des travaux précédemment cités, les résultats restent fragmentaires et de nombreuses imprécisions subsistent. Celles-ci peuvent s'expliquer, d'une part, par la grande diversité des études effectuées pour la plupart à l'aide de techniques de coloration simples, souvent disparates, et, d'autre part, par l'insuffisance des descriptions ultrastructurales. Les travaux les plus importants sont l'oeuvre de DHAINAUT-COURTOIS (1967, 1968b, 1970) sur *N. pelagica* et de GOLDING (1967b) sur *N. diversicolor*. Ce dernier auteur, qui a fait une description ultrastructurale de nombreux types cellulaires présents dans le cerveau de la *Nereis*, n'a cependant pas suffisamment rapproché les résultats obtenus avec les données acquises antérieurement en microscopie photonique. La grande variété des neurones présents au sein du cerveau de la *Nereis* et l'intrication de plusieurs catégories cellulaires dans un même noyau ganglionnaire, rendent en effet le repérage en microscopie électronique extrêmement délicat. Nous nous proposons donc de reprendre l'étude des différents types cellulaires présents dans le ganglion cérébral de la *Nereis* ; nous tenterons d'établir un parallèle entre les résultats obtenus en microscopies photonique et électronique grâce à la mise au point d'une technique tétrachrome signalétique des produits de neuro-sécrétion, adaptée aux coupes semi-fines.

Au cours de cette étude, nous utiliserons la classification proposée par DHAINAUT-COURTOIS (1966c, 1967), maintenant employée par GOLDING et

WHITTLE (1977). Celle-ci, qui est basée sur l'affinité des cellules pour la fuchsine paraldéhyde après coloration par la technique de CLARK, tient également compte des données ultrastructurales.

B - OBSERVATIONS

a - Matériel et méthodes

1. Techniques de microscopie photonique

Différentes méthodes ont été utilisées pour :

- la détection de la neurosécrétion,
- la mise en évidence des glucides.

1.1. Détection de la neurosécrétion

.....
Diverses techniques signalétiques de la neurosécrétion ont été expérimentées : sans prétraitement oxydatif ou avec prétraitement oxydatif.

1.1.1. Techniques sans prétraitement oxydatif

Ces méthodes réalisées à l'aide de colorants acides permettent une visualisation de l'ensemble de la neurosécrétion qui est acidophile (GABE, 1966). Nous avons employé :

- la technique de fluorescence à la géranine G mise au point par CATANIA (1976) ; celle-ci présente l'avantage d'être rapide et facile à effectuer. Les coupes sont observées à l'aide d'un microscope à fluorescence Leitz Orthoplan muni d'une lampe XBO 150 W, d'un filtre d'excitation n°3 et d'un filtre d'arrêt K 530.
- la technique de l'azan de HEIDENHAIN à l'azocarmin G (cf. GABE, 1968).
- le trichrome de HALMI (1952) modifié par CLARK (1955).
- le tétrachrome de HERLANT (cf. GABE, 1968).

1.1.2. Techniques avec prétraitement oxydatif

Le prétraitement oxydatif permet une meilleure différenciation des différents matériels de neurosécrétion. Certains d'entre eux deviennent basophiles après oxydation permanganique et prennent certains colorants basiques.

Nous avons effectué les colorations suivantes :

- la fuchsine paraldéhyde préparée selon GABE (1953).
- le bleu alcian - jaune alcian
à pH respectifs : 0,5-2,5 ou 2,5-0,5,
à pH 0,5, les groupements SO_3H sont mis en évidence (ils résultent de l'oxydation des liaisons S-S et des radicaux SH)

à pH 2,5, les groupements COOH sont mis en évidence (ils résultent de l'oxydation des radicaux -COOH, -OH, et =O).

L'utilisation successive d'un colorant basique et d'un ou plusieurs colorants topographiques acides (trichromes) permet un contraste accru des coupes et une visualisation simultanée des matériels de neurosécrétion basophiles et acidophiles.

Nous avons expérimenté les techniques suivantes :

- fuchsine paraldéhyde (GABE 1953) avec colorant de fond selon HALMI (1952), variante de CLARK (1955), (dans un but de simplification nous appellerons ultérieurement celle-ci technique de CLARK).
- l'hématoxyline chromique - phloxine selon GOMORI (cf GABE, 1968).
- l'azan de HEIDENHAIN.
- la thionine paraldéhyde avec contre coloration par la phloxine ou le Naphtol Jaune S (PAGET, 1961).

Accessoirement, nous avons effectué des contrôles en utilisant les colorants acides seuls :

- trichromes de HALMI modifié par CLARK (1955).

1.2. Mise en évidence des glucides

La technique utilisée est celle de l'acide périodique - Schiff - orangé G, précédée ou non d'une digestion par l'amylase salivaire.

2. Techniques de microscopie électronique à transmission

La difficulté d'établir la relation entre les observations réalisées aux microscopes photonique et électronique, nous a amené à mettre au point une technique de coloration des coupes semi-fines par la fuchsine paraldéhyde préparée selon GABE (1953) suivi d'une contre coloration par le trichrome de HALMI (1952) modifié par CLARK (1955) avant d'entreprendre l'étude ultrastructurale.

Après collage sur lame par chauffage à 60°C, les coupes sont traitées selon le protocole suivant :

1. Trempage dans une solution non diluée de méthoxyde de sodium pendant 30 secondes (préparation selon MAJOR *et al.* 1971) ou dans une solution commerciale (STEEL et MORRIS, 1977).
2. Rinçage dans deux bains du mélange, à volumes égaux, de méthanol et de benzène, suivi de deux bains dans l'acétone 100.
3. Rinçage dans deux bains d'eau distillée.
4. Préfixation pendant 1 nuit à 37°C dans le milieu de STOECKEL *et al.* (1972).

5. Rinçage dans trois bains d'eau distillée.
6. Passage durant 1 à 2 min dans une solution de peroxyde d'hydrogène à 10 %.
7. Rinçage à l'eau distillée.
8. Oxydation, rinçage dans l'eau courante puis dans l'eau distillée et décoloration des coupes selon STOECKEL *et al.* (1972).
9. Coloration pendant 10 à 15 min dans une solution de fuchsine paralaldéhyde à 0,07 % dans l'éthanol 70° (GABE, 1953).
10. Rinçage dans l'éthanol 96° puis dans deux bains d'eau distillée.
11. Mordantage pendant 10 min dans la solution suivante : acide phosphotungstique 4 g, acide phosphomolybdique 1 g, eau distillée 100 cc.
12. Rinçage à l'eau distillée.
13. Coloration 15-30 min dans le colorant de fond de HALMI (1952), modifié par CLARK (1955) :

- vert sulfo ou vert lumière	0,4 g
- orangé G	1,0 g
- chromotrope 2 R	0,5 g
- acide acétique glacial	1,0 ml
- eau distillée	100,0 ml
14. Différenciation courte dans une solution d'acide acétique à 2 % dans l'éthanol 96°.
15. Deshydratation rapide et éclaircissement des coupes par un hydrocarbure benzénique.
16. Montage dans une résine synthétique.

Les coupes ultrafines sont traitées selon le processus décrit précédemment (cf matériel et méthodes) et observées à l'aide d'un microscope Siemens Elmiskop 1 b. Les granules de sécrétion sont mesurés à l'aide du Transydine General Corporation Calibrating Viewer.

b - Résultats

1. Types cellulaires observés en microscopie photonique

1.1. Localisation générale des péricaryons neurosécréteurs

Le ganglion sus-oesophagien de *Nereis diversicolor* présente de nombreuses cellules fluorescentes aux rayons ultraviolets après traitement par la technique à la gérachine G (selon CATANIA, 1976) (cf. tableau III). Comme l'indique le tableau ci-après, le plus grand nombre de péricaryons fluorescent est localisé dans la région postérieure du cerveau (noyaux 18 et 20) ; certaines cellules présentant une fluorescence orangée sont cependant situées plus antérieurement (noyaux 4, 5, 7, 9 ou 10, 14, 15). Dans ce dernier cas, les neurones fluorescents sont isolés et peu nombreux.

Tableau III

Localisation des cellules : noyaux ganglionnaires	Fluorescence des cellules soumises aux ultraviolets	Fréquence
4	orangée	+
5	orangée	+
7	orangée	+
9 ou 10	orangée	+
14	orangée	+
15	orangée	+
18	orangée	++
20	rouge et orangée	+++

+++ : très abondantes ; ++ : bien représentées ; + : rares

Des femelles d'âges variés ont été observées (diamètres ovocytaires 30 μ , 100 μ , 140 μ , 180 μ , 220 μ) ; aucune différence significative entre ces différents animaux n'a pu être relevée, la fluorescence des cellules du noyau ganglionnaire 20 reste très forte chez les vers âgés (cf Planche 14, fig. a).

Les cellules fluorescentes sous l'action des ultraviolets sont également visibles en microscopie photonique classique : les cellules présentant une fluorescence rouge sont colorées en rouge vif, celles qui ont une fluorescence orangée sont colorées en rouge violacé. Dans ce cas leur localisation s'en trouve facilitée, en particulier pour établir un parallèle avec les autres techniques de coloration.

L'étude du ganglion cérébral de *Nereis diversicolor*, après coloration par les autres techniques signalétiques des produits de neurosécrétion nous permet de confirmer certaines observations effectuées par DHAINAUT-COURTOIS (1970) chez les *Nereidae* ; notamment en ce qui concerne la diversité et la répartition des cellules présentes au sein de ce ganglion.

Celui-ci comprend six types cellulaires principaux (I à VI). Les types cellulaires I à V, dont les cellules sont riches en cytoplasme, ont une répartition très large au sein du cerveau ; la majorité d'entre-elles appartient au type V, qui est constitué de neurones souvent peu chromophiles.

Les autres cellules : I à IV, présentent souvent un aspect glandulaire marqué, elles se situent essentiellement dans la région postérieure. Leur localisation correspond, en partie, aux cellules fluorescentes aux rayons ultraviolets après traitement par la technique à la gérachine G (cf. tableau IV).

Le type cellulaire VI dont les neurones sont petits et caryochromes, sont localisés au niveau des *corpora pedunculata* et du noyau ganglionnaire 16.

1.2. Description fine des types cellulaires I-VI

1.2.1. Le type cellulaire I

Ces neurones qui sont caractérisés par leur forte affinité pour la fuchsine paraldéhyde, pour la thionine paraldéhyde ou pour l'hématoxyline chromique (GOMORI, 1941), se localisent essentiellement dans la région postérieure du cerveau : noyau ganglionnaire 20 (planche 11, fig. a) ; et dans d'autres zones situées plus antérieurement : noyaux 4, 5, 7, 9, 10, 11, 13, 14, 15 (planche 13, fig. a, b). Leur localisation correspond sensiblement aux neurones fluorescents après traitement à la gérachine G (sauf pour le noyau 18). Comme DHAINAUT-COURTOIS (1964), nous ferons une distinction entre les neurones fuchsinophiles de la région postérieure du ganglion cérébral localisés au sein d'un même noyau ganglionnaire (le *nucleus* 20), qui sont présents en assez grand nombre (15-20 cellules de chaque côté) et les autres neurones fuchsinophiles du cerveau qui sont souvent isolés et assez peu nombreux.

Une observation plus attentive du *nucleus* 20, permet de différencier deux sous-types cellulaires.

- Le premier : type Ia est constitué de 10-13 cellules probablement bipolaires, fusiformes (largeur de 12 μ et plus grande longueur observée : 25 μ), localisées essentiellement dans les régions médiane et antéro-dorsale du *nucleus* 20 (planche 12, fig. a, b, c).
- Le second : type Ib est constitué de 5-7 grandes cellules piriformes (taille environ 25 μ), qui se situent essentiellement dans les régions postéro-ventrale et latérale de ce même noyau (planche 12, fig. a, b, c).

Il faut cependant remarquer que la localisation de ces cellules au sein du noyau 20 peut présenter de légères variations d'un ver à l'autre, et même au sein d'un même ver : on peut en effet constater que les cellules I présentes au sein des deux *nuclei* 20 homologues n'occupent pas une position symétrique par rapport au plan médian du cerveau (planche 7, fig. d).

La méthode de coloration selon CLARK se révèle cependant assez peu satisfaisante pour différencier la sécrétion présente au sein des types cellulaires Ia et Ib, sur coupes à la paraffine : la forte

Tableau IV - Comparaison des affinités tinctoriales des types cellulaires I - V présents chez *Nereis diversicolor*.

Coloration	Types cellulaires						
	Ia	Ib	Ic	II	III	IV	V
Géranine G (1)	fl. rouge	fl. orange	fl. orange	-	fl. orange	-	-
Azan de HEIDENHAIN (1)	col. orange rouge	col. rouge orangé	col. rouge orangé	col. bleue ou bleu violacé	col. orangée	col. rouge	col. bleue
Tétrachrome de HERLANT (1)	col. orangée	col. rouge orangé	col. orangée	col. bleue ou bleu orangé	col. verte	col. orangée	col. bleue
Trichrome de HALMI (1952) modifié par CLARK (1965) (1)	col. orangée	col. légèrement orangée	col. orangée	col. vert ou vert orangé	col. orangée	col. orangée	col. verte
Thionine paraldéhyde (2)	col. bleue	col. bleu clair	col. bleu clair	-	-	-	-
Fuchsine paraldéhyde (2)	col. rouge violacé	col. rouge violacé	col. rouge violacé	col. légèrement violacée	-	-	col. parfois légèrement violacée
Bleu alcian 0,5 Jaune alcian 2,5 (2)	col. vert vif	col. vert bleu	col. verte	-	-	-	-
Hématoxyline chromique-phloxine (2)	HC +	HC. + à ++	HC +	Phl + parfois HC ±	Phl ++	Phl ++	parfois HC ±
Technique de CLARK (2)	FP ++	FP ++	FP + à ++	VL + à ++ FP ±	Or. G + VL ±	Or. G ++	FP parfois ± VL ou Or. G ±
P.A.S.-orangé G (3)	±	-	?	± à +	+	?	parfois ++
P.A.S.-orangé G (3) après traitement par l'amylase salivaire	-	-	?	±	+	-	-

(1) Pas d'oxydation préalable.

(2) Oxydation préalable.

(3) Mise en évidence des glucides.

col. : coloration ; fl. : fluorescence ; HC : hématoxyline chromique ; Phl : phloxine ; FP : fuchsine paraldéhyde.

±, +, ++ : respectivement réactions faibles, moyennes, fortes.

fuchsinophilie de ces neurones rend difficilement compte de la "densité" de leurs produits de sécrétion ; pour la même raison le matériel resté acidophile après oxydation, qui pourrait subsister dans ces mêmes cellules, serait masqué par la fuchsine paraldéhyde.

Nous avons donc effectué des contrôles sur des coupes adjacentes en utilisant uniquement le trichrome de HALMI modifié par CLARK, avec ou sans oxydation préalable (planche 11, fig. b, c). Cette méthode permet de mettre en évidence certaines différences existant entre ces deux types cellulaires :

- les neurones Ia prennent beaucoup plus fortement l'orangé G que les neurones Ib :
- après oxydation, l'affinité tinctoriale de ces cellules pour l'orangé G devient nulle, les neurones gardent cependant une certaine affinité pour le vert lumière.

Ces résultats sont confirmés, après coloration par l'azan de HEIDENHAIN (cf Tableau IV). Les neurones présentent en effet une teinte orangée beaucoup plus marquée que les neurones Ib, qui sont colorés en rouge-orangé.

Après oxydation ces neurones prennent une teinte bleue ou lilas.

La technique du Bleu alcian - Jaune alcian décrite dans matériel et méthodes, permet également de mettre en évidence certaines différences d'affinité du matériel de neurosécrétion des cellules Ia et Ib. Après traitement par le Bleu alcian - Jaune alcian pH 0,5-2,5, les cellules Ib sont colorées en vert-bleu tandis que les cellules Ia prennent une teinte vert vif.

Après traitement par le Bleu alcian - Jaune alcian pH 2,5-0,5, les cellules Ia sont plus colorées par le Bleu alcian que les cellules Ib.

Il semblerait donc qu'après oxydation le rapport :

$$\frac{-\text{COOH Ia}}{-\text{SO}_3\text{H Ia}} \text{ soit supérieur au rapport } \frac{-\text{COOH Ib}}{-\text{SO}_3\text{H Ib}}.$$

Comme nous l'avons indiqué précédemment, d'autres neurones fuchsinophiles sont présents au sein du cerveau de la *Nereis*. La majorité d'entre eux est unipolaire : noyaux 4, 5, 6, 10, 13, 14, 15, 22 (planche 13, fig. a, b), les autres sont bipolaires : noyaux 7 et 11. Pour

les différencier des neurones ordinaires peu chromophiles (type V), ceux-ci ont été classés dans le type cellulaire Ic (terminologie selon DHAINAUT-COURTOIS, 1966c).

1.2.2. Le type cellulaire II

Le corps cellulaire de ces neurones qui se colore par le vert lumière après coloration par la technique de CLARK, présente également une légère fuchsinophilie. Celle-ci est due à la présence de très fines granulations intracytoplasmiques (planche 12, fig. c). Les cellules de type II ont une taille de 13 à 18 μ environ ; elles se localisent au sein du noyau 20 et en bordure des noyaux 18 et 19. De par leur grand nombre (35-40 cellules de chaque côté du cerveau), elles se situent à proximité immédiate des cellules Ia, Ib, et parfois aussi près des cellules III et IV (voir description ci-après).

Nous avons également observé la présence chez *Nereis diversicolor* de mottes, et parfois d'importantes flaques orangéophiles, présentes au sein de certaines cellules II. Ces inclusions qui sont colorées en rouge par l'azocarmin G ont été retrouvées chez les vers de diamètre ovocytaire 50-170 μ , avec une fréquence plus importante chez les animaux d'âge moyen (diamètre ovocytaire 70-110 μ) (planche 12, fig. c et f). Ces inclusions n'ont pas été retrouvées chez *N. pelagica*, *P. cultrifera* ou *N. succinea*.

1.2.3. Le type cellulaire III

Les neurones de type III ont une taille de 10 à 15 μ environ, ils prennent une coloration vert foncé par le tétrachrome de HERLANT (cf GABE, 1968) (planche 13, fig. d) ; ils gardent un cytoplasme acidophile après oxydation permanganique. Le péricaryon prend une couleur orangée après traitement par la technique de CLARK (planche 12, fig. e) ou par l'azan oxydé. Ces cellules qui ont été décrites pour la première fois chez la *Nereis* par DHAINAUT-COURTOIS (1966c) sont dispersées sur une très large zone au sein du noyau ganglionnaire 18. On peut dénombrer environ 15 neurones de chaque côté du cerveau, le plus grand nombre d'entre eux se situe à proximité du point de départ du nerf nuchal XV. D'autres cellules sont situées plus dorsalement, en particulier, à proximité du noyau 20.

1.2.4. Le type cellulaire IV

Les cellules de type IV constituent le noyau ganglionnaire 19. Ces cellules appelées précédemment par HERLANT-MEEWIS et VAN DAMME (1962) "cellules à ampoules" ont un diamètre d'environ 20 μ . Celles-ci

présentent de nombreuses granulations fortement colorées par l'orangé G après traitement par la technique de CLARK (planche 12, fig. g). Ces granulations orangéophiles peuvent atteindre une taille de 3 μ chez *Nereis diversicolor*, elles sont plus fines chez *N. pelagica* et *N. succinea*.

1.2.5. Le type cellulaire V

DHAINAUT-COURTOIS (1966c) a regroupé dans le type cellulaire V tous les neurones présentant peu ou pas d'affinité pour les colorants signalétiques de la neurosécrétion. Cette catégorie de cellules est donc très hétérogène et englobe toutes les cellules supposées être des "neurones ordinaires", (sauf pour les *globuli* des *corpora pedunculata* ou du noyau ganglionnaire 16 qui sont rattachées au type cellulaire VI). Ces cellules qui constituent la majorité des neurones du cerveau, ont une répartition très large ; elles interviennent pour une part importante dans la formation des noyaux ganglionnaires.

Les neurones les plus remarquables présents au sein du cerveau de *Nereis diversicolor* sont les grands neurones des noyaux 10, 14 (planche 13, fig. a, f, g), 17 (planche 13, fig. e), 22 (planche 11, fig. a, d) et 26 (planche 10, fig. d).

1.2.6. Le type cellulaire VI

Ces neurones sont caryochromes, et de petite taille : inférieure à 10 μ . Ils constituent essentiellement les noyaux 1, 2, 3 (planches 1, 2, 3 ; planche 4, fig. a, planche 10, fig. b, c, d, e) et le noyau ganglionnaire 16 (planche 6, fig. c et d ; planche 7, fig. a ; planche 12, fig. a).

1.3. Mise en évidence des glucides

Le ganglion sus-oesophagien de *Nereis diversicolor* d'âge moyen (diamètre ovocytaire 105-130 μ) est très riche en glucides : comme DEFRETIN (1955), nous avons observé une intense réaction au sein des noyaux 4, 5, 7, 9, 10, 14 et 17. Une réaction positive a également été observée au niveau des noyaux postérieurs 18, 20 et 22.

Ces observations préliminaires confirment les résultats obtenus par DEFRETIN (1955) chez *Nereis irrorata*. En ce qui concerne le noyau ganglionnaire 17, les images obtenues sont identiques. Nous citons cet auteur : "Les neurocytes piriformes à noyau fréquemment déplacé vers l'émergence de l'axone se signalent par une réaction souvent vigoureuse et nettement déplacée vers cette extrémité cellulaire effilée". Nous pouvons comparer cette description avec l'image donnée sur la planche 13, figure e.

Comme nous l'avons indiqué ci-dessus, les noyaux 18 et 20 présentent une certaine positivité à la réaction P.A.S.- orangé G :

- Les cellules III du noyau 18 réagissent fortement, elles se colorent en rouge orangé.
- Les neurones Ia et Ib du noyau 20 réagissent faiblement ; ces deux types cellulaires présentent une forte teinte orangée et une très faible teinte rose.
- Les neurones II réagissent de manière peu importante : leur cytoplasme coloré en rose présente des punctuations rouge-vif.

Nous avons effectué des contrôles sur des coupes adjacentes, certaines coupes ont été traitées pendant 30 mn à 37°C par la diastase salivaire avant oxydation périodique. On peut constater que l'importante réaction présente au sein des noyaux 4, 5, 7, 9, 10, 14, 17, 22 disparaît. Les neurones qui prenaient une teinte rouge vif prennent une coloration orangé clair.

Les figures f et g de la planche 13 montrent les différences observées au sein du noyau ganglionnaire 14.

Par contre, les neurones III du noyau ganglionnaire 18 gardent une teinte rouge-orangé, après prétraitement enzymatique, les neurones Ia et Ib du noyau 20 gardent le même aspect tandis que le neuroplasma des cellules II reste rose. La seule différence observée au sein de ce type cellulaire est la disparition des punctuations rouge vif, (cf tableau IV).

Si on omet l'oxydation par l'acide périodique, aucune réaction positive n'est observée au sein du ganglion sus-oesophagien.

Il semble donc que le cerveau de la *Nereis* d'âge moyen renferme une importante quantité de glucides. Ces glucides qui sont surtout présents dans les neurones "ordinaires" de type V sont probablement constitués pour la plus grande partie de glycogène. Ce glycogène pourrait constituer une substance de réserve synthétisée et stockée au sein de ces neurones et libérée à une certaine période de la vie du ver. Malheureusement nous n'avons pas effectué d'observations chez des vers d'âges différents, et notamment chez les vers âgés, cette hypothèse demande donc confirmation.

Une certaine positivité subsiste au sein des noyaux ganglionnaires 18 et 20, après prétraitement enzymatique. Les cellules III gardent une coloration rouge-orangé, ce qui confirme les résultats obtenus par DHAINAUT-COURTOIS et WAREMBOURG (1969). Les cellules I par contre ne réagissent pratiquement pas à la réaction de l'A.P.S.- orangé G. Ces résultats semblent aller à l'encontre des conclusions de GOLDING et WHITTLE (1977) qui

pensent à une nature essentiellement protéo-glucidique de la sécrétion des cellules Ib. Ces auteurs ne se basent cependant que sur des critères morphologiques, et non sur des données cytochimiques. Les cellules II gardent une certaine positivité à l'A.P.S. après traitement enzymatique. En accord avec les observations de DHAINAUT-COURTOIS et WAREMBOURG (1969), nous pensons à une sécrétion lipoglycoprotéique.

2. Types cellulaires observés en microscopie électronique à transmission

L'adaptation de la technique de CLARK aux coupes incluses dans l'araldite a grandement facilité le repérage des différents types cellulaires observés précédemment sur coupes à la paraffine. Bien que de légères variations d'intensité de coloration puissent être observées par rapport aux coupes à la paraffine, qui sont plus épaisses, l'affinité tinctoriale du matériel de sécrétion pour les colorants reste inchangée.

- Les cellules I gardent une importante affinité pour la fuch sine paralaldéhyde.
- Les cellules II, qui ont une affinité pour le vert lumière, restent légèrement fuchsinophiles.
- Les cellules III sont difficiles à repérer, leur cytoplasme se colore par l'orangé G ou le vert lumière.
- Les images des cellules IV sont très différentes de celles observées sur coupes à la paraffine : on ne retrouve plus l'aspect en mottes décrit précédemment. Le contenu cytoplasmique de ces cellules est au contraire "plein", il se colore uniformément par les colorants acidophiles : orangé G ou vert lumière.
- Les cellules V et VI sont peu chromophiles, elles sont donc difficilement repérables par cette technique. Il semble que la technique de coloration simple au bleu azur II reste plus appropriée pour l'étude de ces types cellulaires.

2.1. Description ultrastructurale des types cellulaires I - VI

2.1.1. Le type cellulaire I

2.1.1.1. Le type cellulaire Ia

Les cellules Ia sont très facilement observables en coupes semi-fines ; leur cytoplasme très fuchsinophile, est très riche en granules de neurosécrétion. Ces granules qui ont une taille de 1100-1700 Å (moyenne : 1390 ± 20 Å) (figure 20), apparaissent denses aux électrons, leur contenu est finement granuleux. La membrane qui entoure ces gra-

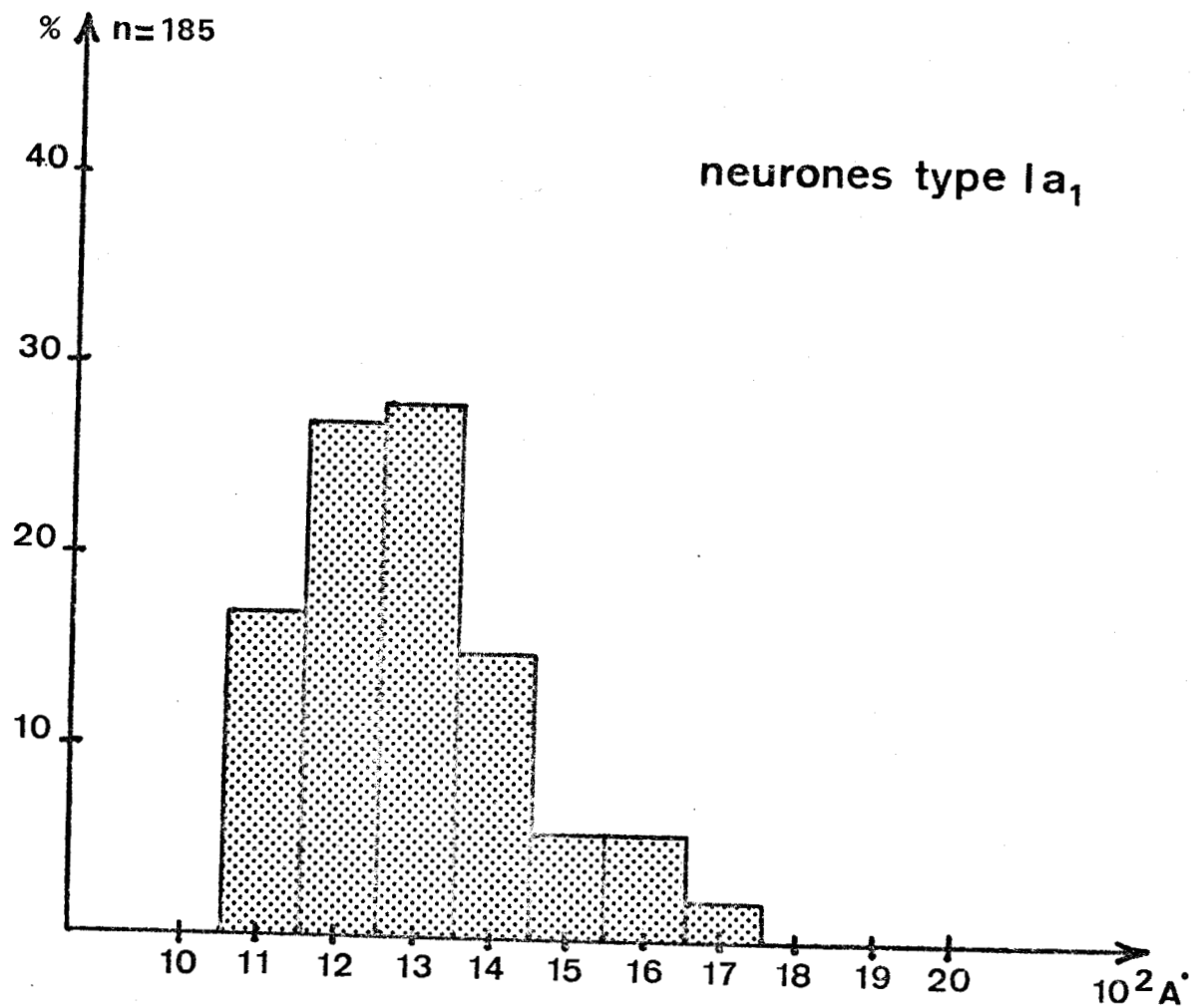
FIGURES 20 et 21

Histogrammes : répartition du diamètre moyen des granules à l'intérieur des corps cellulaires.

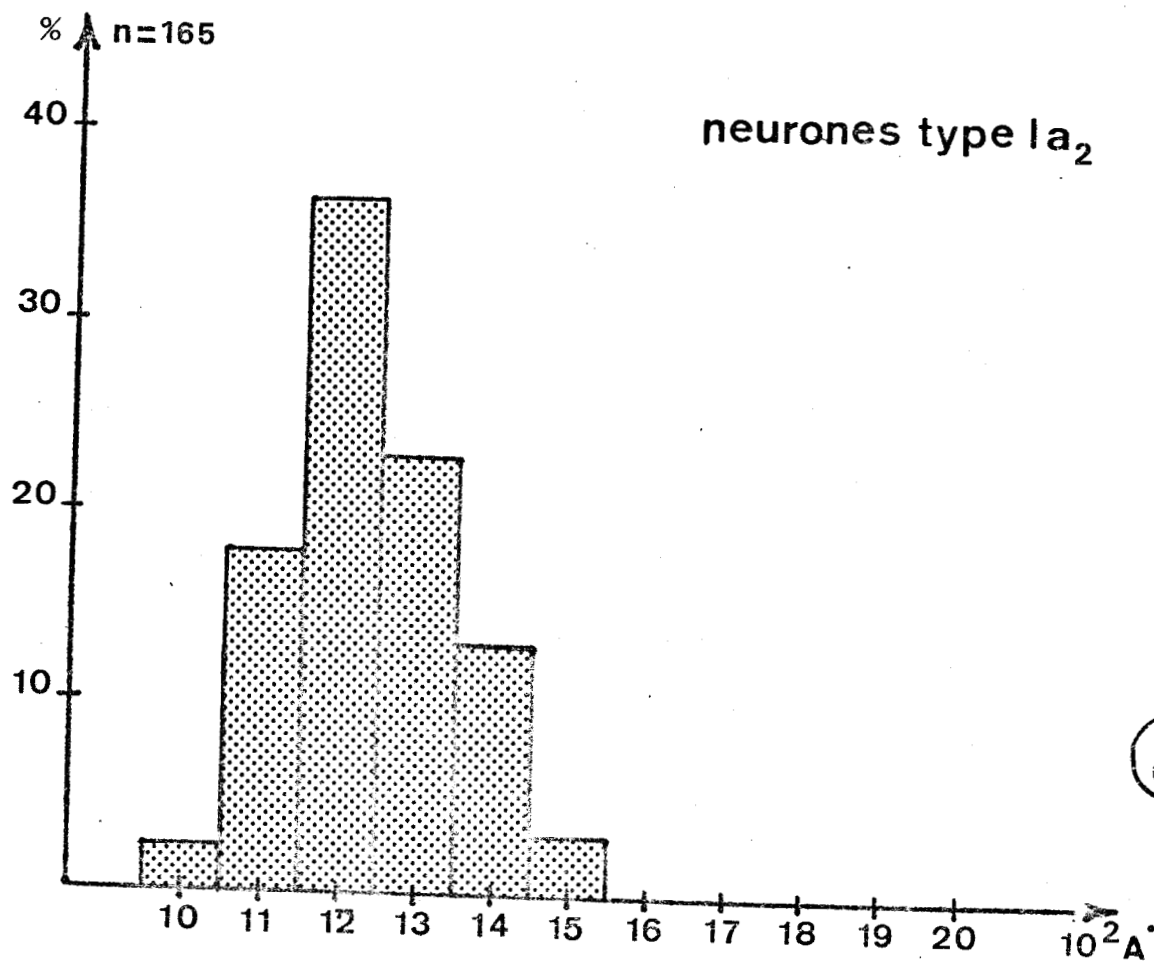
Figure 20 : cellules Ia₁

Figure 21 : cellules Ia₂

20



21



nules est difficilement visible en raison de l'absence de halo clair périphérique. Ces cellules Ia présentent également un réticulum endoplasmique granuleux bien développé ; celui-ci est bien visible autour du noyau où il forme des "citernes" concentriques. On observe également fréquemment la présence de nombreux grains denses et de vacuoles lipidiques.

D'autres cellules, d'aspect différent, sont présentes en petit nombre au sein du cerveau de la *Nereis* et ont également été observés dans la région antéro-dorsale du noyau 20 : à proximité du noyau ganglionnaire 19 (cellules de type IV). Ces neurones qui ont une taille comparable à celle des cellules Ia, décrites précédemment, ont un cytoplasme riche en grains élémentaires, denses aux électrons (planche 21, fig. a et b). Ces granules sont plus petits que ceux présents au sein des cellules Ia et Ib (cf. Description ci-après) ; ils ont une taille de 1000 à 1500 Å (moyenne 1230 ± 20 Å) (Fig. 21) et présentent souvent un étroit halo périphérique. Ces cellules correspondent probablement aux cellules C₁ décrites par GOLDING (1967b).

Nous classerons provisoirement celles-ci dans le type cellulaire Ia, en raison également de leur localisation au sein du noyau 20. Il est en effet pratiquement impossible de distinguer ces deux types cellulaires en microscopie photonique, par la technique de CLARK.

Pour le différencier du type cellulaire précédemment décrit, nous appellerons (Ia₁) les neurones dont les grains élémentaires ont une taille de 1100 à 1700 Å, et (Ia₂) les neurones dont les grains élémentaires ont une taille de 1000 à 1500 Å.

2.1.1.2. Le type cellulaire Ib

Le type cellulaire Ib se distingue assez facilement du type cellulaire Ia. Comme nous l'avons indiqué précédemment, les cellules Ia sont de plus grandes dimensions, et leur position au sein du noyau 20 est en règle générale plus postérieure et plus ventrale. De plus, l'examen des coupes semi-fines laisse apparaître une fuchsinophilie plus faible de ces dernières par rapport aux cellules Ia.

Les zones fuchsinophiles des cellules Ib ne s'étendent pas à l'ensemble du cytoplasme. Les zones sont souvent localisées à la périphérie de la cellule, où elles forment des "croissants" (planche 16, fig. a, b). La comparaison avec les images obtenues en microscopie électronique permet d'affirmer avec certitude que les zones fuchsinophiles correspondent à la présence des granules de neurosécrétion. Ces granules de neurosécrétion, qui ont une taille de 1100-1600 Å : moyenne 1280 ± 15 Å (Fig. 22) ont un contenu assez dense (planche 16, fig. c, d, e). Certains granules semblent contenir

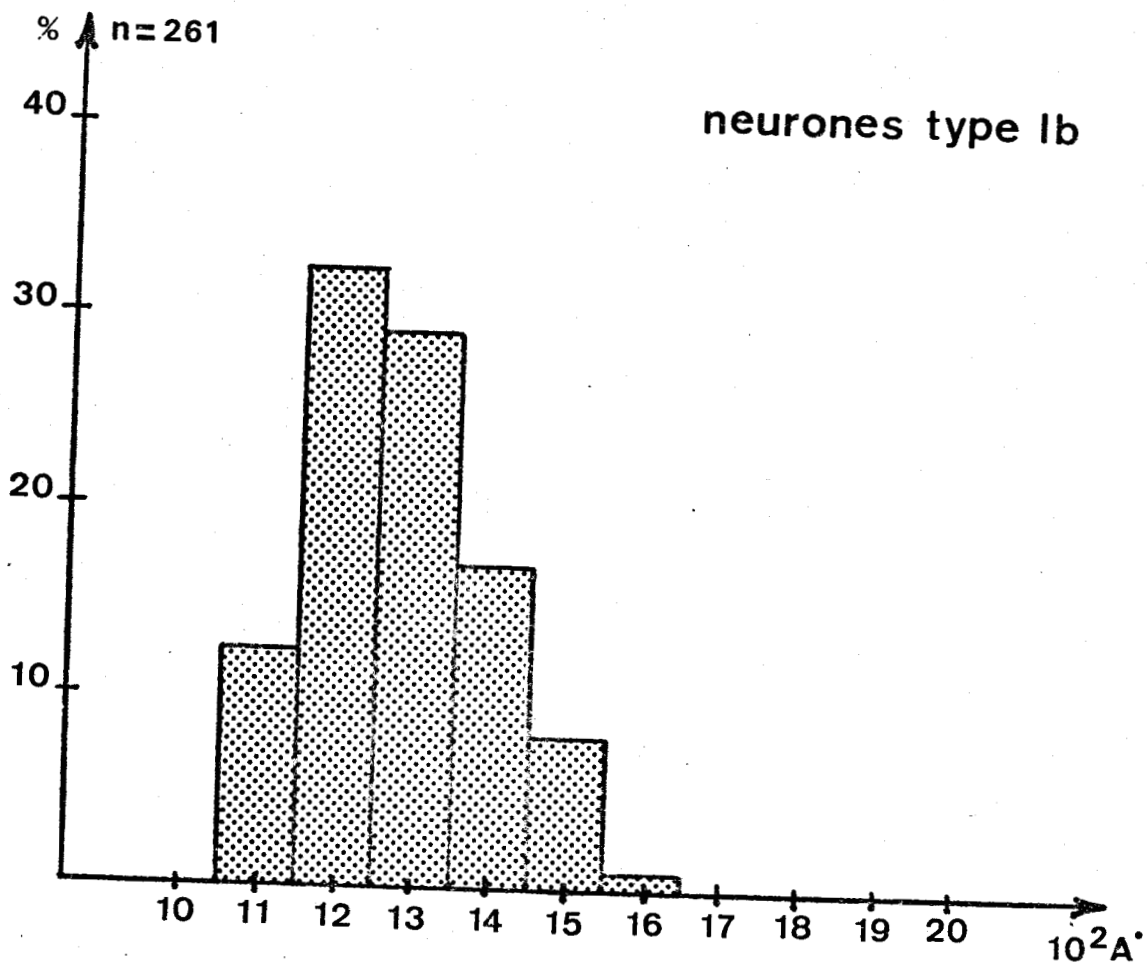
FIGURES 22 et 23

Histogrammes : répartition du diamètre moyen des granules à l'intérieur des corps cellulaires.

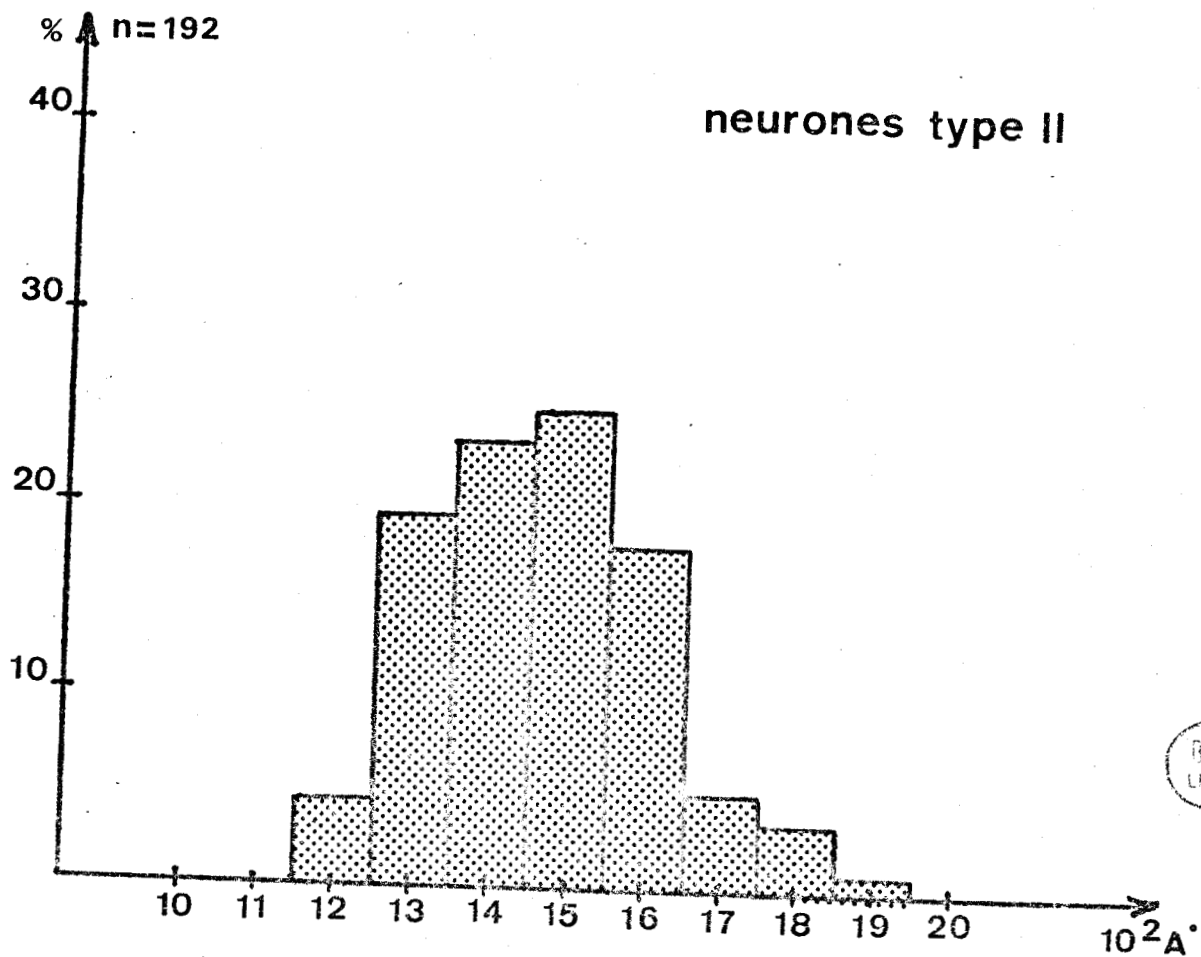
Figure 22 : cellules Ib

Figure 23 : cellules II

22



23



moins de matériel, ils sont de ce fait beaucoup moins opaques aux électrons. Leur aspect peut varier par rapport aux granules des cellules Ia, la membrane qui les entoure peut présenter certaines irrégularités. On observe de ce fait (dans certains cas) la présence d'un halo périphérique irrégulier (planche 16, fig. e). Entre les granules de neurosécrétion on note souvent la présence de particules de glycogène α (planche 16, fig. e). Ces cellules comprennent d'autre part d'importantes zones cytoplasmiques pauvres en granules de sécrétion. Ces zones qui sont situées autour du noyau correspondent probablement aux sites de production (planche 16, fig. a, b, ; planche 17), elles se caractérisent par un appareil de Golgi important, des corps multivésiculaires (planche 16, fig. d), quelques grains denses, et surtout de nombreuses petites vacuoles formées par du réticulum endoplasmique distendu (planche 17). Celui-ci est peu visible par ce mode de fixation, il apparaît plus nettement par fixation au tétroxyde d'osmium à 4°C : GOLDING (1967b) et observations personnelles.

2.1.1.3. Le type cellulaire Ic

L'investigation systématique des autres types cellulaires fuchsinophiles (Ic) présents dans les noyaux antérieurs du cerveau de la *Nereis*, n'a pas encore été effectuée. Les coupes ultrafines réalisées dans ces zones ont révélé la présence de neurones dont le cytoplasme est riche en grains élémentaires. Nous ignorons encore actuellement si ces cellules correspondent aux neurones fortement chromophiles mis en évidence par la technique de CLARK. La relation entre les données des microscopies photonique et électronique reste donc à établir. Nous nous proposons d'entreprendre une étude ultérieure de ces types cellulaires, en particulier grâce à l'utilisation de la technique de CLARK adaptée aux coupes semi-fines.

2.1.2. Le type cellulaire II

Les cellules de type II présentes chez *N. diversicolor* ont une ultrastructure très différente de celle observée par DHAINAUT-COURTOIS chez *N. pelagica*. Ces cellules ont une taille moyenne de 10-15 μ , un noyau de forme irrégulière et un cytoplasme riche en granules de sécrétion (planche 18). Les granules, contrairement à ceux observés dans les autres types cellulaires, apparaissent souvent peu denses aux électrons ; ils ont une forme légèrement ovoïde, leur taille peut varier entre 1200 et 1800 Å moyenne 1470 ± 20 Å (Fig. 23). A l'exception des granules les plus denses, les contours ne sont pas toujours nets et il semble que l'on puisse observer parfois des interruptions de membranes (planche 19, fig. b) ; celles-ci s'expliquent peut-être par une certaine fragilité des granules à la méthode de double fixation. Ces cellules possèdent d'autre part un ergastoplasme périnucléaire et on observe souvent des particules de glycogène α présentes entre les granules de sécrétion.

Chez les vers de diamètre ovocytaire 50-170 μ , et plus fréquemment chez les vers d'âge moyen de diamètre ovocytaire 80-120 μ , on observe au sein de certaines cellules II d'importantes plages, ou des grains de sécrétion très denses aux électrons (planche 19, fig. a, c, d). Ce matériel de sécrétion, qui se caractérise en coupe semi-fine par son importante affinité pour l'orangé G, semble être stocké par l'ergastoplasme : on observe en effet du réticulum endoplasmique granuleux autour de ces plages de sécrétion dense (planche 19, fig. c, d).

Nous avons également noté à plusieurs reprises, chez différents vers, la présence d'une importante enclave dans le noyau. Celle-ci est riche en grains denses non limités, apparemment, par une membrane.

L'interprétation des images observées au sein des cellules II de *Nereis diversicolor* est pour le moment difficile en raison de l'absence de points de comparaison. Il semble actuellement établi avec certitude que les plages ou gros grains de sécrétion observés en microscopie électronique correspondent aux mottes orangéophiles visibles sur coupes à la paraffine. Malheureusement ces mottes présentes chez *N. diversicolor* n'ont pas été retrouvées chez les autres espèces étudiées : *P. cultrifera*, *N. pelagica* ou *N. succinea*.

2.1.3. Le type cellulaire III

Le type cellulaire III est localisé principalement au sein du noyau ganglionnaire 18. Le corps cellulaire comprend un noyau possédant un ou deux volumineux nucléoles situés près de la périphérie de celui-ci ; un cytoplasme riche en granules de sécrétion et en organites cellulaires. Les granules sont de grande taille : 1300-2200 Å : moyenne 1660 ± 40 Å (Fig. 24), ils sont dans la plupart des cas très denses aux électrons (planche 20, fig. d). Ceux-ci semblent également assez facilement déformables, et dans le cas de certaines cellules les granules apparaissent ovoïdes. Les cellules III se caractérisent également par leur très grande richesse en ergastoplasme. Les citernes du réticulum endoplasmique granuleux entourent le noyau et forment souvent des enroulements caractéristiques visibles surtout chez les vers âgés (planche 20, fig. a, c, d) ; ceux-ci sont le plus souvent localisés du côté du pôle axonal. en une occasion nous avons observé une cellule III située en dehors du cerveau, contre la capsule cérébrale, à proximité de l'oeil postérieur (planche 20, fig. e, f). Il semble donc que les cellules III, bien que localisées au sein d'un noyau ganglionnaire, puissent avoir une répartition très large, ce qui confirme les observations faites antérieurement en microscopie photonique.

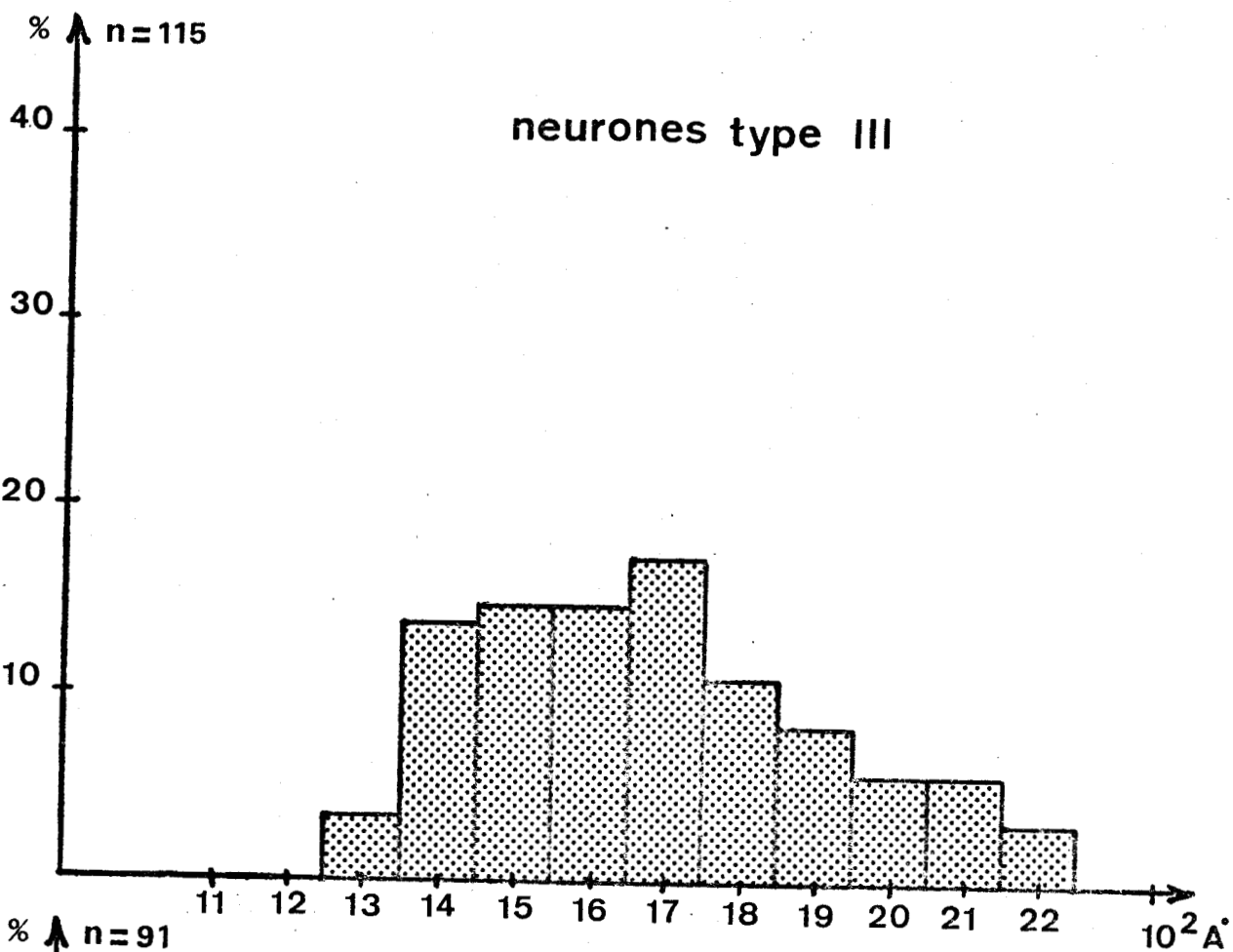
FIGURES 24 et 25

Histogrammes : répartition du diamètre moyen des granules à l'intérieur des corps cellulaires.

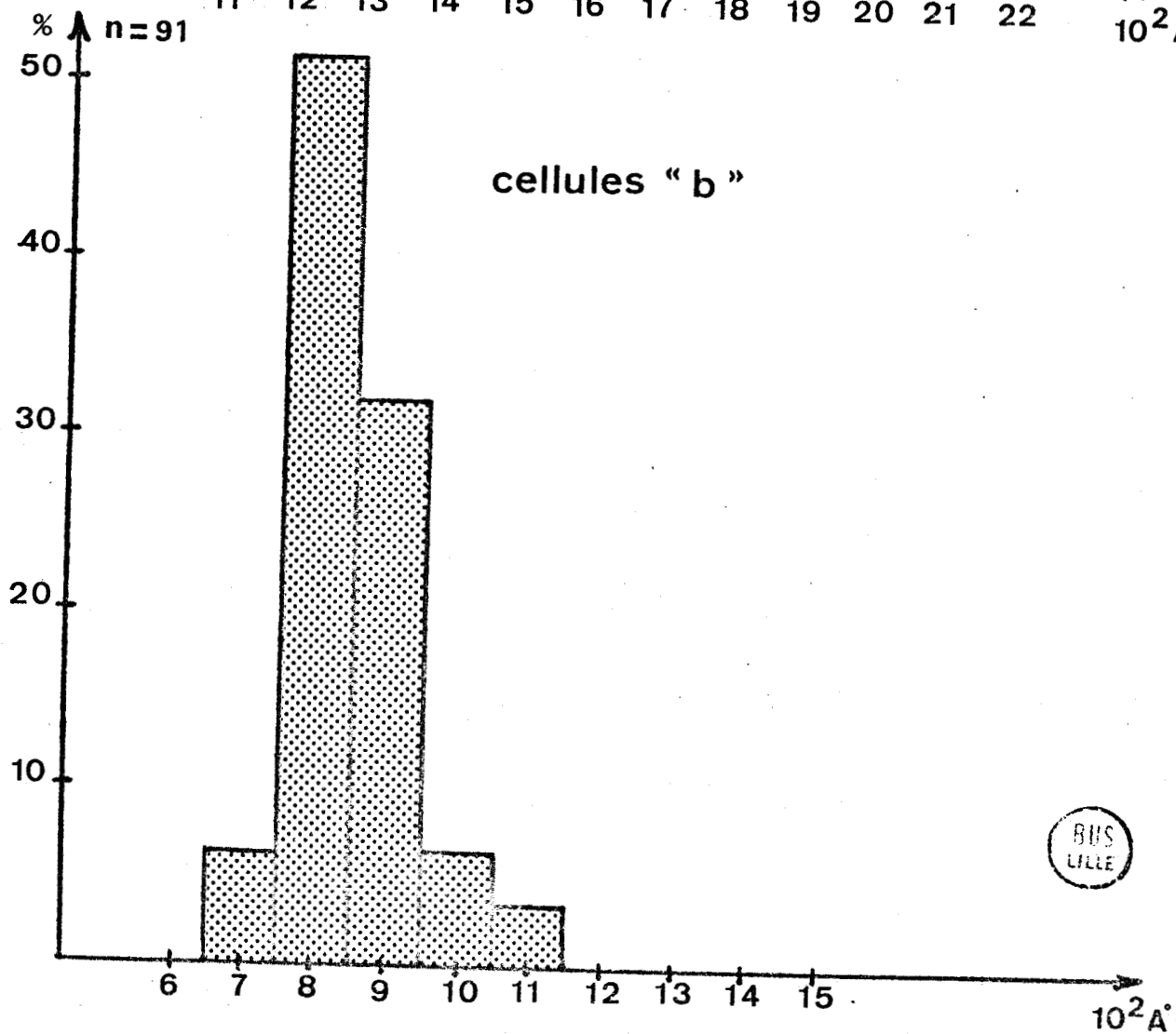
Figure 24 : cellules III

Figure 25 : cellules "b"

24



25



BUS
LILLE

2.1.4. Le type cellulaire IV

Les cellules IV correspondent aux cellules à structure ampullaire souvent décrites dans le noyau ganglionnaire 19. Elles sont associées à une cellule neurosensorielle, mais ne semblent pas être de nature nerveuse (DHAINAUT-COURTOIS, 1965, 1967, 1968b, 1970), GOLDING et WHITTLE (1977).

Les cellules IV sont facilement repérables en microscopie photonique (coupes semi-fines) ; elles sont de forme plus ou moins allongée et possèdent un noyau et une mince bande cytoplasmique périphérique entourant une lumière contenant une substance plus ou moins opaque aux électrons (planche 21, fig. c, d). Une forte opacité se traduit par une affinité pour l'orangé G en coupe semi-fine ; une opacité plus faible se traduit par une affinité pour le vert lumière.

Cette substance présente au centre des cellules IV est probablement synthétisée par le cytoplasme de ces cellules qui est riche en organites cellulaires : ergastoplasme, appareil de Golgi, mitochondries (non représenté sur les planches). Celle-ci est également beaucoup plus abondante chez *N. diversicolor* que chez *N. pelagica* ; chez cette dernière espèce, la lumière n'est pas complètement "remplie", la substance sécrétée forme des grains denses discontinus tandis que chez *N. diversicolor*, le contenu apparaît bien homogène.

Ces cellules de type IV ont probablement un rôle de soutien pour certaines cellules neurosensorielles (hypothèse formulée par DHAINAUT-COURTOIS, 1965). Dans la lumière remplie de matériel dense décrite précédemment on peut noter la présence de neurones attachés aux cellules IV par des desmosomes septés (planche 22, fig. a et b). Les prolongements dendritiques de ces cellules se terminent par des organites ciliaires semblables à ceux observés par DHAINAUT-COURTOIS chez *N. pelagica* : DHAINAUT-COURTOIS (1965, 1967, 1968b, 1970). Ces organites qui se prolongent dans la lumière des "cellules ampullaires" IV, perdent rapidement leur structure caractéristique de cil, se divisent en deux troncs qui se ramifient à leur tour (planche 22, fig. a, b).

Nous pensons comme DHAINAUT-COURTOIS (1970) et GOLDING et WHITTLE (1977) que le plus grand nombre de cellules neurosensorielles aboutissant dans les cellules de soutien IV possèdent leurs corps cellulaires dans le cerveau. Ceux-ci sont localisés dans une zone située sous le noyau 19 et correspondant à l'emplacement du noyau 16. Certains neurones de ce noyau possèdent en effet de nombreux points communs avec les prolongements observés au sein des cellules IV : densité du cytoplasme, aspect des mitochondries, richesse en glycogène (planche 22, fig. a et b).

Une description ultrastructurale précise de ces cellules neurosensorielles a par ailleurs été effectuée par DHAINAUT-COURTOIS (1965, 1968b) dans l'épiderme de *Nereis pelagica* épitoques. Chez cette dernière espèce des cellules de ce type sont parfois disséminées parmi les cellules épidermiques ; elles sont de ce fait facilement repérables en microscopie électronique.

2.1.5. Le type cellulaire V

2.1.5.1. Description générale

Le type cellulaire V englobe la plus grande partie des neurones dits "ordinaires" présents dans le cerveau de la *Nereis*. Le grand nombre de noyaux ganglionnaires et la grande abondance des neurones appartenant à ce type cellulaire V nous ont amené à sélectionner un nombre restreint de noyaux ganglionnaires ; nous avons observé plus particulièrement les noyaux 22, 5 et 14 (planche 24, fig. a, b, c, d).

Les cellules observées ont souvent un cytoplasme clair, au sein duquel les organites cellulaires sont facilement reconnaissables ; ces cellules sont souvent riches en mitochondries et on peut noter la présence de réticulum endoplasmique granuleux, de corps de Golgi (planche 24, fig. a, d) et de glycogène particulaire α ou β (planche 24, fig. d).

Les cellules que nous avons observées sont généralement assez pauvres en granules et en vésicules. Dans certains cas on peut observer une accumulation plus importante de ces grains élémentaires (planche 24, fig. b). Il est également possible que l'accumulation de ces granules et vésicules soit responsable de la fuchsinophilie de certains neurones observés au sein du ganglion de la *Nereis* ; ceci repose le problème de la différence entre le type cellulaire V et le type cellulaire Ic qui n'a pas encore été défini avec certitude en microscopie électronique.

La classification actuelle se basant essentiellement sur la fuchsinophilie de certains neurones, il est possible que certains d'entre-eux, classés dans le type cellulaire Ic, correspondent en fait à des neurones ordinaires V.

2.1.5.2. Les cellules "b" de SCHARRER

Malgré leur grande abondance, peu de neurones ordinaires ont retenu l'attention des premiers auteurs. Certaines cellules présentes au sein du noyau ganglionnaire 18 ont cependant été décrites dès 1936 par SCHARRER, chez *Nereis virens*. Ces cellules dont l'infrastructure a été étudiée par DHAINAUT-COURTOIS chez *N. pelagica* (1968b), ont été retrouvées chez *N. diversicolor* (planche 23, fig. b, d).

Les cellules "b" sont bipolaires, leur péricaryon est riche en grains élémentaires de 700-1100 Å de diamètre : moyenne 860 ± 20 Å (Fig. 25). Ces granules, contrairement à ceux de la majorité des autres cellules V, semblent répartis dans tout le cytoplasme. Ils semblent être élaborés par l'appareil de Golgi (planche 23, fig. d). On peut également noter la présence au sein de ces cellules d'ergastoplasme, de ribosomes libres et de particules de glycogène β (planche 23, fig. d).

Il est actuellement impossible de préciser la "destination" des prolongements des cellules "b" ; certains d'entre-eux entrent probablement dans la composition du nerf XV, qui relie un organe sensoriel cilié de type chimiorécepteur : l'organe nuchal (DHAINAUT-COURTOIS, 1970 ; WHITTLE et ZAHID, 1974) (cf planche 25), au noyau ganglionnaire 18.

2.1.6. Le type cellulaire VI

Les cellules de type VI peuvent également être classées parmi les neurones ordinaires ; elles constituent principalement les noyaux 1, 2, 3 (*corpora pedunculata*) et le noyau ganglionnaire 16, dont certains types cellulaires ont été décrits dans le paragraphe 2.4. (cellules neurosensorielles). Ces cellules apparaissent caryochromes en microscopie photonique. En microscopie électronique, le noyau volumineux présente de grosses mottes d'hétérochromatine (planche 23, fig. a, c) ; il est entouré par une assez mince bande cytoplasmique, au sein de laquelle les mitochondries sont bien visibles.

Le cytoplasme des cellules VI appartenant au noyau ganglionnaire 16, est riche en glycogène particulaire, contrairement aux cellules des *nuclei* 1, 2, 3 (planche 23, fig. a).

3. Comparaison avec les types cellulaires décrits antérieurement chez d'autres *Nereidae*

Le ganglion sus-oesophagien de la *Nereis* se caractérise par sa grande richesse en cellules neuroglandulaires. Celui-ci présente une importante affinité pour de nombreux colorants signalétiques des produits de la neurosécrétion, et en particulier pour la fuchsine paraldéhyde.

Le nombre des cellules I présentes au sein du cerveau de *Nereis diversicolor* semble plus élevé que chez *N. pelagica*, *N. succinea* et même *P. cultrifera*. L'aspect de ces neurones, ainsi que la taille des grains élémentaires intracytoplasmiques présentent des différences par rapport aux types cellulaires I observés par DHAINAUT-COURTOIS chez *N. pelagica* (1967, 1968b, 1970) (cf. tableau V).

Tableau V - Equivalence possible entre les différents types cellulaires décrits chez les polychètes *Nereidae*.

Références	Types cellulaires						
(DHAINAUT-COURTOIS (1966c, 1967) (essentiellement chez <i>N. pelagica</i>)	Ia	Ib	Ic	II	III	IV	V
(B. SCHARRER (1936, 1937) <i>N. virens</i> , <i>N. pelagica</i> , <i>N. diversicolor</i>)	a (en partie) ?	c	-	a ?	-	d	b : noyau 18
(SCHAEFER (1939) <i>N. diversicolor</i>)	a (en partie)	c	-	a ?	-	d	-
(HERIANT-MEEWIS et VAN DAMME (1962) <i>N. diversicolor</i>)	NS 1 (en partie) : allongées	NS 2	-	NS 1 (en partie) : piriformes	-	cellules à ampoule	cellules allongées
(HAUENSCHILD et FISCHER (1962) <i>P. dumerilii</i>)	1 ?	1	-	1 ?	-	2	-
(TAKEUCHI (1965) <i>N. japonica</i> <i>T. heterochaetus</i>)	B (en partie)	A (en partie)	B, C, D (en partie) ?	A (en partie)	-	E	B, C et D (en partie)
(GOLDING (1967b) <i>N. diversicolor</i> : Microscopie photonique (cf B. SCHARRER)	a	c	-	-	-	d	b : noyau 18
(GOLDING (1967b) <i>N. diversicolor</i> : Microscopie électronique)	c ₁ et c ₂ (noyau 19 selon cet auteur)	neurones du noyau 22 (en partie)	-	-	-	d	b : noyau 18 neurones du noyau 22
(GOLDING et WHITTLE (1977) <i>N. diversicolor</i> : Microscopie électronique (cf DHAINAUT-COURTOIS)	I (non publié)	IV	I (non décrit)	II (non décrit)	III (non décrit)	cellule de nature non neuronale	b : noyau 18 autres neurones décrits : noyaux 16, 22

Les cellules II qui sont disséminées parmi les cellules fortement fuchsinophiles sont plus difficilement repérables que chez *Nereis pelagica*. Elles présentent souvent une fuchsinophilie plus importante et leur aspect ultrastructural est très différent de celui observé par DHAINAUT-COURTOIS (cf Tableau V).

Les cellules III sont légèrement plus petites que celles observées chez *Nereis pelagica*. Contrairement aux résultats obtenus pour les types cellulaires I et II, l'aspect ultrastructural de ces cellules est semblable chez les deux espèces étudiées (cf Tableau V).

Les cellules IV qui sont les cellules de soutien des cellules neurosensorielles apparaissent plus nombreuses chez *Nereis pelagica*, *Perinereis cultrifera* et *Nereis succinea*, que chez *Nereis diversicolor*. La taille de ces cellules est particulièrement importante chez les *Nereis succinea* épitoques. Il est possible que ces différences soient dues au fait que *Nereis diversicolor* ne réalise pas de transformations hétéronéréidiennes, contrairement aux autres espèces citées.

Les cellules V ont une répartition relativement homogène chez les différentes espèces étudiées, sauf chez *N. succinea*, où les noyaux ganglionnaires sont nettement moins individualisés. La fuchsinophilie des neurones V apparaît plus forte chez *Nereis diversicolor* que chez les autres espèces étudiées.

Les cellules VI ont un aspect analogue chez *Nereis diversicolor*, *Nereis pelagica*, *Perinereis cultrifera* ou *Nereis succinea* ; leur répartition peut cependant présenter de légères variations d'une espèce à l'autre (RICHARD, 1964).

Compte-tenu de la grande diversité des travaux existant actuellement pour définir les types cellulaires présents au sein du cerveau de la *Nereis*, et de nos propres observations, il nous a semblé utile dans un but d'harmonisation et de simplification, d'établir la correspondance entre toutes les classifications existantes (nous avons résumé toutes les données dans le Tableau VI).

Tableau VI - Comparaison des cellules neuroglandulaires Ia, Ib, II, III, présentes chez *N. diversicolor*, avec celles décrites antérieurement chez *N. pelagica* (DHAINAUT-COURTOIS, 1966c, 1967, 1968, 1970).

	<i>N. diversicolor</i>				<i>N. pelagica</i>			
Types cellulaires	Ia	Ib	II	III	Ia	Ib	II	III
Taille (μ)	largeur:12 longueur:25	25	13-18	10-15	longueur:18	15	15-20	15-20
Affinité tinctoriale : technique de CLARK	FP ++	FP ++	VL + à ++ FP ±	Or.G + VL ±	FP ++	FP ++	VL ++ FP ±	Or.G ++ VL ±
Taille moyenne des grains élémentaires (Å)	1390 ± 20 (Ia ₁) 1230 ± 20 (Ia ₂)	1280 ± 15	1470 ± 20	1660 ± 40	1200	1500	1600	2000
Aspect des grains élémentaires	densité forte ; contenu homogène (Ia ₁) densité forte ; contenu homogène avec étroit halo: périphérique: (Ia ₂)	densité moyenne ; ou forte avec étroit halo: périphérique:	densité faible ou moyenne ; contenu peu homogène	densité moyenne ou forte ; contenu homogène sans halo périphérique	densité moyenne ; contenu plus ou moins homogène avec étroit halo périphérique	densité moyenne ou forte ; contenu homogène avec étroit halo: périphérique:	densité moyenne ou forte ; contenu homogène sans halo périphérique:	densité moyenne ou forte ; contenu homogène sans halo périphérique:

FP : fuch sine paraldéhyde ; VL : vert lumière ou vert sulfo ; Or.G : orangé G.

±, +, ++ : respectivement réactions faibles, moyennes, fortes.



c - Discussion

Comme nous l'avons signalé dans les paragraphes précédents, le ganglion sus-oesophagien de *Nereis diversicolor* renferme une grande variété de cellules. D'après leurs caractères morphologiques, leur affinité pour certains colorants, ou leur situation au sein de ce ganglion, celles-ci ont été réparties en six types principaux (I-VI). Trois d'entre eux : les types cellulaires I, II, III, ont une nature glandulaire affirmée.

Le type cellulaire I, qui comprend tous les neurones fortement fuchsinophiles présents au sein du cerveau de la *Nereis*, après traitement par la technique de CLARK, est très difficile à définir avec certitude. Il se compose d'une "population" très hétérogène, localisée essentiellement au sein du noyau ganglionnaire 20. Des différences parfois importantes parmi les neurones I, ont en effet été observées, après emploi d'autres techniques de coloration en microscopie photonique (cf Tableau IV), ou après utilisation des méthodes de la microscopie électronique (cf Tableau V). Les résultats ainsi obtenus ont nécessité l'adoption d'une classification plus fine. Aux nombreux sous-types cellulaires décrits au sein du noyau 20 (Ia₁, Ia₂, Ib) vient s'ajouter la "population" des neurones Ic, qui sont situés plus antérieurement, et dont l'infrastructure n'a pas encore pu être précisée. L'adaptation de la technique de CLARK, aux coupes incluses dans l'araldite, en dehors de l'intérêt qu'elle présente pour la localisation des types cellulaires en microscopie électronique, a également permis d'établir avec certitude la correspondance entre les zones fuchsinophiles des cellules Ib, et la présence des granules de neurosécrétion. Cette affinité pour la fuchsine paraldéhyde est due à la présence au sein de ces granules, de groupements -SO₃H. Ceux-ci résultent de l'oxydation de ponts disulfures, ou de radicaux SH, souvent décelables dans un "matériel" (en partie) peptidique ou protéique. Nos connaissances actuelles ne nous permettent pas de préciser si cette intense fuchsinophilie est due à la présence d'une "hormone" ou d'une substance de type "neurophysine" : une étude immunocytoologique effectuée au niveau des ganglions cérébroïdes et sous-oesophagien du phasme *Clitemnus extradentus*, a permis de mettre en évidence dans le ganglion sous-oesophagien de cet insecte, deux cellules neurosécrétrices fuchsinophiles fixant des anticorps anti-neurophysine et anti-vasopressine. Aucune réaction n'a par contre été décelée au sein des ganglions cérébroïdes (REMY, GIRARDIE, DUBOIS, 1977 ; cf également BERLIND, revue, 1977). Disposant facilement de neurophysine de Vertébré et d'hormones hypothalamiques et hypophysaires purifiées, nous avons tenté des réactions d'immunofluorescence sur notre matériel, les résultats se sont révélés négatifs.

Les cellules de type II sont situées dans le noyau ganglionnaire 20. Elles correspondent probablement en partie aux cellules NS 1 décrites par HERLANT-MEEWIS et VAN DAMME (1962) chez *N. diversicolor* (cf Tableau VI). Contrairement aux cellules I, l'affinité de leur cytoplasme pour la fuchsine paralaldéhyde reste faible, celui-ci conservant une certaine acidophilie. L'aspect ultrastructural de ces cellules est très différent de celui des cellules II observées par DHAINAUT-COURTOIS (1967) (cf Tableau VI). Le noyau a souvent une forme irrégulière, et les grains élémentaires intracytoplasmiques sont peu denses aux électrons. De plus, on observe parfois la présence au sein de certaines cellules II, d'importantes "plages" intracytoplasmiques, ainsi que d'inclusions nucléaires, renfermant des grains denses aux électrons. Ces images observées en microscopie électronique correspondent aux mottes orangéophiles décrites en microscopie photonique ; elles n'ont jusqu'à présent été observées que chez *N. diversicolor*. Il est probable que celles-ci traduisent un changement important dans le métabolisme de ces cellules.

Les cellules de type III, localisées dans le noyau 18, sont difficilement repérables ; leur cytoplasme reste acidophile après oxydation permanganique. L'infrastructure des cellules observées chez *N. diversicolor*, semble identique à celle observée chez *N. pelagica* par DHAINAUT-COURTOIS (1967).

Les cellules IV, représentent les cellules "d" (B. SCHARRER) et les "cellules à ampoules" (HERLANT-MEEWIS et VAN DAMME) (cf Tableau VI). Elles sont associées à une cellule neurosensorielle, dont le corps cellulaire se situe probablement dans le noyau 16 ; mais, elles ne semblent pas être de nature nerveuse. Le matériel présent au sein de ces cellules, qui est visible sous la forme de gouttelettes orangéophiles, d'aspect colloïdal, sur coupes à la paraffine, apparaît au contraire "plein" et homogène sur coupes incluses dans l'araldite.

Le type cellulaire V est très difficile à définir, il comprend la grande majorité des neurones dits "ordinaires", présents au sein du cerveau de la *Nereis*. La plupart des cellules V sont peu ou pas chromophiles, ce qui explique en partie le manque d'intérêt manifesté par les précédents auteurs.

Un grand nombre de cellules V, présente une activité métabolique importante : la technique à l'A.P.S.- orangé G, a révélé la présence de polyosides dans de nombreux péricaryons. L'incorporation de cystéine et de cystéine tritiées, chez *P. dumerilii* (MÜLLER, 1973) a révélé une importante activité de ces neurones "ordinaires" : l'incorporation de ces acides aminés est particulièrement importante au sein des groupes cellulaires "antéro-

dorsal" (environ 125 neurones marqués, chez le ver de diamètre ovocytaire 100 μ), et "postéro-ventral" (environ 100 neurones marqués chez le ver du même âge). Le marquage est moins important au sein d'un groupe cellulaire "postéro-dorsal" (moins de 25 neurones marqués). Cette incorporation de cystine et de cystéine ne baisse pas à l'approche de la maturité sexuelle, elle a même tendance à augmenter légèrement. D'autres études autoradiographiques menées à l'aide de l'acide gamma-amino-butyrique, de sérotonine, et de dopamine tritiées (cf chapitre IV) montrent une importante capture de ces substances tritiées, par certains neurones : ce qui témoigne également de la grande activité de nombreuses cellules de type V, et de la grande hétérogénéité de cette "population" cellulaire.

Cette hétérogénéité explique également en partie les résultats très fragmentaires obtenus en microscopie électronique, ainsi que la difficulté de différencier les neurones V des cellules Ic.

Les importantes différences d'activité métabolique, enregistrées parmi les neurones, ne peuvent pas encore, dans l'état actuel de nos connaissances, être rattachées à un critère morphologique.

La correspondance entre l'aspect des grains élémentaires (taille, densité aux électrons), leur composition chimique, et leur(s) rôle(s) éventuel(s) reste également à établir.

Les cellules de type VI sont caryochromes, elles forment des *globuli* (noyaux 1, 2, 3 et 16). Les neurones VI du noyau 16 correspondent probablement à des cellules neurosensorielles. Selon GOLDING et WHITTLE (1977), seul un petit nombre de cellules VI entrerait en contact avec les cellules ampullaires IV ; les autres seraient à l'origine des prolongements sensoriels observés sous la cuticule.

La participation des cellules VI dans les phénomènes sensoriels, semble confirmée d'après les résultats obtenus dans le chapitre I. Les *corpora pedunculata* sont à l'origine des nerfs III et IV, qui se terminent également par un organe sensoriel (RETZIUS, 1895 ; DHAINAUT-COURTOIS, 1970). Ces *globuli* 1, 2, 3 participent d'autre part de manière importante à la formation du gros nerf palpaire VI. Les *corpora pedunculata* envoient probablement également des fibres dans le nerf antennaire II.

Au cours de cette étude, effectuée chez des *Nereis* d'âges différents (diamètre ovocytaire 30-220 μ), aucune différence importante n'a été relevée au sein des types cellulaires étudiés. L'affinité des cellules neuroglandulaires du noyau 20 reste toujours très forte tout au long de la vie du ver, elle a même tendance à augmenter légèrement chez le ver âgé.

III - LE COMPLEXE CEREBRO-VASCULAIRE

A - HISTORIQUE

La découverte, par BOBIN et DURCHON (1952), chez *Perinereis cultrifera*, de l'existence d'un complexe cérébro-vasculaire, s'est avérée d'une importance capitale dans la compréhension des phénomènes neurosécrétoires. Ces travaux ont en effet été le point de départ de nombreuses études, menées chez différentes espèces de *Nereidae* : DEFRETIN (1955) chez *N. irrorata*, *N. pelagica* et *N. diversicolor* ; DHAINAUT-COURTOIS (1966a, b, 1968a) chez *N. pelagica* ; GOLDING, BASKIN et BERN (1968) chez *N. diversicolor*, *N. limnicola*, *N. vexillosa*, *P. agassizii* ; GOLDING et WHITTLE (1974, 1975a, 1977 : revue) chez *N. diversicolor*, *N. limnicola*, *N. pelagica* et *N. virens* ; WHITTLE et GOLDING (1976) chez *N. diversicolor*, *N. limnicola*, *N. virens* et *P. dumerilii* ; BASKIN (1970, 1974, 1976) chez *N. limnicola* ; TOMBES et DHAINAUT-COURTOIS (1974) ; TOMBES (1977) chez *P. cultrifera* ; HOFFMANN (1976) chez *P. dumerilii* ; AL SHAROOK, GOLDING et WHITTLE (1975) ; ENGELHARDT (1976) chez *N. diversicolor*.

Ces travaux ont été également étendus à d'autres familles de Polychètes errantes : *Nephtyidae* : GOLDING (1970) ; ZAHID et GOLDING (1975), *Polynoidae* : BASKIN (1971a) ; GOLDING (1973) ; *Aphroditidae*, *Sigalionidae* : GOLDING (1973), *Phyllodocidae* : WHITTLE et GOLDING (1974).

Il semble actuellement établi que le complexe cérébro-vasculaire, situé au niveau de la région postéro-ventrale du ganglion cérébral des *Nereidae*, constitue une zone de relation plus étroite entre le cerveau et le système vasculaire.

L'architecture de cet organe neurohémal est maintenant bien connue, nous en rappelons les points importants.

Il est constitué :

- d'un cône neurofibreux (le cône intracérébral) se détachant du neuropile, et descendant verticalement pour aboutir au dessus du bord interne de la capsule cérébrale.
- D'une capsule anhiste qui peut présenter des ramifications locales.
- D'une aire infracérébrale, composée d'un épaissement de l'épithélium péri-capsulaire (les cellules infracérébrales). Celui-ci est séparé du réseau vasculaire infracérébral par un sinus coelomique d'importance variable.

Ces observations, réalisées en microscopie photonique, ont été précisées grâce à l'utilisation des techniques de microscopie électronique.

- Le cône neurofibreux, décrit pour la première fois chez *N. pelagica* par BOBIN et DURCHON, serait essentiellement constitué de fibres névrogliales, et de plusieurs types de fibres nerveuses (cf Tableau VII).

Tableau VII - Fibres du cône intracérébral (données ultrastructurales).

Type de fibres	Localisation	Caractéristiques	Exemples
Névrogliques	Dans le cerveau ; descendent sur la capsule cérébrale	Pauvres en organites Nombreuses formations fibrillaires Présence de grains denses	Observé chez toutes les espèces de <i>Nereidae</i> étudiées (cf Historique)
Terminaisons axonales pauvres en mitochondries appartenant à des neurones dits "ordinaires"	Dans le cerveau ; descendent sur la capsule cérébrale	Rareté en grains élémentaires Présence fréquente de petites vésicules peu denses aux électrons	<i>N. pelagica</i> (DHAINAUT-COURTOIS, 1970) <i>N. limicola</i> (BASKIN, 1976) <i>N. diversicolor</i> (GOLDING et WHITTLE, 1977)
Terminaisons axonales riches en mitochondries (1)	Origine cérébrale Ne traversent pas la capsule cérébrale Traversent parfois la capsule cérébrale	Terminaisons élargies, contenant des mitochondries géantes Présence de grains élémentaires denses aux électrons	observé chez toutes les espèces de <i>Nereidae</i> étudiées. <i>N. pelagica</i> (DHAINAUT-COURTOIS, 1966a, 1970) <i>P. cultrifera</i> (TOMBES et DHAINAUT-COURTOIS, 1974 ; TOMBES, 1977)
Terminaisons axonales riches en grains élémentaires (2) (neurosecrétoires)	Origine cérébrale Ne traversent pas la capsule cérébrale Traversent parfois la capsule cérébrale	Grains variables selon les espèces Origine de ces terminaisons et aspect des grains élémentaires non précisés Origine présumée : cellules Ib Origine présumée : cellules Ia et II	observé chez toutes les espèces de <i>Nereidae</i> étudiées. <i>N. pelagica</i> (DHAINAUT-COURTOIS, 1970) <i>N. pelagica</i> (DHAINAUT-COURTOIS, 1970)

(1) "Secretory-end-feet" (sef) : terminologie selon GOLDING et WHITTLE (1974).

(2) Neurosecretory nerve endings (nse) : terminologie selon GOLDING et WHITTLE (1974).

- La capsule cérébrale comporte des fibres dont la périodicité voisine de 550 Å témoigne de leur nature collagène (DHAINAUT-COURTOIS, 1966b ; ENGELHARDT, 1976).
- Les cellules infracérébrales se répartissent en deux types principaux : C₁ et C₂ (terminologie selon DHAINAUT-COURTOIS, 1966a).

Dans le but d'une meilleure connaissance de cet organe neurohémal, présent chez *N. diversicolor*, nous entreprendrons une étude histologique et ultrastructurale du complexe cérébro-vasculaire de ce ver. Nous nous attacherons tout particulièrement à la localisation et à la description ultrastructurale des fibres neurosécrétoires du cône intracérébral, ainsi qu'aux "rapports" pouvant exister entre ces fibres et les cellules infracérébrales.

Nous tenterons également une étude expérimentale à ce niveau : plusieurs enzymes ont été essayées dans le but de séparer l'épithélium infracérébral du cerveau.

B - OBSERVATIONS

a - Matériel et méthodes

1. Etude histologique

Les prostomiums de *Nereis* ont été fixés et coupés, en vue de l'examen histologique selon les protocoles décrits précédemment (cf pages 3 et 4).

Les coupes destinées à être observées en microscopie photonique sont traitées par la technique d'imprégnation argentique selon HOLMES (1947). Les coupes destinées à être observées en microscopie électronique sont traitées par la double coloration acétate d'uranyle : WATSON, (1958) - citrate de plomb : REYNOLDS, (1963).

2. Etude expérimentale

Les prostomiums destinés à l'expérimentation sont disséqués, puis traités par les enzymes suivantes :

- Trypsine (20000 U/g, Serlabo) : 0,3 mg/ml et 0,6 ml/ml, pendant 15 mn à 37°C dans du tampon Tris, NaOH pH 7,6 ; en présence ou non d'EDTA ₂Na (Prolabo).
- Pronase (45000 U/g, Koch Light) : 0,1 mg/ml et 0,2 mg/ml, pendant 15 mn à 37°C dans du tampon Tris NaOH pH 7,6 ; en présence ou non d'EDTA (0,4 mg/ml).
- Trypsine : 0,6 mg/ml pendant 15 mn à 37°C, suivi de 3 rinçages dans du tampon Tris, puis Pronase 0,2 mg/ml pendant 15 mn à 37°C ; en présence ou non d'EDTA (0,4 mg/ml).

- Collagénase bactérienne (Forme 1 : activité 20000 U/g, Koch Light) : 1mg/ml dans de l'eau de mer filtrée millipore, pH 8,2 environ :
 - . pendant 30 mn, 1 heure, 2 heures, 4 heures, 8 heures (température 20°C) ;
 - . pendant 30 mn, 1 heure, 2 heures, 4 heures (température 27°C) ;
 - . pendant 30 mn, 1 heure, 2 heures (température 37°C).

Les pièces sont ensuite incluses dans de la cytoparaffine et coupées à 7 μ .
Les lames sont colorées par la technique de CLARK.

b - Résultats

1. Observations réalisées en microscopie photonique

Le complexe cérébro-vasculaire de *Nereis diversicolor* s'étend entre le repli coelomique antérieur et une zone située légèrement en arrière du repli coelomique postérieur. La longueur de cet organe neurohémal peut varier de 180 μ (vers jeunes dont les produits génitaux commencent à se différencier), à 300 μ (vers d'âge moyen : diamètre ovocytaire d'environ 140 μ). Ces différences observées entre vers d'âges différents s'expliquent par la croissance du cerveau.

1.1. Le cône intracérébral

Le "cône intracérébral" comprend plusieurs faisceaux fibreux se terminant au niveau de la capsule cérébrale.

Grâce à des coupes de 20 μ d'épaisseur (imprégnation argentique selon HOLMES), nous avons pu localiser ceux-ci avec précision. Cinq faisceaux bien distincts ont été observés. Par commodité, en particulier pour faciliter leur repérage sur les coupes, nous dénommerons ceux-ci : FI₁ (faisceau le plus postérieur) à FI₅ (faisceau le plus antérieur). L'adoption d'une telle appellation clarifiera également la description ultrastructurale ultérieure.

Le faisceau FI₁ a une position médiane ; il est situé dans le plan transversal du noyau 22. Les fibres qui le composent appartiennent probablement pour la plupart au repli coelomique postérieur (planche 7, fig. b ; planche 26, fig. a).

Le faisceau FI₂ est difficilement repérable. Les deux branches latérales qui le composent sont localisées en avant de la commissure postérieure, et juste en arrière de l'important faisceau fibreux FI₃ (planche 6, fig. c ; planche 26, fig. b).

Le faisceau FI₃ constitue le faisceau le plus important du "cône intracérébral" ; il présente un diamètre d'environ 40 μ , et une orientation de 30° vers l'arrière. La partie postérieure de ce cône fibreux, située dans le plan transversal de la commissure dorsale de la racine postéro-dorsale du collier périoesophagien (commissure c, cf. chapitre I), reçoit des

fibres provenant essentiellement de la base du neuropile (Planche 26, fig. c).

La partie située plus en avant a essentiellement pour origine la région dorsale du neuropile (planche 6, fig. b ; planche 26, fig. d).

Le faisceau FI₄ est constitué de deux fines branches latérales qui proviennent de la base du neuropile, et situées dans le plan transversal de la commissure ventrale de la racine postéro-dorsale du collier périoesophagien (commissure d ; cf chap. I). Les fibres qui le constituent proviennent en partie des noyaux latéraux 13 et 15 (planche 5, fig. b ; planche 26, fig. e).

Le faisceau FI₅ est médian, il est situé postérieurement par rapport à l'invagination formée par le tube coelomique antérieur (planche 4, fig. d ; planche 26, fig. f).

1.2. La capsule cérébrale

La capsule présente une forte affinité pour le vert lumière (ou vert sulfo) après traitement par la technique de CLARK. Elle peut présenter des variations d'épaisseur en fonction de l'espèce étudiée : d'assez faible épaisseur chez *N. limnicola* (cf Historique) et chez *N. diversicolor* (0,5 à 1 μ), elle est par contre très épaisse chez *N. pelagica* et surtout *P. cultrifera* (quelques μ).

Celle-ci comprend parfois des interruptions ou des délaminations. Celles-ci sont toutefois peu nombreuses et difficilement repérables ; elles correspondent probablement à des zones de contact privilégiées entre certaines fibres issues du cerveau et les cellules de l'épithélium infracérébral.

Deux zones ont été localisées avec certitude au niveau du complexe cérébro-vasculaire : la première, de faible importance, n'a pas encore été décrite. Elle est située très postérieurement : dans le plan transversal du noyau 20 (zone située juste en arrière du faisceau FI₁). Nous la dénommerons poche ventrale (non représentée sur les planches, mais décrite en microscopie électronique). La seconde interruption est plus importante. Elle se situe dans la région antérieure et médiane du complexe cérébro-vasculaire, dans une zone située à proximité du plan transversal du faisceau FI₄. Celle-ci a également été décrite chez d'autres espèces de *Nereidae* (GOLDING, BASKIN, BERN, 1968). Ces auteurs ont appelé cette interruption "Mid ventral pocket" ; par analogie nous la dénommerons : poche médiane ventrale (planche 30, fig. a). Dans la région postérieure de cette poche médiane ventrale, les noyaux des cellules infracérébrales sont séparés de la capsule par une zone claire. A ce niveau apparaît une lame capsulaire qui s'intercale entre cette zone claire et

les cellules infracérébrales. En avant de l'interruption, la zone claire a disparu et les noyaux des cellules infracérébrales sont localisés contre la capsule.

Il est donc permis de penser que des éléments cellulaires pénètrent dans le cerveau à ce niveau et que la lame capsulaire apparue au sein de la gouttière infracérébrale assure une séparation entre le cerveau et les cellules infracérébrales en avant de cette interruption (planche 27, fig. b, c, d, e)

1.3. Les cellules infracérébrales

Comme nous l'avons signalé précédemment, l'épithélium infracérébral résulte d'un épaississement des cellules péricapsulaires. On peut distinguer deux types de cellules (planche 27, fig. a).

Les plus nombreuses de forme allongée ont une disposition épithéliale chez le ver d'âge moyen. Elles correspondent aux cellules C₁ (terminologie selon DHAINAUT-COURTOIS, 1966a).

Les autres, moins nombreuses, à cytoplasme clair, correspondent aux cellules C₂ (terminologie selon DHAINAUT-COURTOIS, 1966a).

2. Observations réalisées en microscopie électronique

2.1. Le cône intracérébral

De nombreux types de fibres aboutissent au niveau de la capsule cérébrale : certaines d'entre elles sont de nature névroglie, les autres correspondent pour la plupart à des terminaisons axonales, riches en mitochondries, et à des terminaisons axonales riches en grains élémentaires (neurosecrétoires).

2.1.1. Les fibres névroglie

Les fibres névroglie sont très nombreuses, elles s'attachent sur la capsule cérébrale en formant des hémidesmosomes (planche 33, fig. a). Celles-ci contiennent souvent de gros granules denses, limités par une membrane, et dont le diamètre est souvent supérieur à celui des granules de neurosecrétion ; la taille de ces granules peut dans certains cas atteindre 4500 Å.

Les corps cellulaires, qui sont à l'origine de ces fibres sont souvent peu éloignés de la capsule. Certains d'entre eux, situés à la base du neuropile, ont une infrastructure très semblable à celle des "granulocytes" décrits par BASKIN (1971b).

2.1.2. Terminaisons axonales riches en mitochondries

Les terminaisons axonales riches en mitochondries ont une répartition très large : elles sont présentes sur presque toute la longueur du complexe cérébro-vasculaire, sauf dans une zone restreinte située en arrière du repli coelomique postérieur. Ces terminaisons sont également facilement repérables en raison de leur taille (jusqu'à 3,5 μ de long) et de leur grande richesse en mitochondries. Celles-ci sont souvent de grandes dimensions ; elles présentent de très nombreuses crêtes de forme tubulaire ou circulaire analogues à celles observées dans les mitochondries de certaines cellules synthétisant des stéroïdes ou de certaines cellules du tissu adipeux (planche 32, fig. d, e, f).

Dans certaines terminaisons on peut également observer la présence de grains denses intramitochondriaux (planche 32, fig. e). Celles-ci possèdent également des granules denses extramitochondriaux qui sont localisés le plus souvent à proximité de la capsule cérébrale (planche 32, fig. e).

Des terminaisons de ce type ont été observées chez toutes les espèces de *Nereidae* étudiées, elles se terminent le plus souvent au-dessus de la capsule cérébrale.

2.1.3. Terminaisons axonales riches en grains élémentaires (neurosecrétoires)

De nombreuses terminaisons axonales neurosecrétoires ont été retrouvées au niveau du complexe cérébro-vasculaire. Elles sont observées le plus souvent au-dessus de la capsule cérébrale, rarement au niveau des cellules infracérébrales.

Des confrontations entre l'infrastructure des grains élémentaires contenus dans les terminaisons axonales, et les cellules décrites précédemment (cf chapitre II) nous permettent d'envisager trois types d'axones qui aboutissent au niveau de la capsule cérébrale. Ceux-ci seront appelés respectivement axones Ia, Ib, II.

Le type d'axone que nous avons observé le plus fréquemment est indiscutablement le type II (planche 31, fig. d, e, f). Celui-ci peut être observé sur une large zone, et en particulier au niveau des interruptions de capsule (l'axone visible sur la planche 30, fig. c, appartient probablement à ce type). Des axones de type II se trouvent souvent à proximité immédiate d'autres prolongements riches en grains élémentaires ; ceux-ci proviennent probablement de cellules infracérébrales C₂ (planche 31, fig. f).

Les autres terminaisons axonales neurosécrétoires observées au niveau du complexe cérébro-vasculaire appartiennent aux types Ia et Ib.

Les axones Ia sont rares ; ils renferment d'assez nombreux grains élémentaires dont le diamètre est souvent voisin de 1400 Å. Ceux-ci semblent se terminer uniquement au-dessus de la capsule cérébrale : aucune terminaison de ce type n'a jusqu'à présent été observée parmi les cellules infracérébrales. Des fibres dont l'infrastructure est très semblable, ont également été observées dans le neuropile où elles semblent faire synapse avec des fibres nerveuses "ordinaires" (planche 33, fig. c).

Les axones Ib, qui occupent une position très postérieure par rapport à l'ensemble du complexe cérébro-vasculaire, semblent se terminer au-dessus de la capsule cérébrale ; ils renferment des grains élémentaires dont le diamètre est souvent voisin de 1300 Å. Ces grains, qui sont souvent très opaques aux électrons, ont un contenu finement granuleux (planche 31, fig. b et c).

Des figures d'exocytose (ou "Ω profiles") peuvent parfois être observées (planche 31, fig. b). Selon DOUGLAS (1973), et NAGASAWA (1977), ces images correspondraient au stade "d'extrusion" d'un granule de neurosécrétion. Ce stade précéderait le stade de "vésiculation" qui consisterait en la formation de petites vésicules à partir de composants membranaires, tel qu'il est possible de l'observer sur la planche 31, fig. c.

2.2. La capsule cérébrale

Comme nous l'avons signalé dans l'historique, la capsule cérébrale est riche en fibres striées transversalement, et dont la périodicité d'environ 550 Å témoigne de leur nature collagène (planche 33, fig. a).

La densité électronique de cette capsule reste faible ou moyenne, sauf au niveau des zones d'interruption, où elle devient forte (planche 30, fig. b, c, d).

L'observation de ces zones d'interruption, en microscopie électronique, permet de mettre en évidence certaines similitudes entre la poche médiane ventrale (planche 30, fig. b, c) et la poche ventrale, située plus postérieurement (planche 30, fig. d).

Sous cette interruption existe une lame capsulaire qui s'interpose entre la zone de passage des fibres et les cellules infracérébrales ; cette lame devient discontinue puis disparaît sur les coupes adjacentes. Les fibres "passant" par cette interruption ont donc un trajet légèrement oblique car elles doivent s'insinuer entre ces deux lames conjonctives.

Dans ces poches médianes, qui sont des zones de contact privilégiées entre le cerveau et l'épithélium infracérébral, on enregistre la présence de très nombreux prolongements de cellules C_2 (planche 30, fig. b, c, d), ainsi que de quelques terminaisons axonales, dont l'origine n'a pas encore pu être déterminée avec exactitude ; l'infrastructure de ces axones possède cependant une certaine ressemblance avec les terminaisons de type II (planche 30, fig. c).

2.3. Les cellules infracérébrales

L'épithélium infracérébral, qui est composé essentiellement de deux types de cellules (C_1 et C_2), subit une augmentation de volume importante à l'approche de la maturité sexuelle ; celle-ci est due essentiellement au développement des cellules C_1 . Cette évolution explique l'aspect épithélial très net observé chez des vers d'âge moyen de diamètre ovocytaire $140\ \mu$ (planche 28, fig. b). Cet aspect est moins marqué chez le ver jeune (planche 28, fig. a).

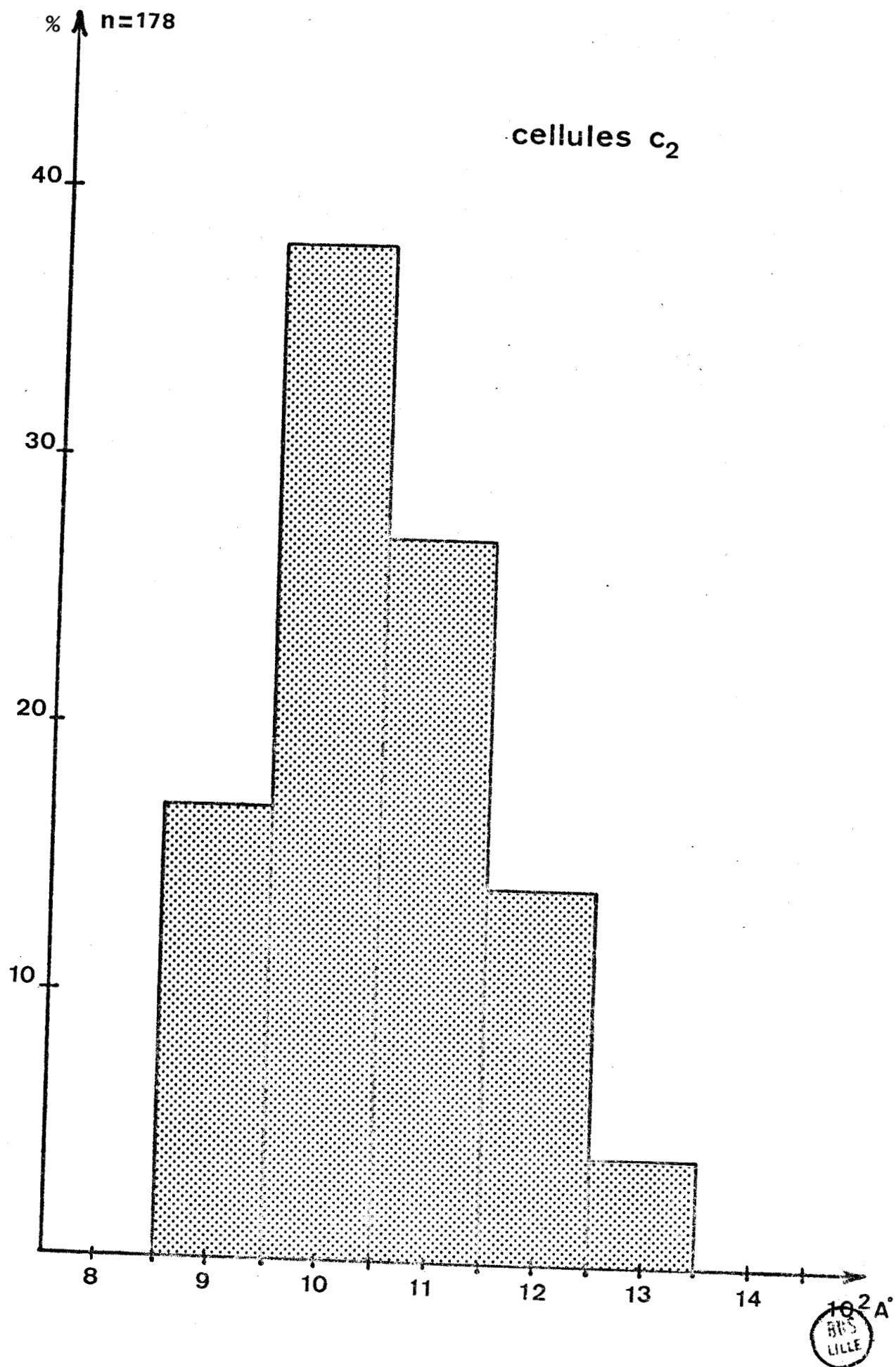
Les cellules C_1 sont nombreuses, de forme allongée, et entourent les cellules C_2 ; elles présentent un noyau échancré et un cytoplasme moyennement dense aux électrons, très riche en mitochondries et pauvre en grains de sécrétion (planche 29, fig. d). De nombreux desmosomes présents entre les cellules C_1 ont également été observés ; ceux-ci sont beaucoup plus nombreux dans la région apicale de ces cellules : zone où les interdigitations de membrane plasmique sont particulièrement profondes (planche 29, fig. c).

Les cellules C_2 ont une taille plus grande que les cellules C_1 , elles occupent souvent une position latérale au sein du complexe cérébro-vasculaire. Celles-ci se caractérisent essentiellement par un cytoplasme peu dense aux électrons et par leur richesse en granules denses, ressemblant à des granules de neurosécrétion, et dont la taille varie de 900 à $1300\ \text{\AA}$: moyenne $1050 \pm 15\ \text{\AA}$ (planche 29, fig. a, b ; Fig. 26). On observe peu de changements au sein des cellules C_2 au cours du vieillissement du ver (diamètre ovocytaire variant de 30 à $220\ \mu$) ; la différence la plus marquante semble être l'importante augmentation du nombre des gros grains denses intracytoplasmiques (planche 29, fig. b).

Les prolongements des cellules C_2 , qui occupent souvent une position médiane (dans l'importante invagination de la capsule), se dirigent vers l'avant (planche 32, fig. c). Le nombre de ces prolongements est très important au niveau de la poche médiane ventrale : zone de contact privilégiée entre le cerveau et la région infracérébrale.

FIGURE 26

Histogramme : répartition du diamètre moyen des granules à l'intérieur des cellules infracérébrales C₂.



Des sections de "fibres" dont l'aspect et la taille des grains élémentaires sont identiques à ceux des cellules C₂, ont été retrouvées au-dessus de la capsule cérébrale, et, dans certains cas à proximité immédiate des terminaisons axonales de type II (planche 31, fig. f, g ; planche 32, fig. a, b). En une occasion il a même été possible d'observer une zone de contact étroit (synaptoïde ?) entre un prolongement présumé de cellule C₂ et une autre fibre présente au sein du cerveau, juste au-dessus de la poche médiane ventrale (planche 33, fig. d).

3. Etude expérimentale

Par analogie aux expériences effectuées antérieurement pour dissocier les cellules folliculaires des ovocytes de certaines espèces d'Amphibiens (SCHORDERET-SLATKINE et DRURY, 1973 ; GUERRIER, MOREAU et DOREE, 1977) et dans le but de séparer les cellules infracérébrales du cerveau, nous avons fait agir certaines enzymes protéolytiques (trypsine, pronase, collagénase).

Les actions ménagées à l'aide de trypsine et de pronase, en présence ou non d'EDTA, se sont révélées insuffisantes pour séparer les cellules infracérébrales du cerveau.

La collagénase a donné des résultats négatifs à 20°C et à 27°C. Des décollements ont par contre été observés dans le cas d'une expérience sur deux, après 30 mn d'incubation à 37°C, sous agitation modérée (planche 27, fig. f et g). Des temps d'incubation plus longs (1h, 2h, 4h) conduisent généralement à une importante destruction du cerveau.

C - DISCUSSION

Des variations morphologiques peuvent être enregistrées au niveau du complexe cérébro-vasculaire de *N. diversicolor* au cours de la maturation sexuelle. Celles-ci sont dues principalement à la croissance du cerveau et à l'importante augmentation de volume de l'épithélium infracérébral (cf. données morphométriques : AL-SHAROOK *et al.*, 1975). Les différents "éléments" constituant cet organe neurohémal ont été retrouvés en microscopie photonique ; une description fine de chacune de ces zones a également pu être effectuée grâce aux techniques de la microscopie électronique.

Le cône intracérébral. De nombreuses catégories de fibres qui aboutissent pour la plupart au-dessus de la capsule cérébrale ont été observées. Les plus fréquemment rencontrées sont les fibres gliales et les terminaisons axonales riches en mitochondries. Des terminaisons axonales neurosécrétoires ont également été décrites ; d'après la taille et l'aspect des grains élémentaires qu'elles contiennent : celles-ci proviendraient des neurones Ia, Ib et II, qui ont leur péricaryon dans le noyau 20. Des figures d'exocytose ayant

été observées, il est probable que c'est à ce niveau que s'effectue la libération des substances sécrétées par ces cellules. Le nombre et la répartition de ces types de fibres observés en microscopie électronique, permet également de rendre compte de la composition globale des différents faisceaux (FI₁ à FI₅) observés et décrits après application de la technique d'imprégnation argentique (HOLMES, 1947). Ceux-ci correspondent à des zones encore plus riches en fibres névrogliques auxquelles viennent surtout s'ajouter de nombreuses terminaisons axonales riches en mitochondries. Les terminaisons axonales neurosécrétoires, par contre, ont le plus souvent une localisation différente ; bien que certaines d'entre-elles aient pu être observées au sein des "zones fibreuses" du cône intracérébral, leur nombre insuffisant ne permet pas d'expliquer les caractères cytologiques présentés par celui-ci en microscopie photonique.

Les cellules infracérébrales. L'étude de la région infracérébrale nous a permis de confirmer l'existence de deux types de cellules infracérébrales (C₁ et C₂). Les cellules C₁ sont très nombreuses et entourent souvent les cellules C₂. L'augmentation de taille des cellules C₁ est à l'origine de l'importance prise par l'épithélium infracérébral chez les vers âgés.

Origine. L'origine embryologique de ces cellules infracérébrales est très discutée. DHAINAUT-COURTOIS (1966b) et BASKIN (1974) pensent à une origine mésodermique des cellules infracérébrales. Il n'y a en effet aucun doute au sujet des cellules C₁ qui sont "responsables" de la configuration épithéliale de cette glande. En ce qui concerne les cellules C₂, la question reste posée : de nombreuses observations, énumérées ci-après, laissent penser que celles-ci pourraient avoir une origine différente.

- Le petit nombre de ces cellules, par rapport à celui des cellules C₁.
- L'absence de desmosomes entre cellules C₁ et C₂.
- L'absence d'incorporation, par les cellules C₂, de dopamine et de sérotonine tritiées (cf. chapitre IV), contrairement aux cellules C₁ et aux autres cellules péricapsulaires.
- La présence de longs prolongements dont certains semblent pénétrer dans le cerveau, au niveau des zones d'interruption de capsule (cellules C₂).
- L'observation à proximité immédiate de la capsule de petites vésicules claires (ressemblant à des vésicules synaptiques) à l'extrémité des prolongements présumés des cellules C₂ (planche 31, fig. f), ainsi que l'observation par BASKIN (1974) de "contacts synaptoïdes" entre cellules "b" (ancienne terminologie, selon GOLDING *et al.*, 1968) et la capsule cérébrale de *N. limnicola*.
- La présence de microtubules dans le cytoplasme et dans les prolongements de cellules C₂ (BASKIN, 1974 ; et observations personnelles).

Nous pensons d'après toutes ces observations, que ces cellules présentent certains caractères de cellules nerveuses : celles-ci pourraient donc avoir une origine ectodermique. Il est possible que ces cellules aient migré très tôt, pour s'insinuer entre les cellules de l'épithélium péricapsulaire.

Rôle. Le rôle des cellules infracérébrales reste également obscur. La disposition épithéliale des cellules C₁ et leur position plaide en faveur d'un rôle de barrière entre la base du cerveau et le fluide coelomique. Les cellules C₂, qui se caractérisent surtout par la présence au sein de leur cytoplasme de très nombreux grains élémentaires, ressemblent à des cellules sécrétant un matériel au moins partiellement peptidique ou protéique. Le matériel susceptible d'être sécrété par ces cellules est probablement libéré à l'extrémité des prolongements cellulaires au niveau de la capsule ("contacts synaptoides"). Le non observation de phénomènes d'exocytose au niveau de leur corps cellulaire plaide également en faveur de cette hypothèse. La nature de la substance présente au sein des cellules C₂ ainsi que le rôle éventuel de ces cellules dans les phénomènes endocrines restent dans le domaine spéculatif. Il semble cependant d'après DHAINAUT-COURTOIS (1970), AL SHAROOK *et al.* (1975), GOLDING et WHITTLE (1977 : revue) que les cellules C₂ soient très actives chez le ver jeune ; une diminution du nombre de ces cellules a également été observé chez le ver d'âge moyen et chez le ver âgé : stade où l'activité endocrine du cerveau est peu importante.

Dans le but d'une meilleure connaissance du rôle des cellules infracérébrales, nous avons tenté une étude enzymatique préliminaire.

Etude expérimentale. Le décollement de l'épithélium infracérébral après réaction de la collagénase à 37°C, permet d'envisager la possibilité de tester l'activité endocrine des cerveaux ainsi traités, ensuite cultivés *in vitro*. Nous ne connaissons cependant pas l'importance des dommages subis par les ganglions cérébraux après un tel traitement qui semble assez brutal. Nous nous proposons donc également d'enlever les cellules infracérébrales par une autre méthode. Nous envisagerons l'action de l'EDTA à des concentrations beaucoup plus fortes que celles utilisées précédemment (1 à 5 mg/ml) et pour une durée également plus longue (une demi-heure à quelques heures). Le milieu utilisé sera de l'eau de mer ou de l'eau de mer artificielle (LYMAN et FLEMING, 1940), dépourvue de chlorure de calcium et de chlorure de magnésium. L'EDTA seul qui a également été utilisé pour séparer les cellules folliculaires de certains ovocytes d'Amphibiens (MOREAU et GOUNON, 1977), présente l'avantage d'être applicable à température ambiante, contrairement à la méthode enzymatique.

IV - ETUDE DES AMINES BIOGENES

A - HISTORIQUE

La présence d'amines biogènes chez les Annélides est connue depuis longtemps puisque c'est en 1903 que POLL et SOMMER ont décrit chez la sangsue des cellules ganglionnaires qu'ils qualifiaient alors de "pléochromes" et assimilaient à celles de la médullo-surrénale des Mammifères.

Des progrès importants ont été réalisés grâce à la mise au point d'une technique d'histofluorescence signalétique des amines biogènes (FALCK *et al.*, 1962). De nombreux travaux ont été effectuée depuis chez divers représentants des trois classes de l'embranchement des Annélides.

Les plus nombreux concernent les Hirudinées et les Oligochètes. Nous citerons principalement les travaux de : MYHRBERG (1965), KERKUT *et al.* (1967), EHINGER *et al.* (1968), BIANCHI (1969), MARSDEN *et al.* (1969) et de COGGESHALL (1972), effectués chez les Hirudinées ; les études de RUDE (1966), MYHRBERG (1971), chez les Oligochètes (cf. biblio *in* DHAINAUT-COURTOIS et NICAISE, 1974 ; et *in* MANARANCHE, 1975).

En ce qui concerne les Polychètes, les travaux sont beaucoup plus rares ; nous ne pouvons citer que ceux de M.E. CLARK (1966) (*Nephtyidae*), WAREMBOURG et DHAINAUT-COURTOIS (1969), DHAINAUT-COURTOIS (1970, 1972) (*Nereidae*), et MANARANCHE et L'HERMITE (1973) (*Glyceridae*).

Les résultats obtenus par cette méthode, sur le ganglion cérébral de *Nereis diversicolor* sont relativement homogènes : les péricaryons fluorescents sont en effet le plus souvent localisés dans les mêmes noyaux ganglionnaires. Le plus grand nombre d'entre-eux est observé au sein du noyau 14 ; d'autres noyaux ganglionnaires possèdent également quelques cellules fluorescentes (Noyaux 4, 7, 8, 9, 10) (DHAINAUT-COURTOIS, 1970, 1972). L'utilisation de cette technique (FALCK *et al.*) rend cependant très difficile la localisation des corps cellulaires au sein des divers noyaux ganglionnaires. La difficulté est encore accentuée par la "couleur" incertaine prise par certains péricaryons, pour notre matériel : la plupart d'entre-eux présente une fluorescence jaune-vert, d'autres cellules prennent une "couleur" vert-jaune, ce qui ne permet pas de savoir avec certitude si celles-ci renferment des indolamines ou des catécholamines ; il est également possible que ces cellules renferment simultanément ces deux types de substances.

Des études autoradiographiques effectuées avec de la 5-hydroxytryptamine (5-HT) et de l'acide gamma-amino-butyrique tritiés (substance découverte chez la *Nereis* par voie biochimique par DHAINAUT-COURTOIS, CARIDROIT et BISERTE, 1969) ont permis de retrouver un important marquage au sein de cer-

taines cellules du ganglion cérébral de la *Nereis* (DHAINAUT-COURTOIS, DHAINAUT et DUPONCHELLE, 1972 ; DHAINAUT-COURTOIS et DHAINAUT, 1976).

Des études récentes menées à l'aide de 5-hydroxytryptamine et de dopamine tritiées ont permis de préciser la localisation des zones marquées au sein du système nerveux central de la *Nereis* et de mettre en évidence un marquage très spécifique de certains péricaryons présents au sein du ganglion cérébral (DHAINAUT-COURTOIS, ENGELHARDT et DHAINAUT, 1978a, 1978b, 1978c). Les résultats sont décrits ci-après.

B - OBSERVATIONS

a - Matériel et méthodes

Nous avons incubé notre matériel dans un milieu contenant de la 5-HT-³H ou de la DA-³H. En contrôle, nous avons parfois précédé l'incubation à la 5-HT-³H par un traitement à la dopamine froide. Des coupes semi-fines de 2,5 à 3 μ d'épaisseur sont ensuite traitées pour l'autoradiographie selon le protocole expérimental décrit page 4 et observées à l'aide d'un microscope Leitz Ortholux.

b - Résultats

L'étude du ganglion cérébral de *Nereis diversicolor*, après incubation d'amines biogènes tritiées (5-HT ou DA) révèle un marquage important au sein de nombreux péricaryons, de certains nerfs, ainsi que dans la région antérieure du neuropile.

Une importante accumulation de grains d'argent est visible dans certains neurones du noyau ganglionnaire ventral 14, ainsi que dans d'autres noyaux dont le 4 et le 8 (planche 34, fig. a, c). Cette capture de 5-HT et de DA tritiées ne se limite pas aux corps cellulaires, elle est également très forte au niveau des axones, dont le trajet peut fréquemment être suivi sur une certaine distance à partir du corps cellulaire (planche 34, fig. c). Nous n'avons par contre retrouvé aucune réaction au sein des neurones situés dans la région caudale du cerveau (Noyaux 18, 19 et 20).

Le marquage au niveau de certains nerfs est très important. L'incorporation de 5-HT-³H est particulièrement forte dans les fibres axonales des racines antéro-ventrales et postéro-latérales du collier périoesophagien (planche 34, fig. b). L'incorporation de DA-³H s'effectue également au niveau de ces deux racines du collier périoesophagien ; on remarque par ailleurs un marquage important au sein des nerfs palpaire (planche 34, fig. d).

Une accumulation de grains d'argent peut également être observée dans le neuropile : peu marquée dans la région dorsale, celle-ci est par contre beaucoup plus importante dans la région antéro-ventrale. Ceci s'explique

par la grande richesse en fibres axonales de cette région du cerveau au sein de laquelle prennent naissance de nombreux nerfs.

D'autres sites "extra-cérébraux" sont également fortement marqués par la 5-HT-³H et la DA-³H. A l'exception d'une zone particulière localisée à la base des palpes, où des fibres nerveuses capturent la dopamine, beaucoup de nerfs épidermiques (planche 34, fig. a, b) ainsi que de nombreux neurones de la chaîne nerveuse ventrale (non représenté sur les planches) sont fortement marqués par la 5-HT-³H. On retrouve également un certain nombre de fibres marquées dans les dissépiments, l'épiderme du corps et les parapodes ; les résultats obtenus sont analogues après prétraitement par de la dopamine froide (non représenté sur les planches). Nous n'avons pas encore étudié de métamères incubés dans de la dopamine tritiée.

Une certaine accumulation de grains d'argent, après traitement par la 5-HT-³H ou la DA-³H, peut également être observée au niveau des cellules infracérébrales C₁ (planche 34, fig. e) ainsi qu'au sein des cellules de l'épithélium péricapsulaire et de la paroi des vaisseaux. Des observations ultrastructurales réalisées par DHAINAUT-COURTOIS (communication personnelle) montrent que ce marquage est très dispersé, et qu'il ne correspond à aucune structure fine particulière.

c - Discussion

Les résultats obtenus par cette méthode autoradiographique sont superposables à ceux obtenus précédemment par la technique de FALCK *et al.* (DHAINAUT-COURTOIS, 1970, 1972 ; DHAINAUT-COURTOIS, ENGELHARDT et DHAINAUT, 1978a, 1978b, 1978c), surtout en ce qui concerne la localisation des corps cellulaires ; ceci confirme que les mêmes cellules renfermant des monoamines endogènes peuvent également capturer des substances tritiées (5-HT, DA) exogènes. De plus, ces cellules du ganglion cérébral de la *Nereis* possèdent probablement, comme certains neurones aminergiques des Vertébrés (SHASKAN, SNYDER, 1970) ou d'Invertébrés (HIRIPI *et al.*, 1974 : cités *in* ELEKES, 1975), un système de capture à "haute affinité" pour des basses concentrations d'amine exogène, et un système de capture à "basse affinité" pour des concentrations d'amine exogène élevées. Ces résultats semblent également confirmer que les cellules neuroglandulaires de la région postérieure du cerveau (Noyaux 18, 19, 20) ne contiennent pas et ne capturent pas de monoamines.

En ce qui concerne la localisation des fibres axonales au sein du neuropile, ou de différents nerfs ou racines nerveuses, d'importantes précisions ont pu être apportées par rapport aux données antérieures (l'interprétation des résultats étant facilitée par rapport à la technique de fluorescence,

par une meilleure fixation des tissus, la finesse des coupes et par l'importante diminution du bruit de fond : matériel autofluorescent dans le cas de la technique de FALCK *et al.* Il semble que, comme chez *Nephtys* (M.E. CLARK, 1966), *Lumbricus terrestris* (RUDE, 1966 ; EHINGER et MYHRBERG, 1971 ; MYHRBERG, 1971) et chez *Hirudo* (MARSDEN et KERKUT, 1969 ; YAKOTA, SAUERLAND et COGGESHALL, 1973) (cf. biblio in DHAINAUT-COURTOIS et DHAINAUT, 1976) la sérotonine et la dopamine ou leurs dérivés aient respectivement des fonctions motrices et sensorielles.

La capture de monoamines tritiées au niveau des cellules infracérébrales C₁ peut correspondre à un phénomène de transport.

L'important marquage de 5-HT-³H au niveau des métamères de la *Nereis* est également un argument en faveur de l'"intervention" possible des amines biogènes dans les processus de régénération. Un tel rôle a été suggéré par CHAPRON et CHAPRON (1972), chez l'Oligochète *Eisenia foetida*, LENICQUE et JACOBSON (1969), LENICQUE (1971, 1974), chez la Planaire *Dugesia tigrina* ; LENICQUE et FERAL (1976), chez l'anémone de mer *Metridium senile*.

V - DOSAGE DE LA BUTYRYLCHOLINESTERASE (E.C. 3.1.1.8)

A - HISTORIQUE

Bien que les effets excitateurs de l'acétylcholine à faible concentration (10 ug/ml) sur certains muscles d'Annélides soient connus depuis longtemps (GASKELL, 1914 ; FÜHNER, 1918 : sur le muscle de la sangsue), peu d'études ont été effectuées jusqu'à ces dernières années sur la médiation cholinergique dans cet embranchement.

Les principaux travaux concernent essentiellement les Hirudinées, et les Oligochètes (cf. biblio in MANARANCHE, 1975) ; ceux beaucoup plus rares réalisés chez les Annélides Polychètes ont cependant pu révéler, chez les espèces étudiées, la présence d'acétylcholine ainsi que l'existence en abondance d'activités cholinestérasiques spécifique et non spécifique. Nous nous proposons ici d'adapter à notre matériel une technique biochimique très sensible de dosage de l'activité cholinestérasique, en vue d'une étude ultérieure sur le système nerveux de la *Nereis*.

B - ETUDE BIOCHIMIQUE

A - Techniques de dosage

1. Dosage de l'activité cholinestérasique

Les homogénats préparés selon le protocole décrit page 5 sont décongelés et utilisés pour le dosage des cholinestérases non spécifiques,

par une meilleure fixation des tissus, la finesse des coupes et par l'importante diminution du bruit de fond : matériel autofluorescent dans le cas de la technique de FALCK *et al.* Il semble que, comme chez *Nephtys* (M.E. CLARK, 1966), *Lumbricus terrestris* (RUDE, 1966 ; EHINGER et MYHRBERG, 1971 ; MYHRBERG, 1971) et chez *Hirudo* (MARSDEN et KERKUT, 1969 ; YAKOTA, SAUERLAND et COGGESHALL, 1973) (cf. biblio *in* DHAINAUT-COURTOIS et DHAINAUT, 1976) la sérotonine et la dopamine ou leurs dérivés aient respectivement des fonctions motrices et sensorielles.

La capture de monoamines tritiées au niveau des cellules infracérébrales C₁ peut correspondre à un phénomène de transport.

L'important marquage de 5-HT-³H au niveau des métamères de la *Nereis* est également un argument en faveur de l'"intervention" possible des amines biogènes dans les processus de régénération. Un tel rôle a été suggéré par CHAPRON et CHAPRON (1972), chez l'Oligochète *Eisenia foetida*, LENICQUE et JACOBSON (1969), LENICQUE (1971, 1974), chez la Planaire *Dugesia tigrina* ; LENICQUE et FERAL (1976), chez l'anémone de mer *Metridium senile*.

V - DOSAGE DE LA BUTYRYLCHOLINESTERASE (E.C. 3.1.1.8)

A - HISTORIQUE

Bien que les effets excitateurs de l'acétylcholine à faible concentration (10 ug/ml) sur certains muscles d'Annélides soient connus depuis longtemps (GASKELL, 1914 ; FÜHNER, 1918 : sur le muscle de la sangsue), peu d'études ont été effectuées jusqu'à ces dernières années sur la médiation cholinergique dans cet embranchement.

Les principaux travaux concernent essentiellement les Hirudinées, et les Oligochètes (cf. biblio *in* MANARANCHE, 1975) ; ceux beaucoup plus rares réalisés chez les Annélides Polychètes ont cependant pu révéler, chez les espèces étudiées, la présence d'acétylcholine ainsi que l'existence en abondance d'activités cholinestérasiques spécifique et non spécifique. Nous nous proposons ici d'adapter à notre matériel une technique biochimique très sensible de dosage de l'activité cholinestérasique, en vue d'une étude ultérieure sur le système nerveux de la *Nereis*.

B - ETUDE BIOCHIMIQUE

A - Techniques de dosage

1. Dosage de l'activité cholinestérasique

Les homogénats préparés selon le protocole décrit page 5 sont décongelés et utilisés pour le dosage des cholinestérases non spécifiques,

selon la méthode "Cholinesterase C system" (BOEINGER MANNHEIM, Réf. 15879 et 15666) qui dérive des travaux de KNEDEL et BOTTGER (1967). La cholinestérase catalyse l'hydroxyse de la butyrylthiocholine en butyrate et en thiocholine. L'activité enzymatique est mesurée par la vitesse de formation de la thiocholine ; celle-ci réduit l'acide 5,5' dithiobisnitrobenzoïque en 2 nitro- 5 mercaptobenzoate dont l'intensité de coloration est mesurée à 405 nm.

Les déterminations ont été faites à l'aide du système automatique d'analyse GEMSEAC (Laboratoire Central des Hôpitaux de Tourcoing) à des temps de 0, 15, 30, 45, 60, 75, 90 et 105 secondes. Nous avons également travaillé à des pH et à des températures différents. Les analyses ont été effectuées à pH 7, 7,2, 7,4, 7,6 et 7,8 à des températures de 25°C, 30°C et 37°C dans du tampon phosphate (KH_2PO_4 : 0,13 M ; Na_2HPO_4 : 0,15 M).

Nous avons utilisé comme référence le sérum de contrôle précilip (BOEINGER MANNHEIM) dont le taux usuel est de 3000 à 9000 U/l à 25°C. Les mêmes expériences ont été renouvelées 3 ou 4 fois.

2. Dosage des protéines

La concentration protéique des surnageants a été déterminée par la méthode de LOWRY *et al.* (1951), en utilisant comme standard le sérum albumine de boeuf (150 g/ml) ; nous avons enregistré pour notre matériel 1,08 mg de protéines par ml d'homogénat.

b - Expression des résultats

L'activité cholinestérasique a été exprimée en milli-unités internationales par mg de protéines (mU/mgP) : une unité internationale étant l'activité enzymatique qui transforme une μmole de substrat en une minute.

L'activité cholinestérasique mise en évidence au sein du corps de la *Nereis* a une valeur moyenne globale de 93,68 m U/mg de protéines. Celle-ci peut cependant présenter des variations en fonction du pH et de la température (cf. tableau VIII ; Fig. 27).

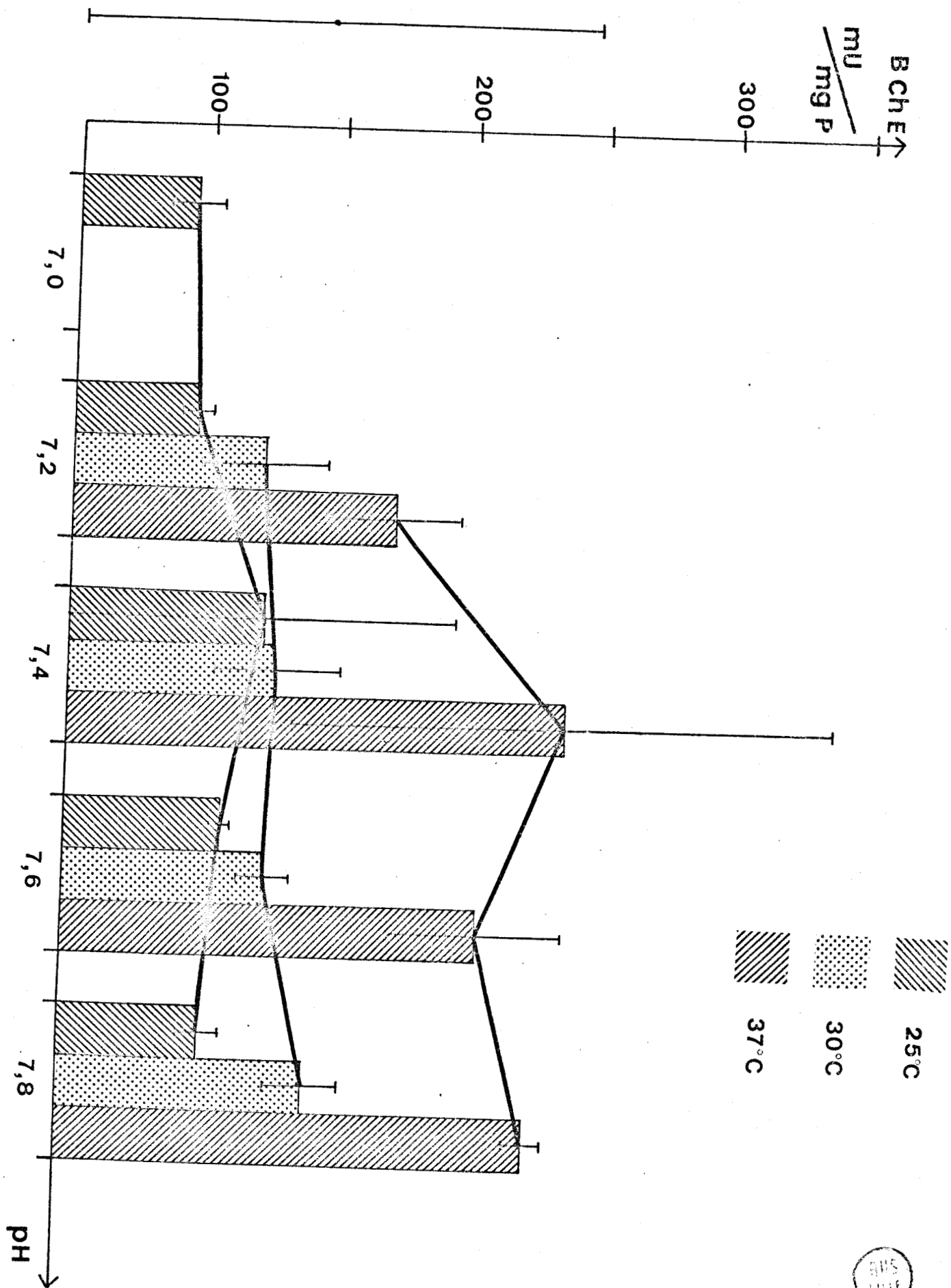
Tableau VIII - Activité cholinestérasique (mU/mg protéines) : substrat butyrylthiocholine

Température	pH 7,0	pH 7,2	pH 7,4	pH 7,6	pH 7,8
25°C	n = 4 $\bar{x}$ = 44 $\pm$ 10,1	n = 4 $\bar{x}$ = 45,75 $\pm$ 6,2	n = 3 $\bar{x}$ = 73 $\pm$ 72,8	n = 4 $\bar{x}$ = 58 $\pm$ 3,7	n = 4 $\bar{x}$ = 51,5 $\pm$ 7,6
30°C		n = 4 $\bar{x}$ = 72 $\pm$ 24	n = 4 $\bar{x}$ = 78 $\pm$ 25,1	n = 4 $\bar{x}$ = 75 $\pm$ 9,8	n = 3 $\bar{x}$ = 92,75 $\pm$ 13,5
37°C		n = 4 $\bar{x}$ = 124,5 $\pm$ 24,9	n = 4 $\bar{x}$ = 187,25 $\pm$ 102,2	n = 4 $\bar{x}$ = 155,75 $\pm$ 32,8	n = 3 $\bar{x}$ = 175,6 $\pm$ 7

FIGURE 27

Dosage de l'activité cholinestérasique (E.C.3.1.1.8.), substrat butyrylthiocholine. Métamères de *N. diversicolor*

815
LILLE



L'activité enzymatique varie peu entre pH 7,0 et 7,8 : les courbes isothermes sont assez régulières. La légère augmentation enregistrée entre pH 7,0 et 7,4 n'est pas significative en raison de l'incertitude statistique assez importante subsistant sur ces valeurs.

Les variations de l'activité cholinestérasique enregistrées en fonction de la température sont par contre beaucoup plus importantes. Celle-ci est environ trois fois plus forte à 37°C qu'à 25°C et deux fois plus forte à 37°C qu'à 30°C.

c - Discussion

Les données enregistrées après dosage biochimique de l'activité butyrylcholinestérasique présente au sein des métamères de la *Nereis*, confirment les résultats histologiques obtenus par DHAINAUT-COURTOIS (1977). L'existence d'activités cholinestérasiques chez cette famille d'Annélides paraît donc, à l'heure actuelle, bien établie.

Cette méthode de dosage, applicable également pour la détermination des activités cholinestérasiques totales (substrat acétylthiocholine) est très précise : elle permet notamment d'obtenir des résultats significatifs avec des quantités très faibles de matériel, ceci permet d'envisager des études ultérieures sur différentes parties du système nerveux (tissu où l'activité cholinestérasique est la plus forte : DHAINAUT-COURTOIS, 1977), ainsi que chez des vers de sexe ou d'âges différents.

De nombreuses questions restent cependant posées : en particulier du point de vue "quantitatif". Nos résultats sont exprimés en milli-unités par milligramme de protéines solubles (dosage selon LOWRY *et al.*, 1951), ce qui ne permet pas la comparaison avec les valeurs enregistrées antérieurement chez une autre espèce d'Annélide Polychète : *Glycera convoluta* (MANARANCHE, 1975 : dosage de l'AChE selon la technique d'ELLMAN *et al.*, 1961, exprimée en millimoles par heure et par gramme de poids frais).

Les données obtenues nous permettent par contre d'établir un ordre de grandeur susceptible d'être composé avec les résultats des dosages effectués chez des matériels très différents du nôtre (tissus de Vertébrés par exemple).

Les valeurs mesurées chez *N. diversicolor* se rapprochent de celles enregistrées par VARELA et MANDEL (1973) sur des homogénats de cœur de rats. Elles sont par contre inférieures à celles obtenues par le même auteur sur des homogénats d'intestin de souris, ainsi qu'aux données exprimées par DEI-CAS (1978) chez *S. mansoni* (activité moyenne à 25°C chez un homogénat mixte : 1250 à 2540 mU/mgP). La signification physiologique de ces activités BChE reste cependant encore hypothétique.

DISCUSSION ET CONCLUSION GÉNÉRALES

Au terme de ce travail réalisé essentiellement chez *Nereis diversicolor*, un certain nombre de constatations ont pu être faites.

L'étude en microscopie photonique par des techniques d'imprégnation argentique sur coupes sériées nous a permis de retrouver l'architecture générale du ganglion cérébral (centre fibreux, anneau de corps cellulaires périphériques entouré par de la névroglie) et de bien clarifier la cartographie des noyaux ganglionnaires, des tractus nerveux, ainsi que des différentes commissures. L'importance relative de ces différents "éléments" peut varier selon les espèces étudiées. Le cerveau de *Nereis diversicolor* semble plus différencié que celui de *N. succinea*, de *L. glauca* ou même de *N. pelagica*.

Nous nous sommes par ailleurs particulièrement attachés à la localisation des fibres du "cône intracérébral" qui est une des composantes essentielles de complexe cérébro-vasculaire.

L'étude cytologique et cytochimique entreprise sur une partie du système nerveux central de *Nereis diversicolor* d'âges variés, nous a permis de différencier au sein du ganglion sus-oesophagien six types cellulaires différents (terminologie selon DHAINAUT-COURTOIS, 1966c, 1967, maintenant utilisée par GOLDING et WHITTLE, 1977). D'autres travaux nous montrent que cette classification est applicable à des nombreuses espèces de *Nereidae* ; malgré des différences parfois importantes enregistrées entre certaines d'entre-elles (le ganglion cérébral de *N. diversicolor* par exemple, est plus riche en cellules fuchsinophiles que *N. succinea*, *N. pelagica* ou même *P. cultrifera*). Ces variations ainsi que la grande diversité des techniques d'étude (fixations, colorations) expliquent, en grande partie, le manque d'harmonisation et la faible corrélation des résultats ; ceci s'est traduit essentiellement par la multiplication des classifications.

L'utilisation des techniques de microscopie électronique n'a fait qu'accentuer cet état de fait ; c'est dans un but de clarification et de meilleure compréhension que nous avons mis au point une technique de coloration pour coupes semi-fines reprenant exactement les mêmes colorants que ceux utilisés pour établir une classification maintenant admise par de nombreux auteurs.

Certains neurones situés dans la région postérieure du cerveau (I, II, III) possèdent des caractères marqués de cellules neuroglandulaires.

Les cellules I (sauf Ic) et II sont localisées uniquement au sein du noyau ganglionnaire 20. Des terminaisons possédant des granules analogues à ceux retrouvés dans ces corps cellulaires ont été observés au niveau du complexe cérébro-vasculaire qui est un organe neuro-hémal : la capsule cérébrale

qui est en contact avec la paroi du vaisseau servant au transit ou au stockage des substances sécrétées (TOMBES, 1977). En accord avec la terminologie de KNOWLES et BERN (1966) ces cellules peuvent être qualifiées de neurosécrétrices *sensu stricto*.

Les prolongements des cellules III, par contre, dont le corps cellulaire est localisé au sein du *nucleus* 18, ne semblent pas dans l'état actuel de nos connaissances se terminer au contact de la capsule dans la région postéro-ventrale du cerveau, au niveau du complexe cérébro-vasculaire. Il est possible que ces cellules puissent libérer leurs produits de sécrétion au niveau de cibles "non endocrines" : par exemple, certaines cellules épidermiques ou même d'autres neurones. Dans ce cas celles-ci pourraient être qualifiées également de neurosécrétrices, mais selon le concept élargi de SCHARRER (1975), SCHARRER et WEITZMAN (1970) (cf. BERLIND, 1977 : revue).

Le problème des cellules neuroglandulaires localisées dans d'autres zones du cerveau reste posé (type Ic) ; leur localisation sera envisagée ultérieurement. Les cellules IV présentes chez *N. diversicolor*, constituent le *nucleus* 19 ; elles ne sont pas de nature neuronale, mais correspondent aux cellules de soutien de certaines cellules neurosensorielles.

Les cellules V (neurones dits "ordinaires") qui sont largement réparties au sein du ganglion sus-oesophagien sont de loin les plus nombreuses. La caractérisation morphologique de celles-ci est rendue très délicate en raison de la grande diversité de leur "population". Les techniques cytochimiques (mise en évidence des glucides) et autoradiographiques (incorporation d'acides aminés ou d'amines biogènes marquées) (cf. bibl. dans chapitres antérieurs) montrent d'une part l'importante activité métabolique existant au sein de nombreux neurones V et confirment, d'autre part, les observations morphologiques quant à leur grande variété au sein du cerveau de la *Nereis* : les réactions positives étant limitées à certains "pools" de neurones bien localisés.

Les cellules VI, contrairement à celles précédemment décrites, sont caryochromes. Elles composent essentiellement les *nuclei* 1, 2, 3 (*corpora pedunculata*), et 16. L'importance des *corpora pedunculata* semble dépendre du degré de différenciation des organes visuels et chimiorécepteurs (HANSTRÖM, 1927, cité in DHAINAUT-COURTOIS, 1968). Nous avons également pu établir le rapprochement entre la morphologie de certaines cellules du noyau 16 avec les prolongements dendritiques ciliés observés au sein du *nucleus* 19. Toutes ces observations permettent de supposer le rôle important joué par certains neurones VI dans les phénomènes sensoriels. Il est possible que ces cellules qui sont présentes en grand nombre puissent intégrer les informations perçues au niveau

des organes sensoriels (*stimuli* externes) et les "transmettre" à d'autres cellules nerveuses en modulant leur activité (des neurites riches en granules de sécrétion ont également été observés au niveau des "Stiele" des *corpora pedunculata* : planche 33, fig. e).

Les études effectuées d'autre part, chez des *Nereis* d'âges divers, n'ont pas permis d'enregistrer de différences significatives : l'affinité tinctoriale des cellules neuroglandulaires ainsi que l'activité métabolique de certains neurones dits "ordinaires" (MÜLLER, 1973) restant fortes chez les vers submatures. Ceci pose le problème de la localisation des cellules responsables de l'activité endocrine cérébrale, notamment en ce qui concerne l'inhibition de la maturation génitale et l'action positive sur les phénomènes de régénération. Etant donnée l'extrême intrication des diverses catégories cellulaires, et leur petite taille, aucune manipulation expérimentale n'est encore possible avec les techniques dont nous disposons, au niveau des cellules neurosécrétrices de la région postérieure du cerveau ; seules des méthodes immunocytochimiques semblent susceptibles d'apporter des résultats décisifs : la purification et l'isolation du facteur inhibiteur de la maturation sexuelle s'effectue actuellement dans notre laboratoire.

Nous nous sommes également attachés au problème de la médiation monoaminergique : grâce à des coupes semi-fines sériées, traitées pour l'autoradiographie, nous avons pu confirmer l'existence et discuter du rôle éventuel d'un tel système au sein du système nerveux central de la *Nereis* (cf. chapitre IV). Des études ultrastructurales sont actuellement en cours, dans le but de préciser ces résultats préliminaires.

Le rôle des cellules infracérébrales reste obscur. Les cellules C₁ prennent une disposition épithéliale chez les vers d'âge moyen, juste avant la période de fléchissement net de l'activité endocrine cérébrale, et avant que les ovocytes n'exercent une influence inhibitrice sur celle-ci (feed back : travaux de PORCHET, 1974). Ces cellules C₁, qui atteignent leur volume maximal chez les vers submatures, possèdent probablement une importante activité métabolique (nombreux organites cellulaires). Celles-ci incorporent les amines biogènes de manière probablement non spécifique, comme d'autres cellules coelomiques.

La position de ces cellules plaide en faveur d'un rôle de barrière entre, d'une part, la base du cerveau ou les cellules C₂, et, d'autre part, le fluide coelomique. Il est également possible que les cellules C₁ participent étroitement à la régulation du métabolisme des cellules C₂ (présence d'invaginations fongiformes ou en "doigt de gant" des cellules C₂, occupées par des éléments cellulaires C₁ : ENGELHARDT, 1976). Des associations similaires sem-

blent également exister au sein du tissu nerveux de certains Invertébrés, entre cellules névrogliques et cellules nerveuses (CHALAZONITIS et CHAGNEUX, 1970 ; JOURDAN, 1972).

Les cellules C₂, dont la nature neuronale n'est pas établie avec certitude, ont un cytoplasme riche en grains élémentaires qui témoigne d'une certaine activité sécrétrice. Importante chez le ver jeune, celle-ci semble se ralentir à l'approche de la maturité sexuelle. Ces cellules possèdent également des prolongements qui aboutissent probablement de part et d'autre de la capsule cérébrale, à proximité immédiate des zones de contact privilégiées entre la région infracérébrale et le cerveau : les poches ventrales, au niveau desquelles pourrait d'effectuer la libération des produits de sécrétion.

La nature et le déterminisme de cette sécrétion ne sont pas connus. Celle-ci est probablement (en partie) peptidique ou protéique. Nous ignorons également dans quelle mesure l'activité de ces cellules C₂ est subordonnée au contrôle cérébral.

En définitive, les conclusions que nous pouvons tirer de cette étude se placent à deux niveaux :

d'une part, en ce qui concerne *Nereis diversicolor*, nous avons précisé l'architecture fine du ganglion sus-oesophagien et établi une description précise des différentes catégories cellulaires rencontrées, ainsi que des nombreux types de fibres aboutissant au niveau du complexe cérébro-vasculaire. Une telle étude menée simultanément grâce aux techniques des microscopies photonique et électronique n'avait pas encore été entreprise chez cette espèce. L'importante capture de monoamines tritiées enregistrée au sein de certains péricaryons du système nerveux central et la découverte par voie histochimique (et biochimique) d'activités cholinestérasiques nous permet d'envisager l'hypothèse de l'existence de plusieurs systèmes : indolaminergique, catécholaminergique et cholinergique, dont le contrôle pourrait s'effectuer au niveau des centres nerveux et dans diverses régions du corps de l'animal.

d'autre part, il est probable que les divers résultats enregistrés sont également valables pour d'autres espèces de *Nereidae*, en particulier celles dont le degré d'organisation du ganglion cérébral est très proche de celui présenté par *N. diversicolor*. Nous pensons également que la technique de CLARK adaptée aux coupes semi-fines est applicable à de très nombreux matériels et peut être d'une grande utilité dans le cas où la caractérisation ultrastructurale des tissus ou types cellulaires, observés précédemment en microscopie photonique, s'avère difficile à réaliser.

De nombreux points obscurs subsistent cependant : la signification physiologique de certains éléments décrits ou mis en évidence au cours de ce travail (cellules neurosécrétrices, terminaisons axonales riches en mitochondries, épithélium infracérébral) reste encore incertaine ; seules de nombreuses études expérimentales permettront d'apporter des réponses satisfaisantes à ces problèmes.

RÉSUMÉ

Des travaux antérieurs entrepris sur le système nerveux des *Nereidae* ont pu apporter des preuves décisives quant à l'influence du ganglion sus-oesophagien dans les processus de maturation génitale et de régénération.

Dans le but d'une meilleure compréhension de ces phénomènes en corrélation avec les données morphologiques, nous avons entrepris l'étude du ganglion cérébral de *Nereis diversicolor*. Plusieurs méthodes ont été utilisées. Nous nous sommes d'abord attachés à la description fine de ce ganglion, en utilisant notamment des techniques d'imprégnation argentique ; ceci nous a permis de préciser la situation des tractus nerveux, des commissures ainsi que des différents noyaux ganglionnaires. Nous avons ensuite effectué une étude cytologique ; celle-ci, menée simultanément en microscopies photonique et électronique, a été réalisée grâce à la mise au point d'une technique tétrachrome adaptée aux coupes semi-fines. Six types cellulaires (I-VI) ont ainsi pu être localisés et caractérisés. Deux d'entre-eux, situés dans la région caudale du cerveau (types I et II), correspondent à des cellules neurosécrétrices *sensu stricto* : des terminaisons axonales issues de ces cellules ont en effet été observées dans la région postéro-ventrale du ganglion sus-oesophagien, au niveau d'un organe neuro-hémal : le complexe cérébro-vasculaire. L'infrastructure en a été précisée : celui-ci est constitué d'un "cône intracérébral" riche en fivers nerveux et en fibres névrogliales aboutissant sur la capsule cérébrale ; celle-ci pouvant servir au transit ou au stockage des substances sécrétées. Sous cette capsule se différencie l'épithélium infracérébral dont certaines cellules possèdent des caractères glandulaires marqués (C₂).

D'autre part, par rapprochement avec certains Invertébrés plus élevés dans l'échelle animale que les Annélides, on peut penser que les phénomènes neurohormonaux sont eux-mêmes sous la dépendance de neuromédiateurs de type monoaminergique ou cholinergique. C'est pourquoi nous avons abordé, d'une part, l'étude de la capture d'indolamines ou de catécholamines tritiées (5-HT-³H, DA-³H) par des méthodes d'autoradiographie et, d'autre part, un dosage biochimique de l'activité cholinestérasique. L'examen des coupes montre une importante incorporation au sein de certains péricaryons et de nombreuses fibres axonales. La distribution différente des fibres marquées à la 5-HT-³H et à la DA-³H permet également de supposer que les indolamines et les catécholamines ont respectivement, et au moins partiellement, des fonctions motrices et sensorielles.

Les données enregistrées après dosage biochimique de l'activité butyrylcholinestérasique, confirment les résultats histologiques antérieurs. L'existence d'activités cholinestérasiques chez cette famille d'Annélides paraît donc, à l'heure actuelle, bien établie.

SUMMARY

Previous works done on the nervous system of Nereids gave evidence of the influence of the sus-oesophageal ganglion in the genital maturation and regeneration processes.

In order to better understand these phenomena in correlation with morphological data, we undertook a study of the cerebral ganglion of *Nereis diversicolor*. Various methods were used.

First, a fine description of the nerves, commissures and *nuclei* présent within this ganglion is given, specially by using the technique of silver impregnation.

Then follows an histological and ultrastructural survey of the brain, through a tetrachrome technique adapted for semithin sections. Six cellular types (I-VI) have been distinguished and localized. Two of them, located in the posterior area of the brain are neurosecretory cells *sensu stricto* (types I and II). Their axons end in a well-defined neurohaemal organ : the cerebro-vascular complex. The fine morphology of this organ, situated at the postero-ventral margin of the brain has been specified. Its consists of :

- 1- an "intracerebral cone" extending ventrally from the neuropile and spreading out over the inner surface of the brain capsule. The main components of this cone are nervous endings and glial fibers.
- 2- The brain capsule, which may act for the transit or storage of the secreted material.
- 3- An enlarged pericapsular epithelium : the infracerebral epithelium constituted of two cell types : C₁ and C₂ ; the latter with strong glandular characteristics.

As suggested in invertebrate groups higher than Annelida we can also admit that neurohormonal phenomena in *Nereis* are depending on monoaminergic or cholinergic neurotransmitter substances. On the one hand autoradiographic techniques have been used to define the cellular elements involved in the capture of indolamines (³H-5-HT) or catecholamines (³H-DA). On the other hand, a biochemical assay of cholinesterasic activity has been undertaken.

The slices show labelling in some perikaria, and in numerous axonal fibers after autoradiography. Nevetheless, our observations reveal differences between ³H-5-HT and ³H-DA uptake. It seems possible to postulate that indolamines and catecholamines have also, at least, respectively motor and sensory functions.

The data obtained after a biochemical assay of butyrylcholinesterasic activity confirm the previous histological results. Thus, the existence of cholinesterasic activity in this family of Annelids seems now well established.

BIBLIOGRAPHIE

- AL-SHAROOK Z.M., GOLDING D.W., WHITTLE A.C., 1975 - Morphometric and cytological correlates of endocrine activity in *Nereis* (Annelida ; Polychaeta). Mar. Behav. Physiol., 3, 167-180.
- BASKIN D.G., 1970 - Studies on the infracerebral gland of the polychaete annelid, *Nereis limnicola*, in relation to reproduction, salinity and regeneration. Gen. comp. Endocrinol., 15, 352-360.
- BASKIN D.G., 1971a - A possible neuroendocrine system in polynoid polychaetes. J. Morphol., 133, 93-104.
- BASKIN D.G., 1971b - The fine structure of neuroglia in the central nervous system of nereid polychaetes. Z. Zellforsch., 119, 295-308.
- BASKIN D.G., 1974 - Further observations on the fine structure and development of the infracerebral complex ("infracerebral gland") of *Nereis limnicola* (Annelida, Polychaeta). Cell Tiss. Res., 154, 519-531.
- BASKIN D.G., 1976 - Neurosecretion and the endocrinology of Nereid Polychaetes. Amer. Zool., 16, 107-124.
- BASKIN D.G., GOLDING, 1970 - Experimental studies on the endocrinology and reproductive biology of the viviparous Polychaete Annelid, *Nereis limnicola* Johnson. Biol. Bull., 139, 461-475.
- BERLIND A., 1977 - Cellular dynamics in Invertebrate neurosecretory systems. Int. rev. of Cytol., 49, 171-251.
- BETCHAKU T., 1960 - A copper sulfate silver nitrate method for nerve fibers of planarians. Stain Technol., 35, 215-218.
- BOBIN G., DURCHON M., 1952 - Etude histologique du cerveau de *Perinereis cultrifera* Grube. Mise en évidence d'un complexe cérébro-vasculaire. Arch. Anat. micr. Morph. exp., 41, 25-40.
- BOBIN G., DURCHON M., 1953 - Sur le cerveau d'une Annélide en voie de transformation hétéronéréidienne (*Perinereis cultrifera* Grube) et sur le déroulement d'un phénomène neurosécréteur. Arch. Anat. micr. Morph. exp., 42, 112-126.
- BULLOCK T.H., HORRIDGE G.A., 1965 - Structure and function in the nervous systems of Invertebrates. W.H. Freeman and Company, San Francisco and London
- CATANIA R., 1976 - Mise en évidence des cellules neurosécrétrices acidophiles à l'aide d'un colorant fluorescent, la géranine G, chez *Crepidula fornicata* Phil. (Mollusque Gastéropode Prosobranchie). C. R. Acad. Sci., D, 282, 73-76.

- CHALAZONITIS N., CHAGNEUX M., 1970 - Differences in glial and axonal unit-membranes of *Helix*. Microscopie électronique (Grenoble), III - 25.
- CHAPRON C., CHAPRON J., 1972 - Influence des amines biogènes et de leurs inhibiteurs sur la régénération. Etude chez l'Annélide *Eisenia foetida*. C. R. Acad. Sci., D, 274, 412-414.
- CHOQUET M., 1962 - Effet inhibiteur de l'hormone cérébrale sur l'évolution des cellules sexuelles chez *Nereis pelagica* L. (Annélide Polychète). C. R. Soc. Biol., 156, 1112-1114.
- CLARK M.E., 1966 - Histochemical localization of monoamines in the nervous system of the polychaete *Nephtys*. Proc. Roy. Soc., B, 165, 308-325.
- CLARK R.B., 1955 - The posterior lobes of the brain of *Nephtys* and the mucus glands of the prostomium. Quart. J. Microscop. Sci., 96, 545-565.
- CLARK R.B., 1966 - The integrative action of a worm's brain. Symp. Soc. exp. Biol., 20, 345-379.
- CLARK R.B., BONNEY D.G., 1960 - Influence of the supra-oesophageal ganglion on posterior regeneration in *Nereis diversicolor*. J. Embryol. Exptl Morphol., 8, 112-118.
- CLARK R.B., RUSTON J.G., 1963 - The influence of brain extirpation on oogenesis in the polychaete *Nereis diversicolor*. Gen. comp. Endocrinol., 3, 529-541.
- CLARK R.B., CLARK M.E., AUSTON R.J.G., 1962 - The endocrinology of regeneration in some errant polychaetes. Mem. Soc. Endocrinol., 12, 725-286.
- DEFRETIN R., 1952 - Aspects de la neurosécrétion chez *Nereis irrorata* Malmgren. C. R. Acad. Sci., 235, 100-102.
- DEFRETIN R., 1953 - Cytologie et histochimie de la neurosécrétion chez les Néréidiens. Abstr. XIV Int. Zool. Congr. Copenhagen, 302-303. Danish Science Press, Limited ed., 1956.
- DEFRETIN R., 1955 - Recherches cytologiques et histochimiques sur le système nerveux des Néréidiens. La neurosécrétion des polyosides et ses rapports avec l'épitoquie. Arch. Zool. Exp. et Gén., 92, 73-140.
- DEFRETIN R., 1956 - La neurosécrétion des polyosides et ses rapports avec l'épitoquie chez les Néréidiens. Ann. Sci. Nat. Zool. Biol. anim., (11), 18, 209-222.
- DEFRETIN R., 1959 - Nouvelles neurosécrétions chez les Néréidiens. Congr. Int. Zool. Londres, 489.
- DEI-CAS E., 1978 - Recherches sur le système nerveux et le parenchyme de *Schistosoma mansoni* (Trematoda : Digenea). Thèse de 3ème Cycle, Lille, octobre 1978.

- DHAINAUT A., PORCHET M., 1967 - Evolution ovocytaire en l'absence d'hormone cérébrale chez *Perinereis cultrifera* G. C. R. Acad. Sci., D, 264, 2807-2810.
- DHAINAUT-COURTOIS N., 1964 - Données histologiques sur les phénomènes neurosécrétoires chez les Néréidiens. Extr. Mém. Soc. Sci. Nat. Math. Cherbourg (Congrès de l'A.F.A.S. 1964). Paru 1966, 6° série, 51, 1, 123-128.
- DHAINAUT-COURTOIS N., 1965 - Sur la présence d'un organe photorécepteur dans le cerveau de *Nereis pelagica* L. (Annélide Polychète). C. R. Acad. Sci., 261, 1085-1088.
- DHAINAUT-COURTOIS N., 1966a - Le complexe cérébro-vasculaire de *Nereis pelagica* L. (Annélide Polychète). Données histologiques et ultrastructurales. C. R. Acad. Sci., 262, 2048-2051.
- DHAINAUT-COURTOIS N., 1966b - Le complexe cérébro-vasculaire de *Nereis pelagica* L. Origine des cellules infracérébrales et structure de la paroi du réseau vasculaire. C. R. Soc. Biol., 160, 1232-1237.
- DHAINAUT-COURTOIS N., 1966c - Etude histologique des cellules nerveuses du cerveau de *Nereis pelagica* L. (Annélide Polychète). C. R. Acad. Sci., 263, 1596-1599.
- DHAINAUT-COURTOIS N., 1967 - Etude ultrastructurale des cellules nerveuses du cerveau de *Nereis pelagica* L. (Annélide Polychète). C. R. Acad. Sci., 264, 2566-2569.
- DHAINAUT-COURTOIS N., 1968a - Contribution à l'étude du complexe cérébro-vasculaire des Néréidiens. Cycle évolutif des cellules infracérébrales de *Nereis pelagica* L. (Annélide Polychète) ; étude ultrastructurale. Z. Zellforsch., 85, 466-482.
- DHAINAUT-COURTOIS N., 1968b - Etude histologique et ultrastructurale des cellules nerveuses du ganglion cérébral de *Nereis pelagica* L. (Annélide Polychète). Comparaison entre les types cellulaires I-VI et ceux décrits antérieurement chez les *Nereidae*. Gen. comp. Endocr., 11, 414-443.
- DHAINAUT-COURTOIS N., 1970 - Contribution à l'étude morphologique des processus sécrétoires dans le système nerveux central et au niveau de la glande infracérébrale des *Nereidae* (Annélides Polychètes). Thèse Doctorat Sci. Nat., Lille, 1-191.
- DHAINAUT-COURTOIS N., 1972 - Etude en microscopie électronique et en fluorescence des médiateurs chimiques du système nerveux des *Nereidae* (Annélides Polychètes). Z. Zellforsch., 126, 90-103.

- DHAINAUT-COURTOIS N., 1977 - Localisation en microscopies photonique et électronique de l'activité cholinestérasique chez un Invertébré marin (*Nereis pelagica* L., Annélide Polychète). C. R. Acad. Sci., D, 284, 941-944.
- DHAINAUT-COURTOIS N., CARIDROIT M., BISERTE G., 1969 - Sur la présence de la N, N'-diméthyl-5-hydroxytryptamine (bufoténine) et de l'acide γ -aminobutyrique dans le système nerveux d'une Annélide Polychète. C. R. Soc. Biol., 163, (7), 1563-1657.
- DHAINAUT-COURTOIS N., DHAINAUT A., DUPONCHELLE F., 1972 - Etude, par autoradiographie à haute résolution, de l'incorporation d'acide γ -amino-butyrique tritié dans le système nerveux d'une Annélide Polychète. C. R. Acad. Sci., D, 275, 235-237.
- DHAINAUT-COURTOIS N., DHAINAUT A. - 1976 - Gamma-aminobutyric Acid and 5-hydroxytryptamine in the nervous system of an Annelid Worm (*Nereis diversicolor*). J. Microscopie Biol. Cell., 27, 261-266.
- DHAINAUT-COURTOIS N., ENGELHARDT R.-P., DHAINAUT A., 1978a - Neurosecretion and neurotransmitters in *Nereis diversicolor* O. F. Müller (Annelida Polychaeta). Society for experimental Biology, Newcastle-upon-Tyne, 4-6 avril.
- DHAINAUT-COURTOIS N., ENGELHARDT R.-P., DHAINAUT A., 1978b - Localization of biogenic amines and cholinesterases in the central and peripheral nervous system of *Nereis* (Annelida Polychaeta). Studies at light and electron microscope levels. Eighth International symposium on comparative endocrinology, Amsterdam, 19-23 juin.
- DHAINAUT-COURTOIS N., ENGELHARDT R.-P., DHAINAUT A., 1978c - Données cytophysiologiques sur les neurohormones et les neurotransmetteurs chez un Invertébré marin : *Nereis diversicolor*. Colloque du Cercle Français de Biologie Cellulaire, Paris, 19-21 septembre.
- DHAINAUT-COURTOIS N., NICAISE G., 1974 - Données morphologiques et cytochimiques sur les neuromédiateurs présumés chez les Annélides et les Mollusques. Haliotis, 4, 15-26.
- DHAINAUT-COURTOIS N., WAREMBOURG M., 1969 - Caractéristiques histochimiques des neurones du système nerveux central des *Nereis* (Annélide Polychète). Z. Zellforsch., 97, 260-273.
- DOUGLAS W.W., 1973 - How do neurons secrete peptides ? Exocytosis and its consequences including synaptic vesicle formation, in the hypothalamo-neurohypophyseal system. Prog. Brain. Res., 39, 21-38.

- DURCHON M., 1948 - Epitoquie expérimentale chez deux Polychètes : *Perinereis cultrifera* Grube et *Nereis irrorata* Malmgren. C. R. Acad. Sc., 227, 157-158.
- DURCHON M., 1949 - Inhibition de l'épitoquie par le prostomium chez les Néréidiens (Annélide Polychète). C. R. Acad. Sc., 229, 81-82.
- DURCHON M., 1951 - L'ablation du prostomium provoque chez les Néréidiens la maturation précoce des produits génitaux mâles. C. R. Acad. Sc., 232, 442-443.
- DURCHON M., 1952 - Recherches expérimentales sur deux aspects de la reproduction chez les Annélides Polychètes : l'épitoquie et la stolonisation. Ann. Sc. Nat. Zool. Biol. Anim., 14, 119-206.
- DURCHON M., 1955 - Sur le polymorphisme présenté par quelques Néréidiens (Annélides Polychètes) au moment de la reproduction. Bull. Soc. Hist. nat. Afr. Nord, 46, 180-194.
- DURCHON M., 1956a - Nouvelles recherches expérimentales sur l'épitoquie des Néréidiens. Ann. Sci. nat. Zool. Biol. Anim., 18, 1-13.
- DURCHON M., 1956b - Rôle du cerveau dans la maturation génitale et le déclenchement de l'épitoquie chez les Néréidiens. Ann. Sc. nat. Zool. Biol. anim., 18, 269-273.
- DURCHON M., 1956c - Influence du cerveau sur les processus de régénération caudale chez les Néréidiens (Annélides Polychètes). Arch. Zool. exp. gén., 94, 1-9.
- DURCHON M., 1960a - L'endocrinologie chez les Annélides Polychètes. Bull. Soc. Zool. France, 85, 275-301.
- DURCHON M., 1960b - Homogreffes chez les Néréidiens (Annélides Polychètes). C. R. Soc. Biol., 154, 2082-2084.
- DURCHON M., 1965 - Sur l'évolution phylogénétique et ontogénétique de l'épitoquie chez les Néréidiens (Annélides Polychètes). Zool. Jb Syst., 92, 1-12.
- DURCHON M., 1967 - L'endocrinologie des Vers et des Mollusques. Masson et Cie, ed., Paris, 1-241.
- DURCHON M., DHAINAUT-COURTOIS N., 1964 - Sur la localisation du centre hormonal inhibiteur de la maturation génitale mâle dans le cerveau de *Nereis diversicolor* O.F. Müller (Annélide Polychète). C. R. Soc. Biol., 158, 550-554.
- DURCHON M., FREZAL J., 1955 - Etude comparée d'un phénomène de neurosécrétion observé chez les Néréidiens (Annélides Polychètes). C. R. Acad. Sc., 241, 445-447.

- EHLERS E., 1969 - Die Borstenwürmer, Annelida Polychaeta. 2 vol., Leipzig, Engelmann.
- ELEKES K., 1975 - Autoradiographic localization of monoamine uptake in the central nervous system of a marine mollusc (*Macra stultorum* L., pelecypoda). *Neuroscience*, 3, 49-58.
- ENGELHARDT R.-P., 1976 - Etude du complexe cérébro-vasculaire des Néréidiens (Annélides Polychètes). Mise au point bibliographique et étude morphologique chez *N. diversicolor* O.F. Müller. D. E. A., Lille..
- FALCK B., HILLARP N.-Å., THIEME G., TORP A., 1962 - Fluorescence of catecholamines and related compounds condensed with formaldehyde. *J. Histochem. Cytochem.*, 10, 348-354.
- FÜHNER H., 1918 - Nachweis und Bestimmung von Giften auf pharmakologischen wegl. Nachweis von Physostigmin. A Berhalden's Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden. Aut. IV, 7, 463-470.
- GABE M., 1953 - Sur quelques applications de la coloration par la fuchsine paraldéhyde. *Bull. Microscop. Appl.*, 3, (11-12), 153-162.
- GABE M., 1968 - Techniques histologiques. Masson & Cie, Paris.
- GASKELL J.F., 1914 - The chromaffine system of Annelids and the relation of this system to the contractile vascular system in the leech, *Hirudo medicinalis*. *Phil. Trans. Roy. Soc. London*, 205, 153-211.
- GOLDING D.W., 1967a - Neurosecretion and regeneration in *Nereis*. *Gen. comp. Endocrinol.*, 8, 348-367.
- GOLDING D.W., 1967b - The diversity of secretory neurons in the brain of *Nereis*. *Z. Zellforsch.*, 82, 321-344.
- GOLDING D.W., 1970 - The infracerebral gland in *Nephtys*. A possible neuroendocrine complex. *Gen. comp. Endoc.*, 14, 114-126.
- GOLDING D.W., 1973 - Neuroendocrine phenomena in Aphroditid and related Polychaetes. A. The morphology and cytology of the infracerebral gland and cerebral neurosecretory system. *Acta Zool.*, 54, 101-120.
- GOLDING D.W., BASKIN D.G., BERN H.A., 1968 - The infracerebral gland. A possible neuroendocrine complex in *Nereis*. *J. Morph.*, 124, 187-216.
- GOLDING D.W., WHITTLE A.C., 1974 - Neurons with "secretory end-feet". A probable neuroendocrine complex in *Nereis*. *Tissue and Cell*, 6, (4), 599-611.
- GOLDING D.W., WHITTLE A.C., 1975a - "Secretory end-feet", terminals of unusual cytological character and probable neuroglandular significance in *Nereis* (Polychaeta : Annelida). *J. Ultrastruct. Res.*, 50, 264-276.

- GOLDING D.W., WHITTLE A.C., 1975b - Secretory end-feet, extracerebral cells and cerebral sense organs in certain limnicole oligochaete annelids. *Tissue and Cell*, 7, 469-484.
- GOLDING D.W., WHITTLE A.C., 1977 - Neurosecretion and related phenomena in Annelids. *Int. Rev. Cytol.*, suppl. 5, 189-302, Acad. Press, inc., New York.
- GOMORI G., 1941 - Observations with differential stains on human islets of Langerhans. *Am. J. Pathol.*, 17, 395-406.
- GUERRIER P., MOREAU M., DOREE M., 1977 - Inhibition de la réinitiation de la méiose des ovocytes de *Xenopus laevis* par trois antiprotéases naturelles, l'antipaïne et la leupeptine. *C. R. Acad. Sci., D*, 284, 317-319.
- GUSTAFSON G., 1930 - Anatomische Studien über des Polychaeten - Familien Amphinomidae und Euprosynidae. *Zool. Bidr. Uppsala*, 12, 305-471.
- HALMI N.S., 1952 - Differentiation of the two types of basophilis in the adenohypophysis of the rat and mouse. *Stain Technol.*, 27, 61-64.
- HAMAKER J.I., 1898 - The nervous system of *Nereis virens* Sars. A study in comparative neurology. *Bulletin of the museum of Comparative Zoology, Harvard College*, 32, 1-124.
- HANSTRÖM B., 1927 - Das zentrale und periphere Nervensystem des Kopflappens einiger Polychaten. *Z. Morphol. Oekol. Tiere*, 7, 543-596.
- HANSTRÖM B., 1928 - "Vergleichende Anatomie des Nervensystem der wirbellosen Tiere. Springer Verlag Berlin.
- HAUENSCHILD C., 1956a- Hormonale Hemmung der Geschlechtsreife und Metamorphose bei dem Polychaeten *Platynereis dumerilii*. *Z. Naturforsch.* 11 b, 125-132.
- HAUENSCHILD C., 1956b- Neue experimentelle Untersuchungen zum Problem der Lunarperiodizität. Photoperiodizität als Ursache des lunaren Schwärhythmus bei dem Polychaeten *Platynereis dumerilii*. *Naturwiss.*, 16, 361-363.
- HAUENSCHILD C., 1959 - Zyklische Veränderungen an den inkretorischen Drüsenzellen im Prostomium des Polychaeten *Platynereis dumerilii* als Grundlage der Schwärmperiodizität. *Z. Naturforsch.*, 14, 81-87.
- HAUENSCHILD C., 1960a - Abhängigkeit der Regenerationsleitung von der inneren Sekretion im Prostomium bei *Platynereis dumerilii*. *Z. Naturforsch.*, 15 b, 52-55.
- HAUENSCHILD C., 1960b - Lunar periodicity. *Cold Spring Symposia, Quant. Biol.*, 25, 491-497.

- HAUENSCHILD C., 1963 - Postembryonale Entwicklungssteuerung durch ein Gehirnhormon bei *Platynereis dumerilii*. Verhandl. deutsch. Zool. Gesellsch. (München, 1963), 3-120.
- HAUENSCHILD C., 1965 - Hormone bei Nereiden und anderen niederen Wirbellosen. Zool. Jb. Physiol., 71, 511-544.
- HAUENSCHILD C., 1962) Neurosecretory control of development in *Platynereis dumerilii*. Mem. Soc. Endocrinol., 12, 297-312.
- HERLANT-MEEWIS H., VAN DAMME N., 1962 - Neurosecretion and wound-healing in *Nereis diversicolor*. Mem. Soc. Endocrinol. 12, 287-295.
- HOLMES W., 1947 - In "Recent advance in Clinical Pathology". ed. Dike, 1ère édit., Churchill, London.
- HOLMGREN N., 1916 - Zur vergleichenden Anatomie des Gehirn von Polychäten, Onychophoren, Xyphosuren, Arachniden, Crustaceen, Myriapoden und Insekten. Kgl. Svenska Vetenskapsakad. Handl., 56, (1), 1-303.
- HOFFMANN D.K., 1975 - Prostomial regeneration in the Polychaete *Platynereis dumerilii* (Audouin et Milne Edwards) (Annelida). Wilhelm Roux's Archives, 177, 309-322.
- HOFFMANN D.K., 1976 - Regeneration and endocrinology in Polychaete *Platynereis dumerilii*. Experimental and structural study. Roux's Arch. Dev. Biol., 180, (1), 47-73.
- JOURDAN F., 1972 - Ultrastructures du neurone géant gauche et de son environnement, chez l'Aplysie. Analyse comparée des composants synaptiques. Thèse de 3ème cycle. Biol. an. Lyon.
- KNEDEL M., BÖTTGER R., 1967 - Eine kinetische Methode zur bestimmung der Aktivität der pseudocholinesterase (acylcholin - acylhydrolase 3.1. 1.8.). Klin. Wschr., Dtsch., 45, (6), 325-327.
- KNOWLES F.G.W., BERN H.A., 1966 - The function of neurosecretion in endocrine regulation. Nature (Lond.), 210, 271-272.
- LENICQUE P.M., JACOBSON A., 1969 - Action de substances modifiant la transmission nerveuse sur la régénération de morceaux isolés de la planaire *Dugesia tigrina*. Thérapie, 24, 1059-1070.
- LENICQUE P.M., 1974 - A mechanism of action of serotonin and noradrenaline on the regeneration of the planarian worm *Dugesia tigrina*. Acta Zool., 55, 163-168.
- LENICQUE P.M., FERAL J.P., 1977 - Effects of biogenic amines on the regeneration of small pieces of the pedal disc of the sea anemone *Metridium senile* (Linnaeus). Comp. Biochem. Physiol., 57, (1), 91.

- LOWRY D.H., ROSEBROUGH N.J., FARR A.L., RANDALL R.J., 1951 - Protein measurement with the folin phenol reagent. J. Biol. Chem., 193, 265-275.
- LYMAN J., FLEMING R., 1940 - Composition of sea water. J. Marine Res., 3, 134.
- MALECHA J., 1967 - Transformation hétéronéroidienne et gamétogenèse chez *Nereis succinea* (Leuckart) (Annélide Polychète) en culture organotypique. C. R. Acad. Sci., D, 265, 613-615.
- MANARANCHE R., L'HERMITE P., 1973 - Etude des amines biogènes de *Glycera convoluta* K. (Annélide Polychète). Z. Zellforsch., 137, 21-36.
- MANARANCHE R., 1975 - Contribution à la connaissance du système nerveux de *Glycera convoluta* (K.) Annélide Polychète). Thèse de Doctorat, Sci. Nat., 1-142.
- MAYOR H.D., HAMPTON J.C., ROSARIO B., 1961 - E simple method for removing the resin from epoxy-embedded tissue. J. Biophys. Biochem. Cytol., 9, 909-910.
- MOREAU N., GOUMON P., 1977 - Synthèse de la tubuline au cours de l'ovogenèse de *Pleurodeles waltlii* (Amphibien, Urodèle). Biol. Cellulaire, 28, (1), 19-22.
- MÜLLER W.A., 1973 - Autoradiographische Untersuchungen über die synthetische Aktivität neurosekretorischer Zellen im Gehirn von *Platynereis dumerilii* Während der sexuellen Entwicklung und Regeneration. Z. Zellforsch., 139, 487-510.
- NAGASAWA J., 1977 - Exocytosis : The common release mechanism of secretory granules in glandular cells, neurosecretory cells, neurons and paraneurons. Arch. histol. Jap., 40, suppl. 77, 31-47.
- ORRHAGE L., 1966 - Über die Anatomie des Zenhalen Nervensystemen der sedentären Polychaeten. Kungl. Svenska vetenskapsak., serie 2, 19 (3), 99-133.
- PAGET G.E., 1959 - Aldehyde thionin : a stain having similar properties than aldehyde fuchsin. Stain Technol., 34, 223-226.
- POLL et SOMMER, 1903 - In MANARANCHE, 1974.
- PORCHET M., 1970 - Relations entre le cycle hormonal cérébral et l'évolution ovocytaire chez *Perinereis cultrifera*. Gen. comp. Endoc., 15, 220-231.
- PORCHET M., 1974 - Activité endocrine cérébrale chez les *Nereidae*. Thèse de Doctorat, Sci. nat., 1-117.
- QUATREFAGES A., 1865 - Histoire naturelle des Annélides marins et d'eau douce (Annélides et Gephyriens). Paris Lib. Encycl. Roret.
- RACOWITZA E., 1896 - Le lobe céphalique et l'encéphale des Annélides Polychètes (Anatomie, morphologie, histologie). Arch. Zool. exp. gen. (3ème série) IV, 133-343.

- REMY C., GIRARDIE J., DUBOIS P.-P., 1977 - Exploration immunocytoologique des ganglions cérébroïdes et sous-oesophagien du phasme *Clitumnus extradentatus* : existence d'une neurosécrétion apparentée à la vasopressine-neurophysine. C. R. Acad. Sci., D, 285, 1495-1497.
- RETZIUS G., 1895 - Zur Kenntniss des Gehirnganglions und des sensiblen Nervensystems von Polychaeten. Biol. Unt., 2, 1-28.
- REYNOLDS E.S., 1963 - The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy. J. Cell Biol., 17, 208-212.
- RICHARD A., 1964 - Contribution à l'étude des Néréidiens (Annélides Polychètes). Vascularisation, neurosécrétion. D.E.S. Sci. Nat., Lille, 1-85.
- SCHAEFER K., 1939 - Lage und Sekretion der Drüsenervenzellen von *Nereis diversicolor* Müll. Zool. Anz., 125, 195-202.
- SCHARRER B., 1936 - Über "Drüsenervenzellen" im Gehirn von *Nereis virens* Sars. Zool. Anz., 113, 299-302.
- SCHARRER B., 1937 - Über sekretorisch tätige Nervenzellen bei wirbellosen Tieren. Naturwissenschaften, 25, 131-138.
- SCHORDERET-SLATKINE S., DRURY K.C., 1973 - Progesterone induced maturation in oocytes of *Xenopus laevis*. Appearance of a maturation promoting factor in enucleated oocytes. Cell. diff., 2, (4), 247-254.
- STEEL C.G.H., MORRIS G.P., 1977 - A simple technique for selective staining of neurosecretory products in epoxy sections with paraldehyde fuchsin. Can. J. Zool., 55, 1571-1575.
- STOECKEL M.E., PORTE A., DELLMAN H.D., 1972 - Selective staining of neurosecretory material in semithin epoxy sections by Gomori's aldehyde fuchsin. Stain Technol., 47, 81-85.
- TAKEUCHI N., 1965 - Incretory elements in the brain of Nereids with special reference to secretory nature of the neurosecretory cells in the nuchal center. Sci. Rept. Tôhoku Univ. Fourth Ser. (Biol.), 31, 125-133.
- TAXI J., GAUTRON J., 1969 - Données cytochimiques en faveur de l'existence de fibres nerveuses sérotoninergiques dans le coeur de l'Aplysie *Aplysia californica*. J. Microscopie, 8, 627-636.
- TOMBES A.S., 1977 - Type 2 neurosecretory axons (secretory end-feet) at the base of the cerebral ganglion of *Perinereis cultrifera* Grube (Annelida : Polychaeta). Gen. comp. Endocrinol., 32, 407-410.
- VARELA J.M., MANDEL P., 1976 - The relative distribution of soluble and insoluble cholinesterases in rat extractable tissues. Experientia, 32, 977-978.
- WAREMBOURG M., DHAINAUT-COURTOIS N., 1969 - Etude des monoamines biogènes dans le système nerveux des *Nereidae* (Annélides Polychètes). C. R. Acad. Sci., D, 229, 654-655.

- WATSON M.L., 1958 - Staining of tissue sections for electron microscopy with heavy metals. J. Biophys. Biochem. Cytol., 4, 475-478.
- WHITTLE A.C., GOLDING D.W., 1974 - The infracerebral gland and cerebral neurosecretory system. A probable neuroendocrine complex in Phyllodoctid Polychaetes. Gen. comp. Endoc., 24, 87-98.
- WHITTLE A.C., GOLDING D.W., 1976 - Further observations of the fine structure of the infracerebral gland in *Nereis* (Annelida : Polychaeta). C₂ and C₃ cells ; centripetal and centrifugal fibers. J. Morph., 150, (1), 1-18.
- WHITTLE A.C., ZAHID Z.R., 1974 - Fine structure of nuchal organs in some errant Polychaetous Annelids. J. Morphol., 144, 167-184.
- ZAHID Z.R., GOLDING D.W., 1975 - The cerebral neurosecretory system, secretory end foot system and infracerebral gland - a probable neuroendocrine complex in *Nephtys* (Annelida ; Polychaeta). Acta Zool., 56, 11-28.

PLANCHES 1 à 7

Coupes transversales de 20 μ d'épaisseur, réalisées sur un cerveau de *Nereis diversicolor* d'âge moyen : diamètre ovocytaire 60-140 μ .

Imprégnation argentique selon HOLMES (1947) ; G : x 140.

Les chiffres romains et arabes désignent respectivement les différents nerfs et noyaux ganglionnaires.

PLANCHE 1

Région la plus antérieure.

VS : vaisseau





PLANCHE 2

Suite de la Planche 1.

EP : épiderme

OA : oeil antérieur

RAV : racine antérieure ventrale du collier périoesophagien

RPD : racine postérieure dorsale du collier périoesophagien

VS : vaisseau





BUS
LILLE

PLANCHE 3

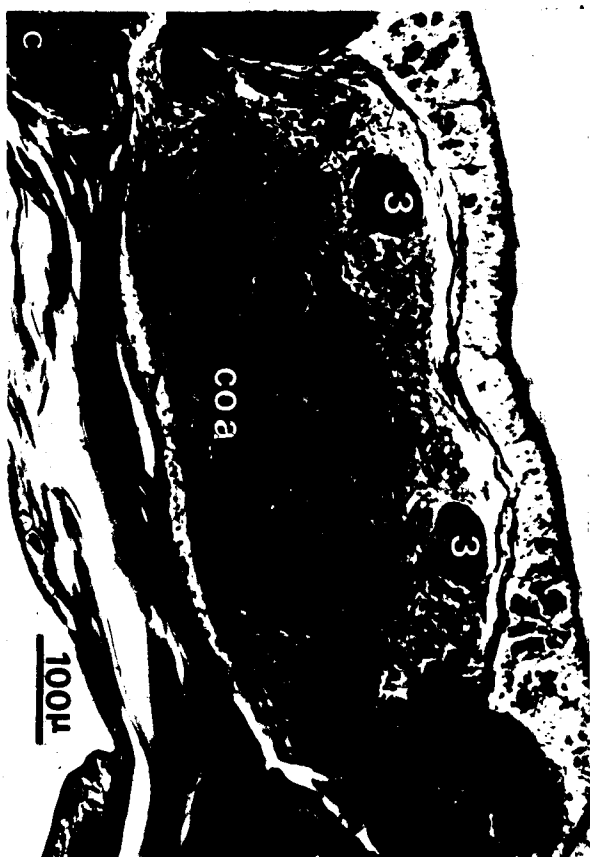
Suite de la planche 2.

COa : commissure a

OA : oeil antérieur

RPD : racine postérieure dorsale du collier périoesophagien.





AMS
LILLE



PLANCHE 4

Suite de la planche 3 : région médiane du cerveau.

COb : commissure b

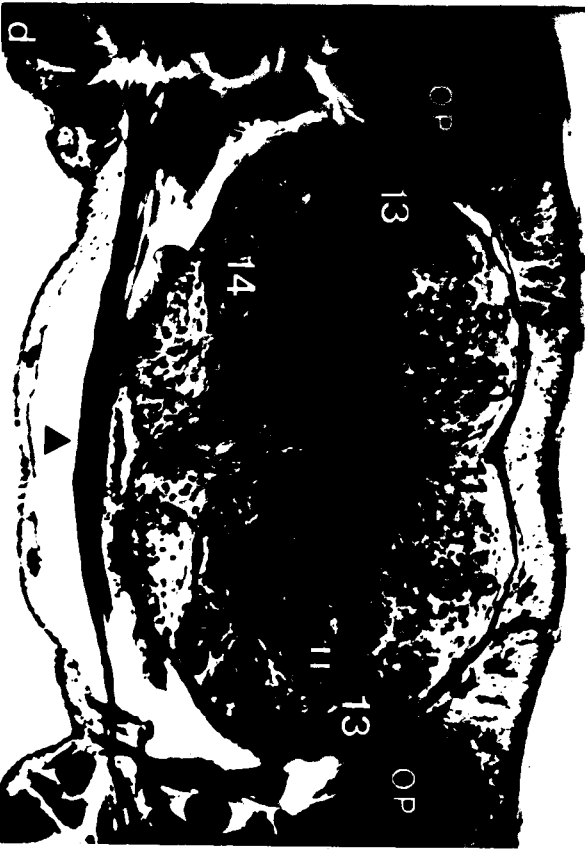
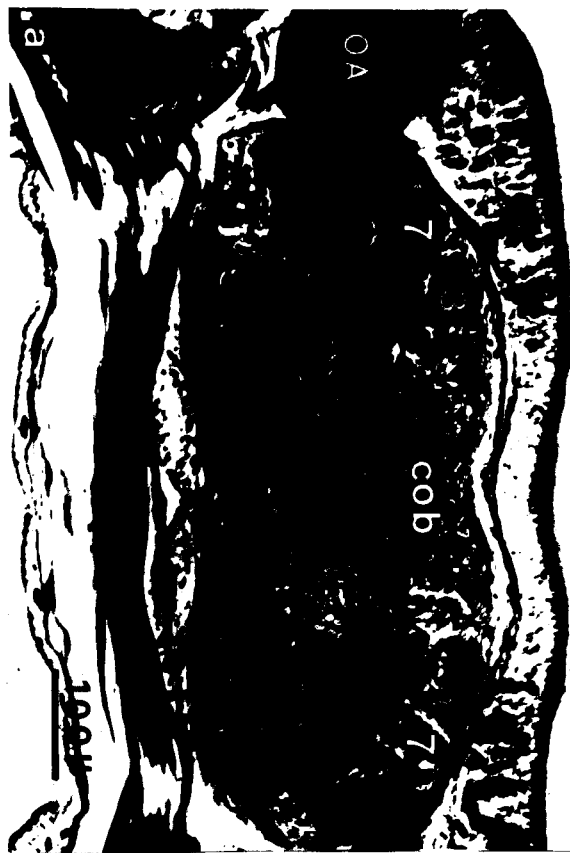
FI 5 : faisceau 5 de fibres intracérébrales

OP : oeil postérieur.

Les flèches présentes sur les figures b, c et d indiquent le tube coelomique antérieur.

Le triangle visible sur la figure d indique la position du complexe cérébro-vasculaire.





815
JUL 22

PLANCHE 5

Suite de la planche 4.

COD : commissure d
COO : commissure optique
FI 4 : faisceau 4 de fibres intracérébrales
NP : neuropile
OP : oeil postérieur
VS : vaisseau.

La flèche présente sur la figure a indique le tube coelomique antérieur.
Le triangle indique la position du complexe cérébro-vasculaire.





PLANCHE 6

Suite de la planche 5

COc : commissure c

COp : commissure postérieure

FI 2

FI 3 faisceaux 2 et 3 de fibres intracérébrales

NP : neuropile

OP : oeil postérieur

La flèche visible sur la figure d indique le tube coelomique postérieur.

Le triangle indique la position du complexe cérébro-vasculaire.



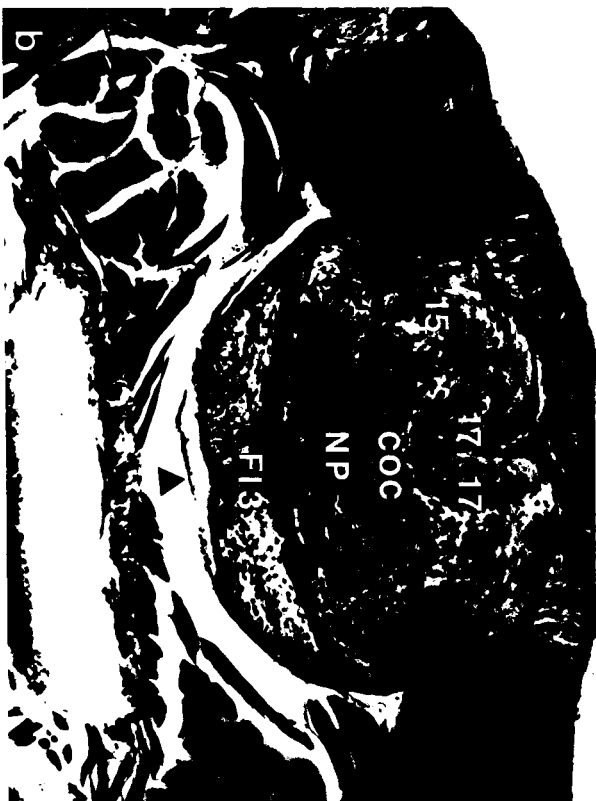


PLANCHE 7

Suite de la planche 6 ; région très postérieure du cerveau.

FI 1 : faisceau 1 de fibres intracérébrales

ON : organe nuchal

La flèche présente sur la figure a indique le repli coelomique postérieur.

Le triangle indique la position du complexe cérébro-vasculaire.





PLANCHES 8 à 10

Nereis : diamètre ovocytaire 60 à 140 μ .

Imprégnation argentique selon HOLMES (1947), coupes horizontales :
épaisseur 20 μ .

Les chiffres romains et arabes désignent respectivement les différents
nerfs et noyaux ganglionnaires.

La flèche indique la direction céphalo-caudale.

PLANCHE 8

Région la plus ventrale.

COa : commissure a

COd : commissure d

COI : commissure du nerf I

RAV : racine antérieure ventrale du collier périoesophagien

RPD : racine postérieure dorsale du collier périoesophagien

VS : vaisseau





805
JUL 1964

PLANCHE 9

Suite de la planche 8 : région plus dorsale.

COb : commissure b

COp : commissure postérieure

OA : oeil antérieur

OP : oeil postérieur

Le cercle indique la position du tube coelomique antérieur.





BIS
LILLE



PLANCHE 10

Fig. a - suite de la planche 9.

Fig. b, c, d, e - *Nereis* : diamètre ovocytaire moyen 30 μ ; imprégnation argentique selon BETCHAKU (1960), coupes horizontales : épaisseur 8 μ . G : x 370.

COO : commissure optique

ep : épiderme

Nep : nerf épidermique

OA : oeil antérieur

OP : oeil postérieur

OS : organe sensoriel

Le cercle indique la position du tube coelomique antérieur.





BNS
COLLEGE



PLANCHES 11 à 14

Etude cytologique et cytochimique du cerveau de *Nereis diversicolor*.
Les chiffres arabes désignent les différents noyaux ganglionnaires. Dans la classification des types cellulaires I à V, nous avons utilisé la terminologie définie par DHAINAUT-COURTOIS (1966c).

PLANCHE 11

Coupes transversales de la région postérieure du cerveau de la *Nereis*.

Fig. a - Diamètre ovocytaire : 130 μ .

Coloration selon CLARK. G : x 140.

Fig. b, c - Coupes adjacentes effectuées sur des vers ayant un diamètre ovocytaire de 30 à 60 μ .

b - coloration selon CLARK. G : x 370.

c - coloration : trichrome de HALMI modifié par CLARK, sans oxydation préalable. G : x 370.

Fig. d - Diamètre ovocytaire : 60-100 μ .

Coloration par l'azocarmin G, sans oxydation préalable. G : x 370.

Ci : cils

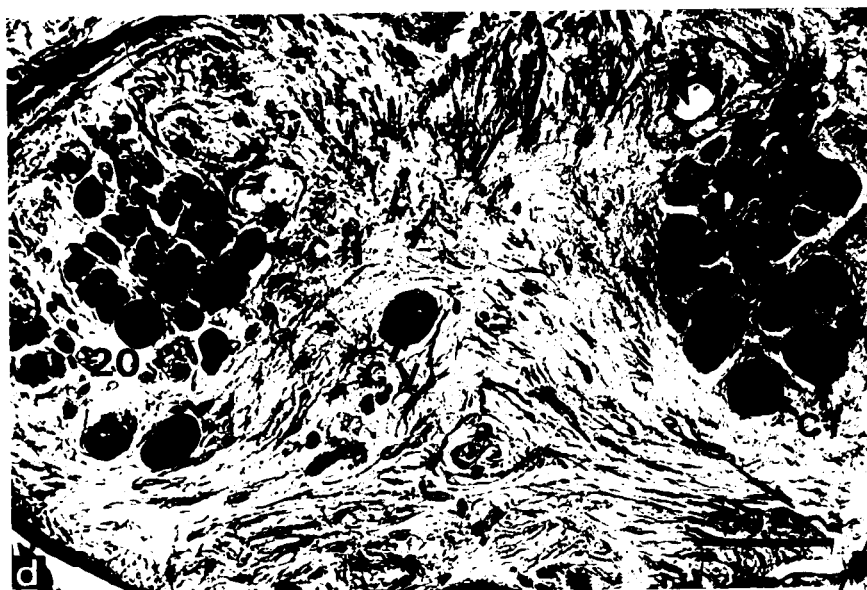
EP : épiderme

ON : organe nuchal

OP : oeil postérieur

RI : région infracérébrale





THIS
LIFE

PLANCHE 12

Fig. a et b - coupe sagittale ; diamètre ovocytaire : 90 μ ; coloration selon CLARK.

a - G : x 260.

b - G : x 1050.

Fig. c - Diamètre ovocytaire : 60-100 μ ; coloration selon CLARK.
G : x 1400.

Fig. d - *Nereis* d'âge moyen ; coloration : tétrachrome de HERLANT.
G : x 370.

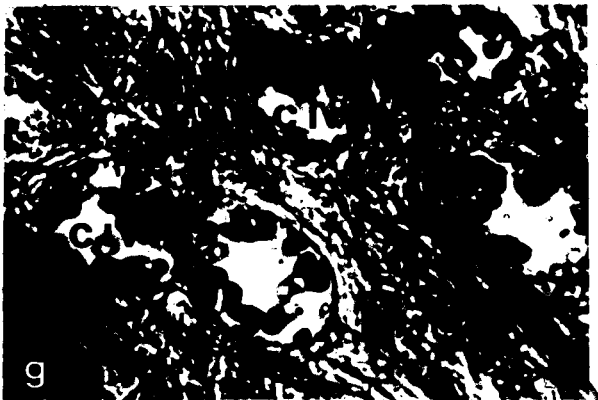
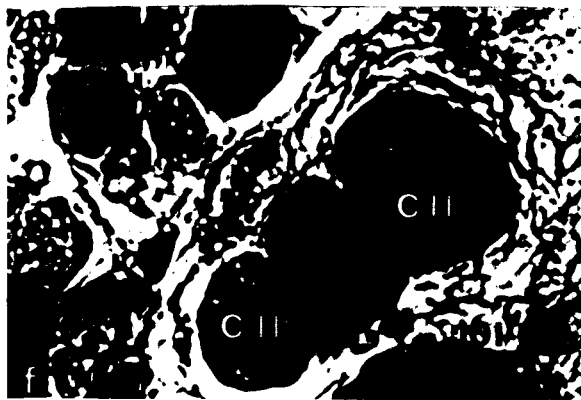
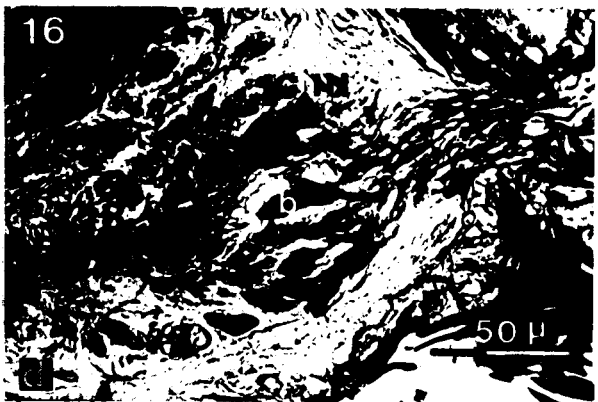
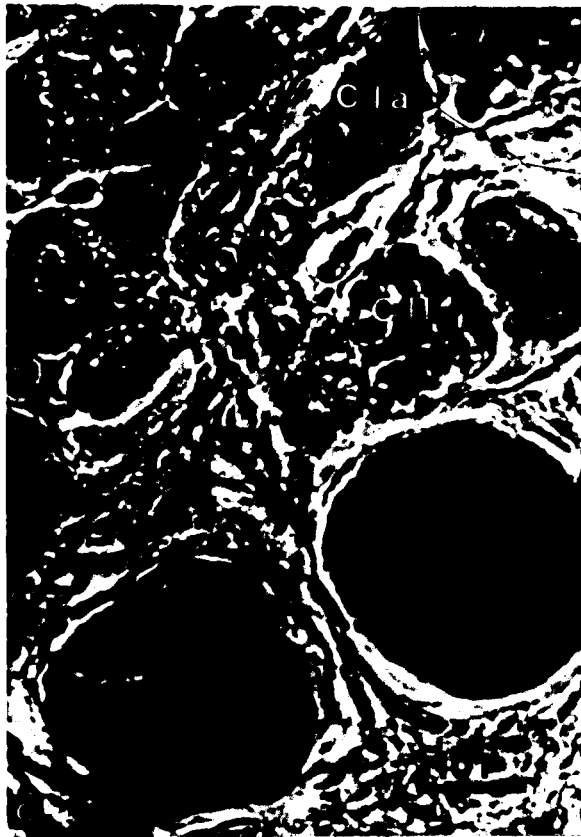
Fig. e - Diamètre ovocytaire : 60-100 μ ; région du noyau 18 ; coloration selon CLARK. G : x 1400.

Fig. f - Diamètre ovocytaire : 60-100 μ ; coloration par l'azocarmin G.
G : x 1400.

Fig. g - *Nereis* femelle, région du noyau 19 ; coloration selon CLARK.
G : x 1050.

b : cellules b selon SCHARRER (1936).





50
LILLE

PLANCHE 13

Fig. a, b et c - Diamètre ovocytaire 100-140 μ ; coloration selon CLARK.

a - cellules du noyau 14. G : x 1400.

b - cellule du noyau 15. G : x 1400.

c - coupe longitudinale. G : x 370.

Fig. d, e, f, g - Mise en évidence des glucides ; diamètre ovocytaire : 105-130 μ .

d - Technique du P.A.S.-orangé G après traitement par l'amylase salivaire. G : x 600.

e - Région du noyau 17. Technique du P.A.S.-orangé G sans prétraitement enzymatique. G : x 600.

f, g - Région du noyau 14. Technique du P.A.S.-orangé G, respectivement sans et avec prétraitement par l'amylase salivaire. G : x 370.

FP : fuchsine paraldéhyde

NP : neuropile

TC : tube coelomique



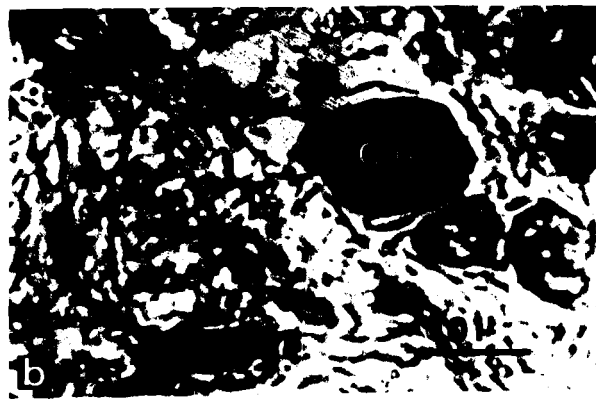
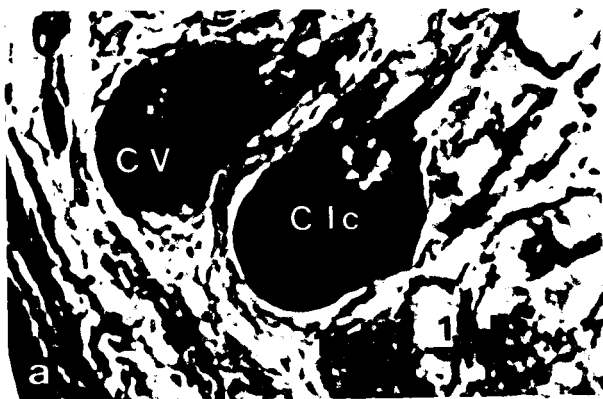


PLANCHE 14

Fig. a - Coupe horizontale ; diamètre ovocytaire $220\ \mu$; région du noyau 20 ; technique de fluorescence à la géranine G.
G : x 323.

Fig. b, c, d - Coupes semi-fines ; région postérieure ; coloration selon CLARK.

b - Diamètre ovocytaire 65-100 μ . G : x 370.

c - Diamètre ovocytaire 90-130 μ . G : x 1400.

d - Diamètre ovocytaire 65-100 μ . G : x 1400.

Les flèches blanche et noires indiquent respectivement la direction céphalo-caudale et dorso-ventrale.





PLANCHES 15 à 24

Etude ultrastructurale des cellules présentes au sein du cerveau de
Nereis diversicolor.

PLANCHE 15

Etude des cellules I a.

Fig. a et b - Diamètre ovocytaire : 140-170 μ .

a - Coupe semi-fine ; coloration selon CLARK. G : x 1400.

b - Coupe ultra-fine. G : x 2800.

Fig. c et d - Diamètre ovocytaire : 200-220 μ .

c - G : x 9000.

d - G : x 50000.

ce : cerveau

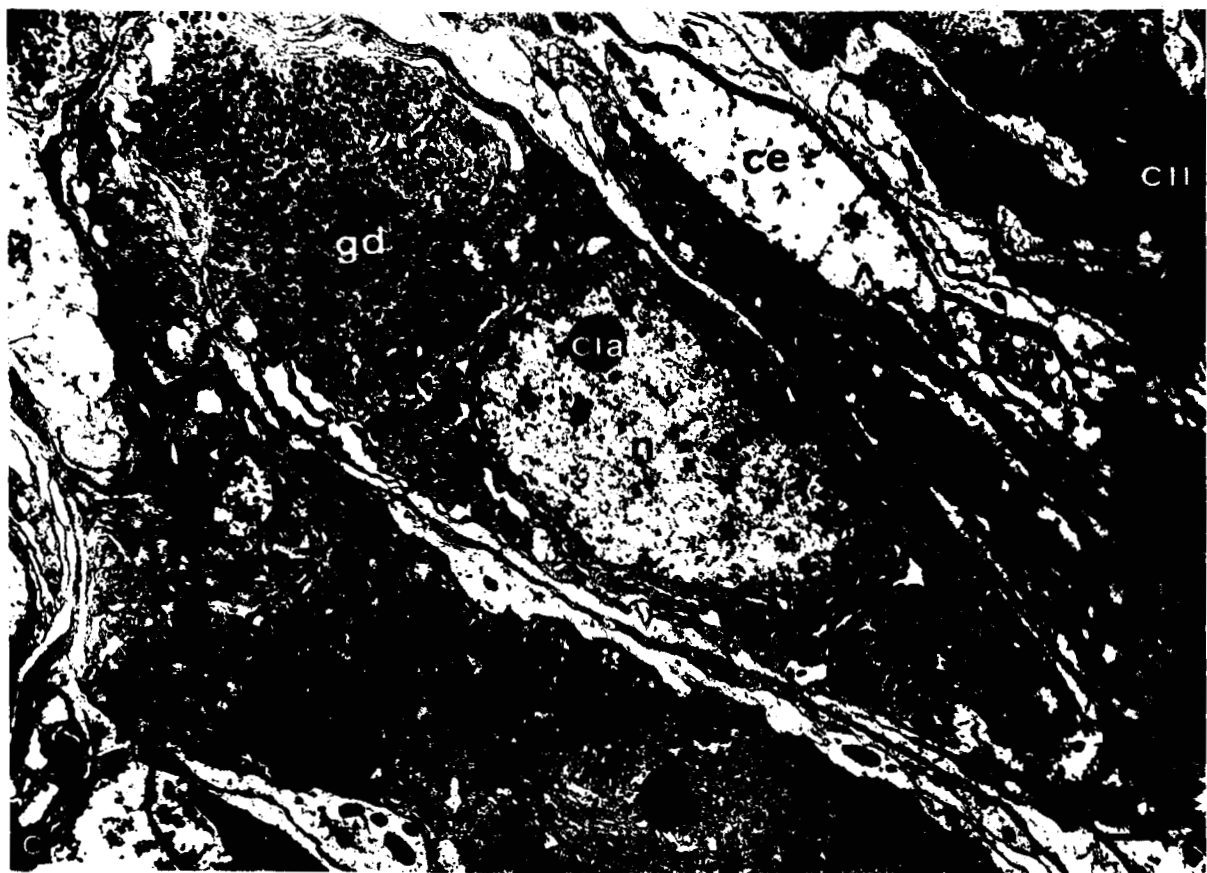
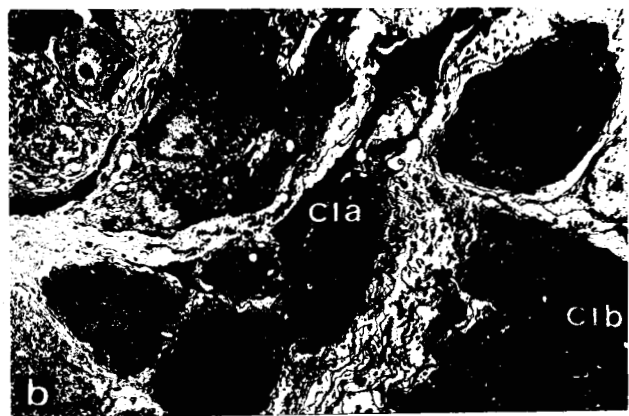
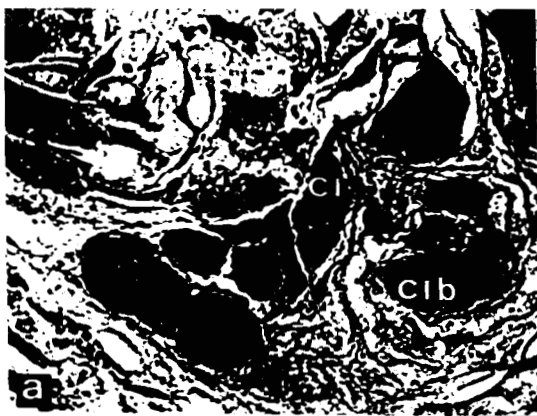
gd : granules denses

li : lipides

n : noyau

reg : réticulum endoplasmique granuleux





PLANCHES 16 et 17

Etude des cellules I b.

PLANCHE 16

Fig. a, b, c - Diamètre ovocytaire : 140-170 μ ; vues du même neurone ;
grossissements respectifs : G x 2800 ; 5400 ; 35400.

Fig. d, e - Diamètre ovocytaire : 30-60 μ ; cellules I b ; grossissements
respectifs : G x 20000 ; 50000.

Cmv : corps multivésiculaire

g : appareil de Golgi

gd : granule dense

gl : glycogène

gr : granule

m : mitochondrie

ng : névroglie



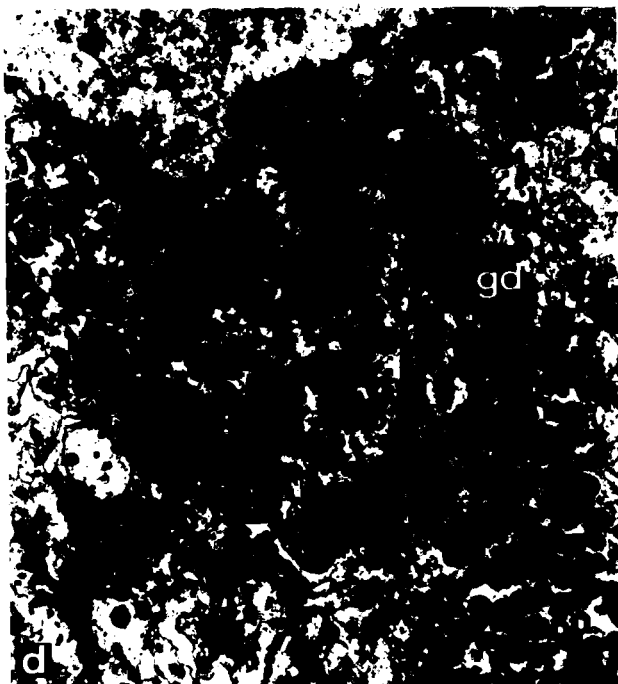
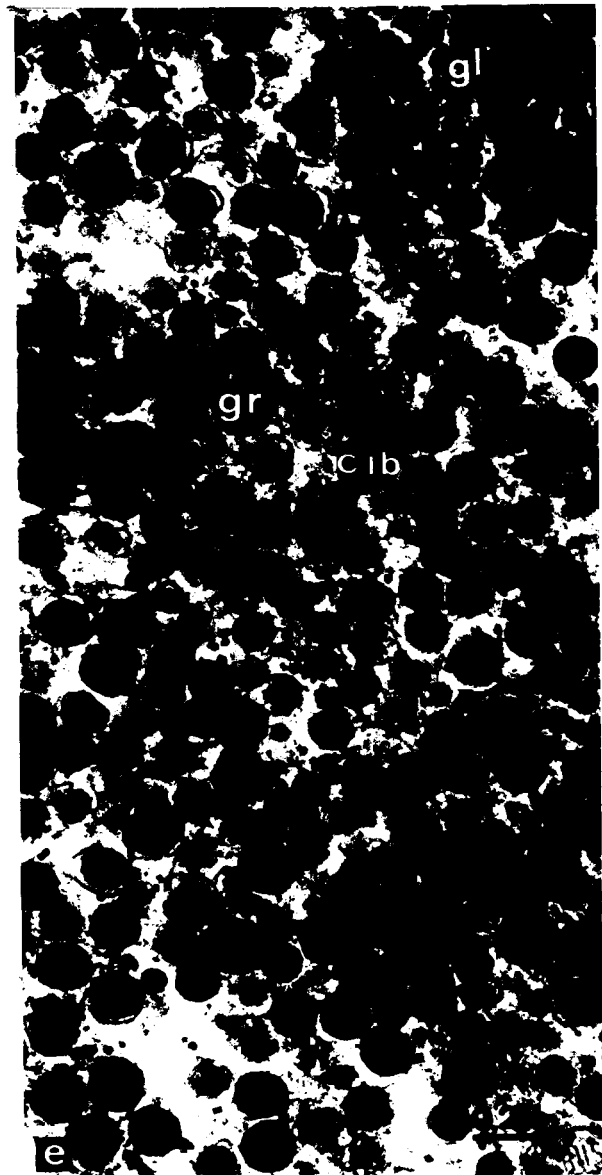
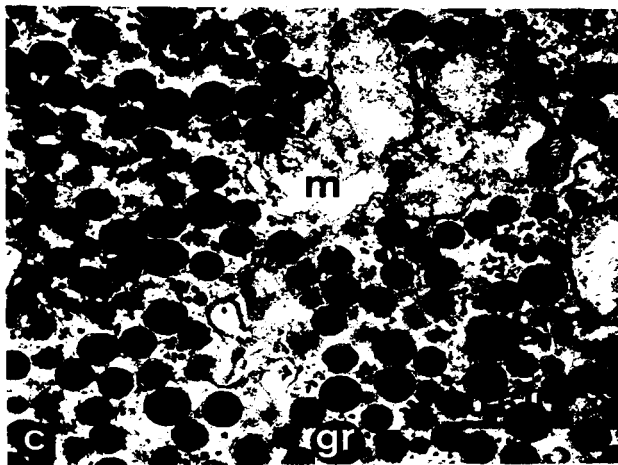
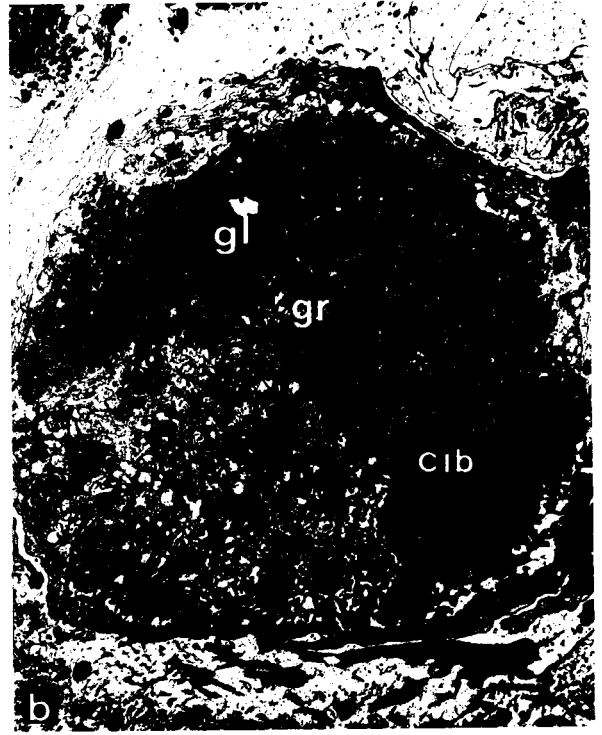
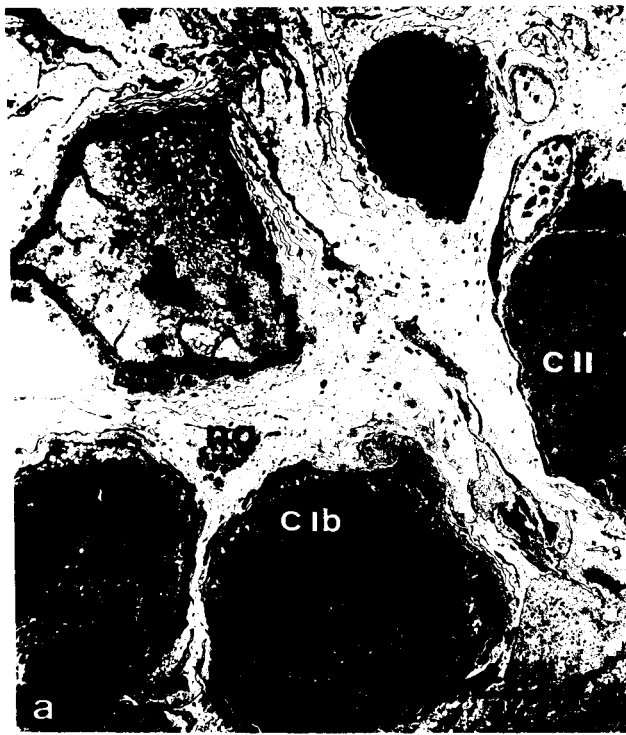


PLANCHE 17

Diamètre ovocytaire : 170-200 μ .

Vue générale d'un neurone I b. G : x 7350.

gr : granules

ng : névroglie

nu : nucléole





L1146

PLANCHES 18 et 19

Etude des cellules II.

PLANCHE 18

Diamètre ovocytaire : 30-60 μ ; Vue générale. G : x 19800.

gr : granules

m : mitochondrie





RRS
LILLÉ

PLANCHE 19

Fig. a, b, c - Diamètre ovocytaire 170-200 μ . Noyau 20.

a - Vue générale, neurones II. G : x 5650.

b - Cellule II, granules de neurosécrétion. G : x 35400.

c - Cellule II, sécrétion dense intracytoplasmique. G : x 35400.

Fig. d - Diamètre ovocytaire 80 μ . Noyau 20, cellules II, riches en matériel de sécrétion. G : x 10000.

gs : granules de sécrétion

id : inclusion dense

n : noyau

reg : réticulum endoplasmique granuleux

sd : sécrétion dense



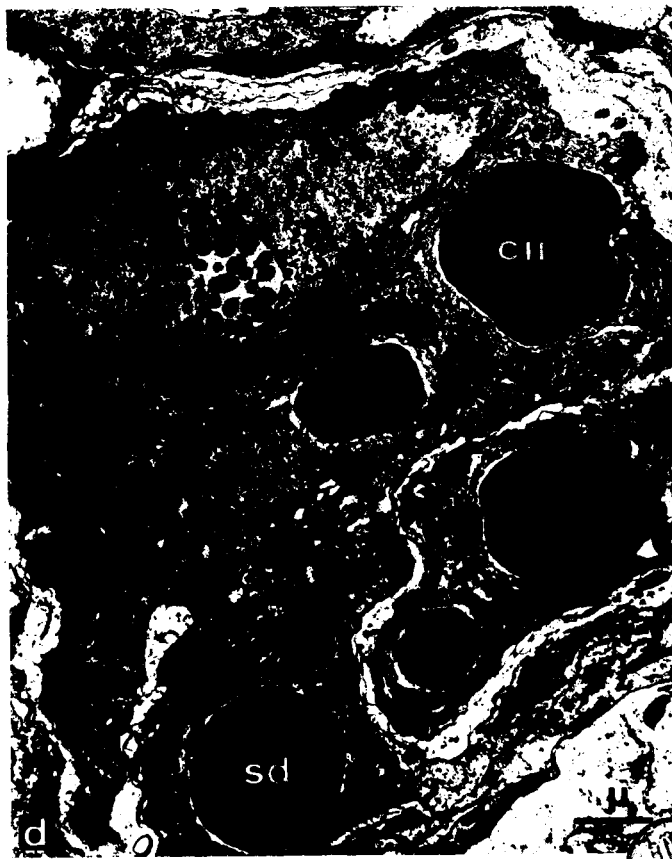
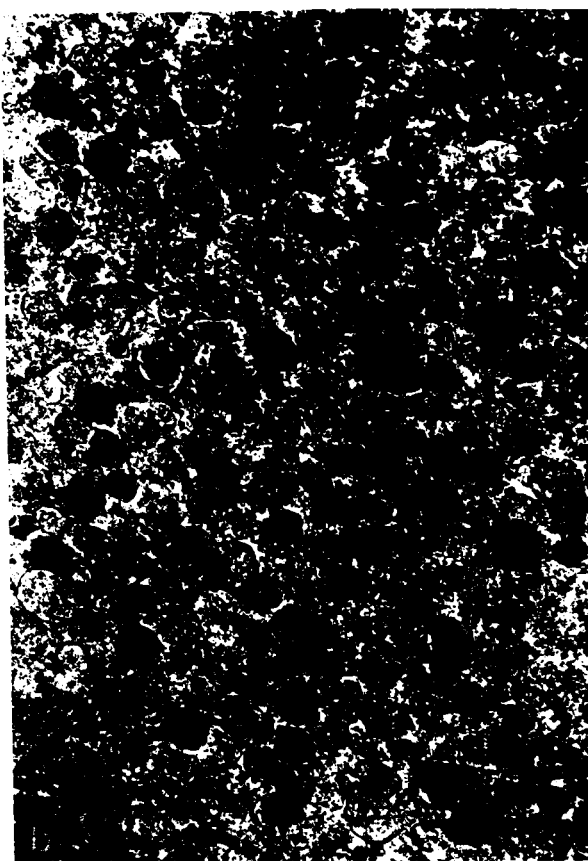


PLANCHE 20

Etude des cellules III.

Fig. a, b - Diamètre ovocytaire : 30-60 μ ; vues générales.
Grossissements respectifs : G x 14100, 8900.

Fig. c, d - *Nereis*, diamètre ovocytaire : 170-200 μ . Enroulements caractéristiques du réticulum endoplasmique granuleux. Grossissements respectifs : G x 5700, 35400.

Fig. e, f - Cellule III voisine de l'oeil postérieur, à l'extérieur du cerveau ; diamètre ovocytaire 30-60 μ . Grossissements respectifs : G x 5700, 35400.

cap : capsule

gd : granules denses

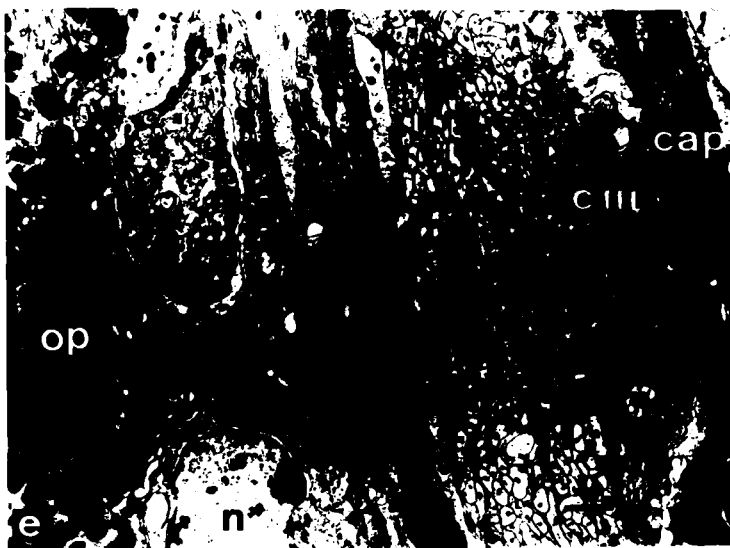
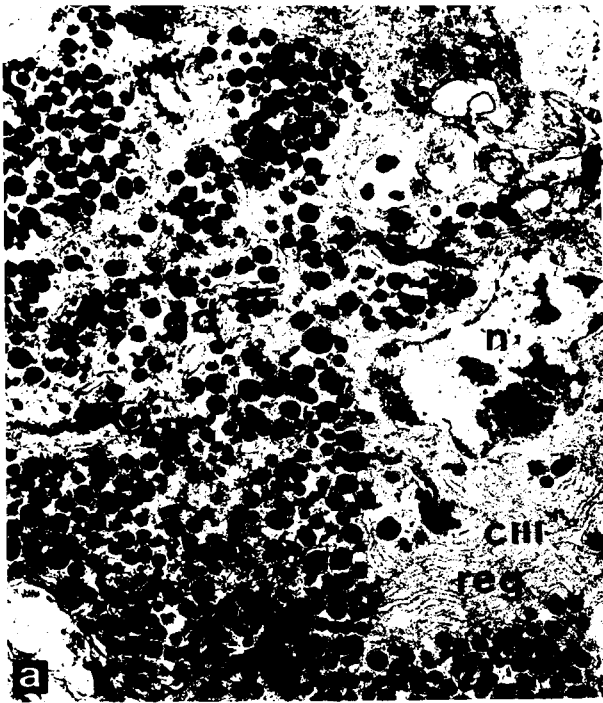
gr : granules

n : noyau

OP : oeil postérieur

reg : réticulum endoplasmique granuleux





PLANCHES 21 et 22

Etude du noyau ganglionnaire 19 et des types cellulaires situés à proximité des cellules IV.

PLANCHE 21

Fig. a - Diamètre ovocytaire 140-170 μ . Cellule I située à proximité d'une cellule IV. Vue générale. G : x 7100.

Fig. b - Cytoplasme de la même cellule I. G : x 35400.

Fig. c et d - Diamètre ovocytaire 30-60 μ .

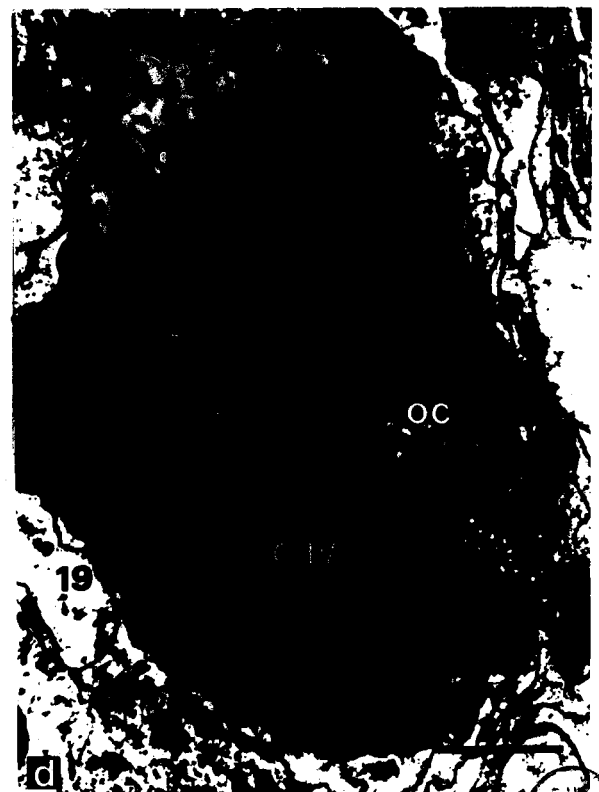
c - Cellule IV à contenu peu dense. G : x 5700.

d - Cellule IV à contenu dense. G : x 8500.

n : noyau.

oc : organites ciliaires





515
LILLE

PLANCHE 22

Diamètre ovocytaire : 30-60 μ .

Fig. a et b - Noyau 19 ; grossissements respectifs : G x 20000, 14000.

Fig. c - Noyau 16 ; grossissement : G : x 10000.

ds : desmosomes septés

gl : glycogène

m : mitochondries

oc : organites ciliaires

Les flèches indiquent les ramifications des organites ciliaires.





BUS
LILLE

PLANCHES 23 et 24

Neurones ordinaires présents au sein du cerveau de la *Nereis*.

PLANCHE 23

Fig. a - Diamètre ovocytaire : 30-60 μ ; neurones VI du noyau 16.
G : x 14100.

Fig. c - Diamètre ovocytaire : 65-100 μ ; neurones VI des *Corpora pedunculata*.

Fig. b et d - Diamètre ovocytaire : 30-100 μ ; cellules "b" (terminologie selon SCHARRER, 1936). Grossissements respectifs : G x 12000, 35400.





PLANCHE 24

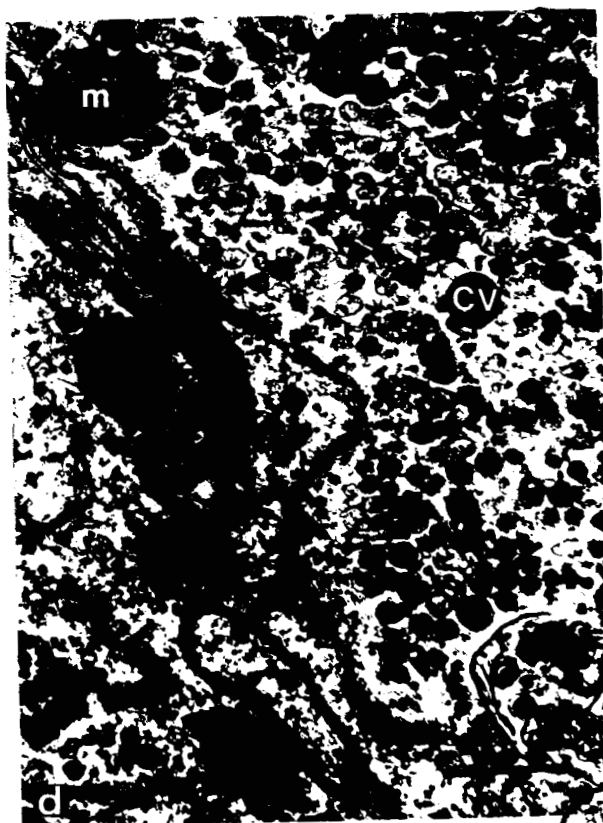
Neurones du type V.

Fig. a - Diamètre ovocytaire : 30-60 μ ; cytoplasme d'un neurone du noyau 22.
G : x 35400.

Fig. b - Diamètre ovocytaire : 65-100 μ ; neurone du noyau 5. G : x 11300.

Fig. c, d - Cerveau de *Nereis* de diamètre ovocytaire 30-60 μ . Neurone du
noyau 14. Grossissements respectifs : G x 8500, 35400.





515
CYCLE

PLANCHE 25

Organe nuchal.

Fig. a 7 Organe nuchal de *P. cultrifera*, diamètre ovocytaire 30 μ , coloration à la fuchsine paralaldéhyde suivi par le trichrome de HALMI modifié par CLARK. G : X 1050.

Fig. b et c - Coupes de cerveau de *Nereis diversicolor*, diamètre ovocytaire 30-60 μ .

b - Coupe semi-fine, coloration bleu azur. G : x 1400.

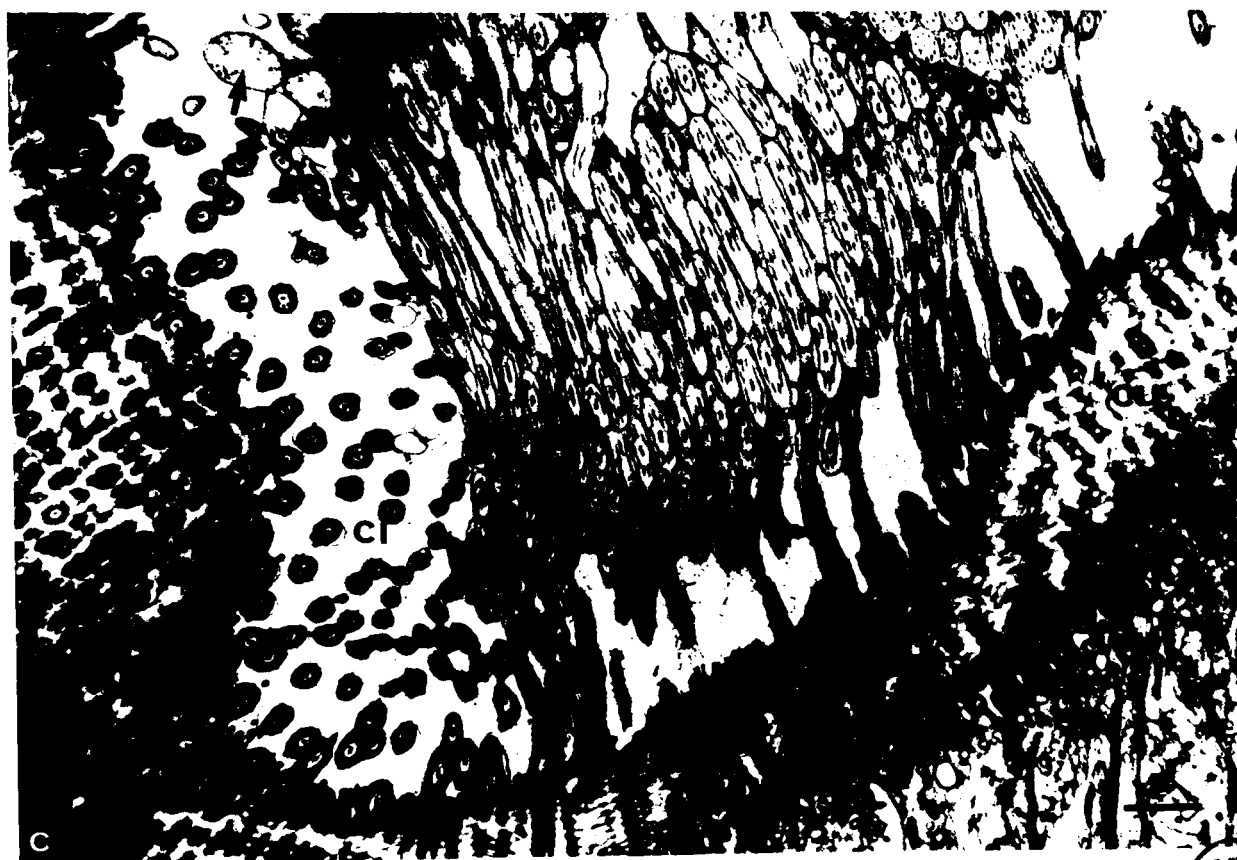
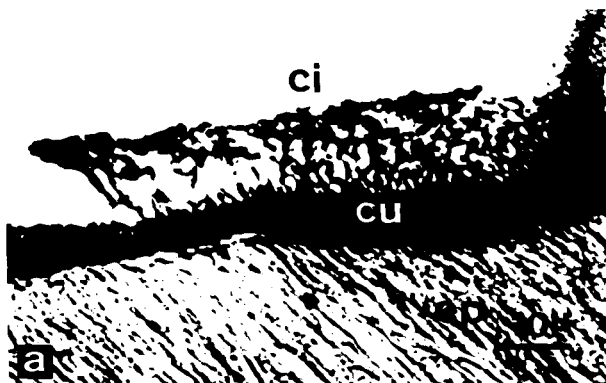
c - Coupe ultrafine de la même zone, G : x 10000.

Ci : cil

Cu : cuticule

ep : épithélium.

Les flèches indiquent les élargissements de l'extrémité des cils.



BDS
LILLE

PLANCHES 26 à 33 (Fig. a et b)

Le complexe cérébro-vasculaire.

PLANCHE 26

Faisceaux de fibres intracérébrales 1 à 5, coupes transversales de 20 μ d'épaisseur réalisées sur des cerveaux de *Nereis diversicolor* d'âge moyen diamètre ovocytaire 60-140 μ . G : x 370. Imprégnation argentique selon HOLMES (1947).

Fig. a - Région du faisceau situé le plus postérieurement (FI 1). Cf. également Planche 7, Fig. b.

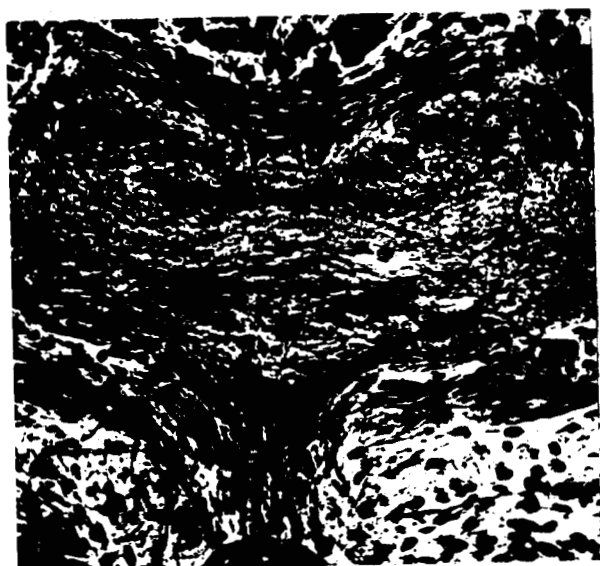
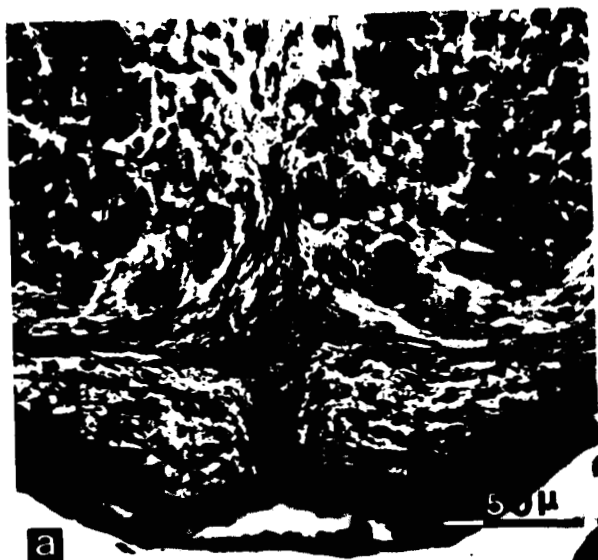
Fig. b - Faisceau FI 2. cf également Planche 6, Fig. c.

Fig. c et d - Faisceau FI 3. cf également Planche 6, Fig. a et b.

Fig. e - Faisceau FI 4. cf également Planche 5, Fig. b.

Fig. f - Faisceau FI 5. cf également Planche 4, Fig. d.





DATE
LILLE

PLANCHE 27

Fig. a - Coupe transversale. Imprégnation argentique selon BETCHAKU (1960).
Cellules infracérébrales. G : x 1400.

Fig. b, c, d, e - Diamètre ovocytaire 30-60 μ . Coupes transversales séries
de la poche médiane ventrale (décrite par GOLDING, 1976), effectuées de l'arrière vers l'avant.
Variations au niveau de la capsule cérébrale et passage de fibres
(voir flèche). G : x 1050.

Fig. f et g - Coupes transversales de cerveau de *Nereis*, effectuées après
traitement par la collagénase bactérienne pendant 30 minutes à
37°C.
La flèche indique le décollement des cellules infracérébrales.
G : x 140.

CAP : capsule

CE : cerveau

FI : faisceau de fibres infracérébrales

ng : névroglie

NP : neuropile

RI : région infracérébrale



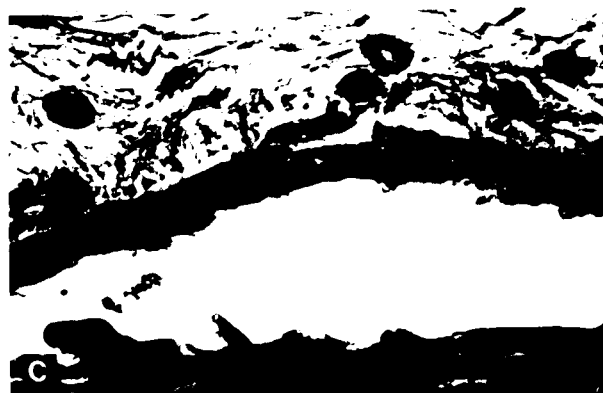
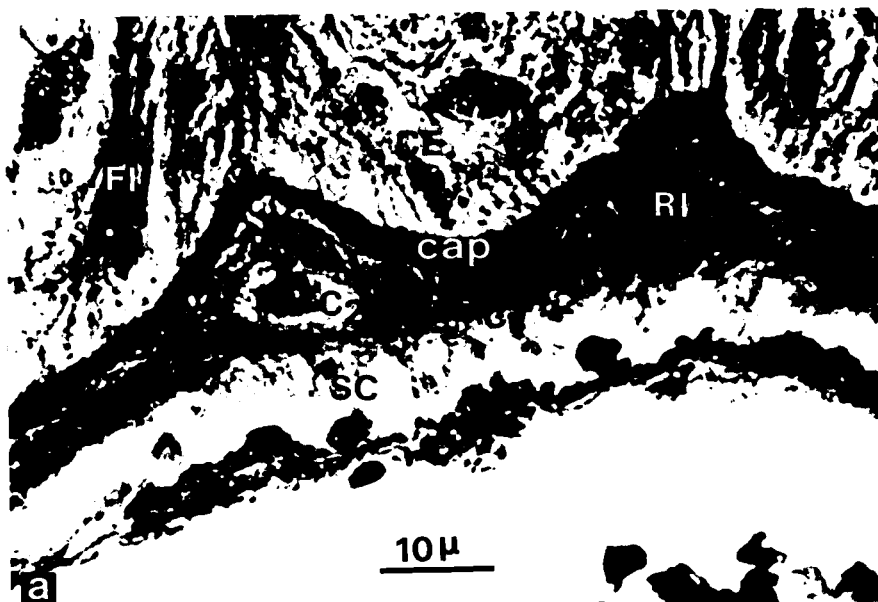


PLANCHE 28

Les cellules infracérébrales : évolution selon l'âge.

Fig. a - Diamètre ovocytaire 50 μ . Région infracérébrale. G : x 8000.

Fig. b - Diamètre ovocytaire 140 μ . Région infracérébrale. G : x 4000.

axm : axone riche en mitochondries

cap : capsule

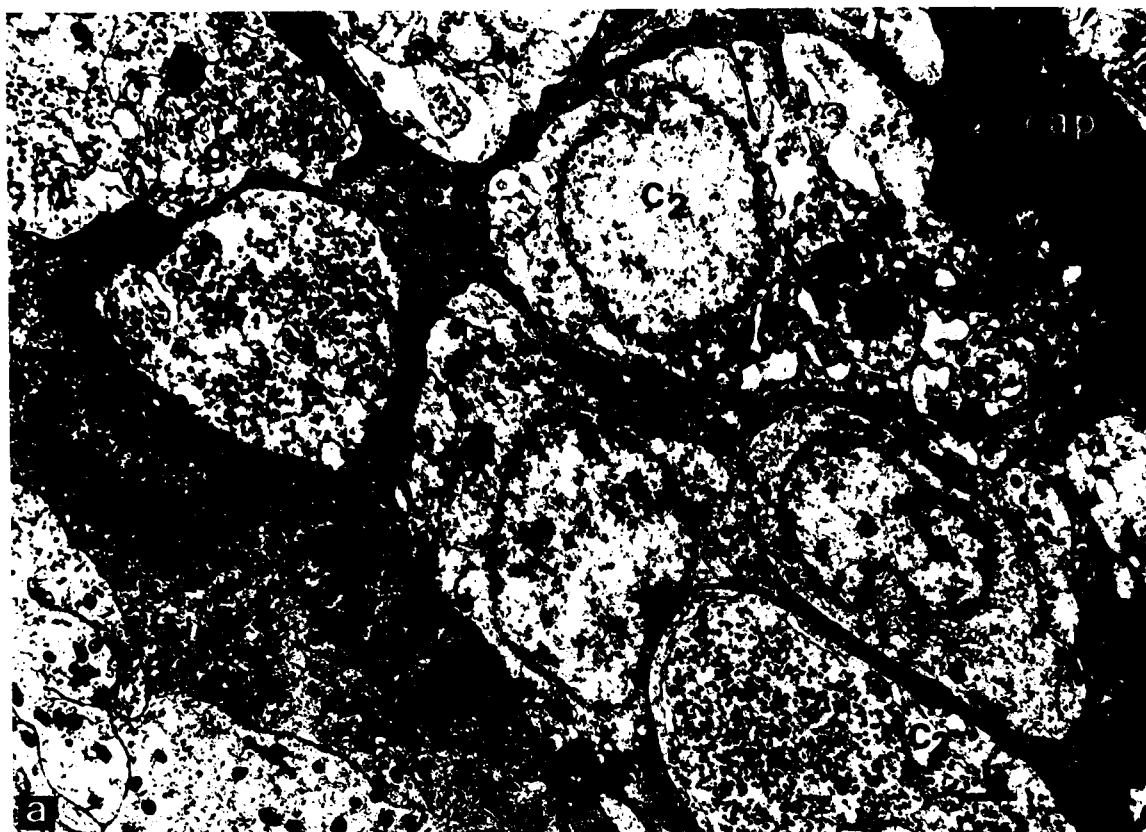
CE : cerveau

n : noyau

RI : région infracérébrale

C₁ et C₂ : cellules infracérébrales (terminologie selon DHAINAUT-COURTOIS, 1966).





BILL
LITTLE

PLANCHE 29

Les cellules infracérébrales : description fine.

Fig. a - Diamètre ovocytaire 90 μ . cytoplasme de cellule C₂.
G : x 10000.

Fig. b - Diamètre ovocytaire 195 μ . G : x 48 000.

Fig. c - Diamètre ovocytaire 90 μ ; région apicale de l'épithélium
des cellules C₁. G : x 16000.

Fig. d - Diamètre ovocytaire 90 μ ; cytoplasme de cellule C₁.
G : x 44000.

axm : terminaison axonale riche en mitochondries

cap : capsule

cd : corps denses

d : desmosome

g : appareil de Golgi

gd : grains denses

m : mitochondrie

mp : membrane plasmique

ng : névroglie

reg : réticulum endoplasmique granuleux

sg : saccules golgiens

vg : vésicules golgiennes

vs : vaisseau



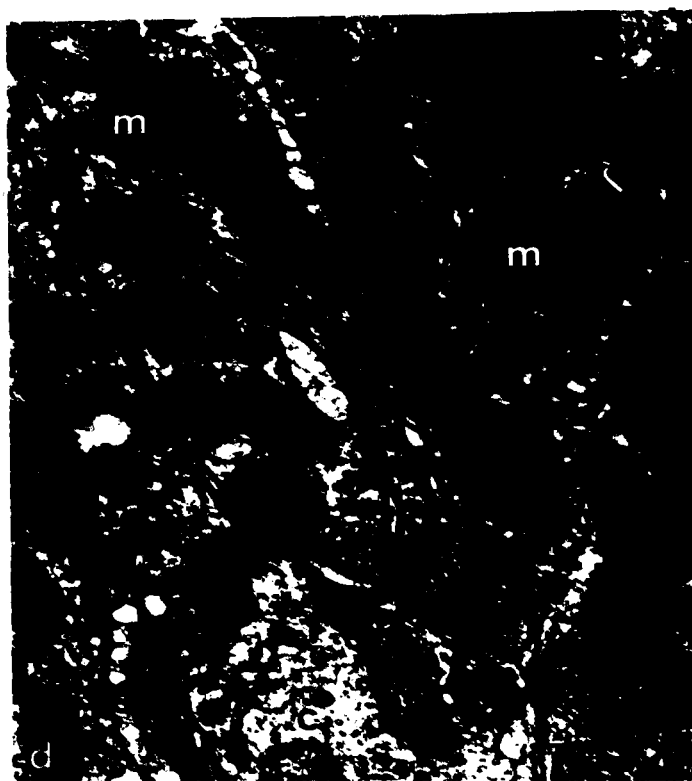


PLANCHE 30

Interruptions de la capsule cérébrale observées chez des vers de diamètre ovocytaire 140 μ (Fig. a), 30-60 μ (Fig. b), 85-120 μ (Fig. c) et 65-100 μ (Fig. d).

Fig. a, b et c - Zone de la poche médiane ventrale décrite par GOLDING (1976) ; grossissements respectifs : G x 1050, x 14000, x 50000.

Fig. d - Autre zone d'interruption de capsule, non décrite précédemment et située beaucoup plus postérieurement. G : x 14000.

ax : axones

axm : axones riches en mitochondries

Cap : capsule cérébrale

Ce : cerveau

PC₂ : prolongements présumés des cellules infracérébrales C₂

pmv : poche médiane ventrale

pv : poche ventrale



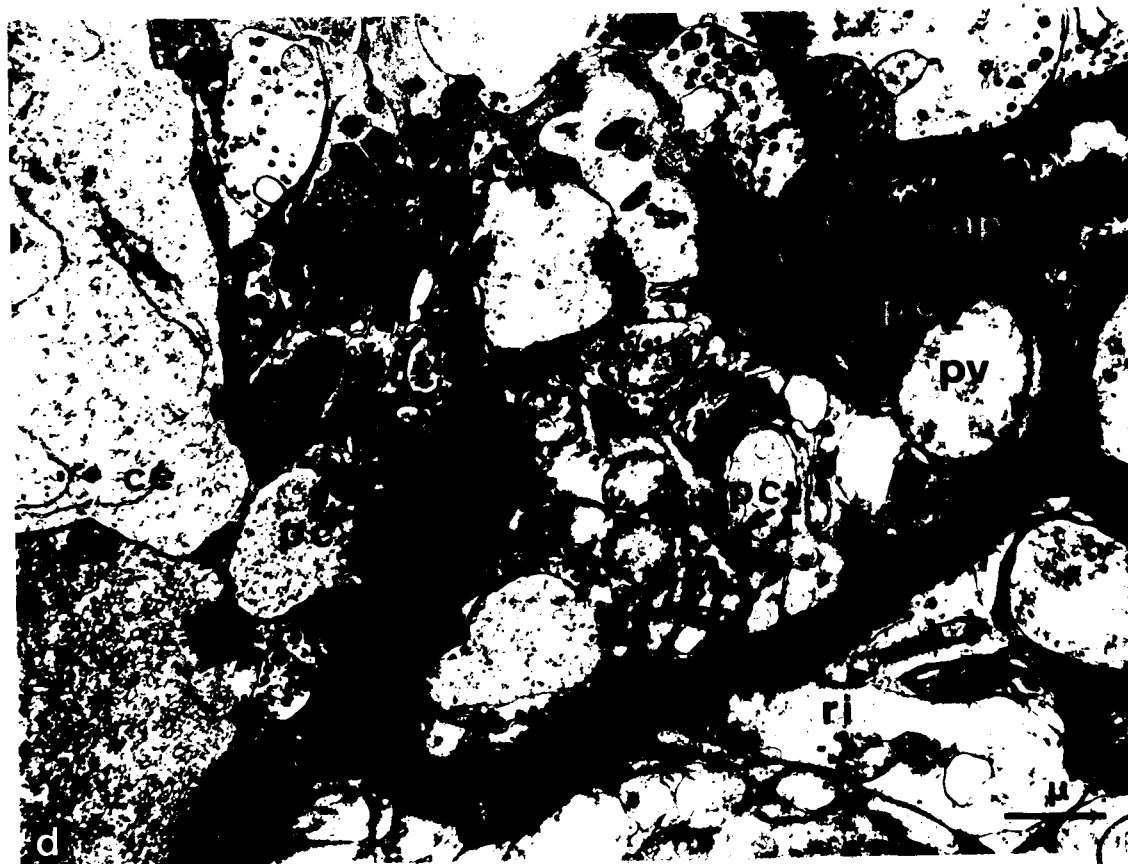
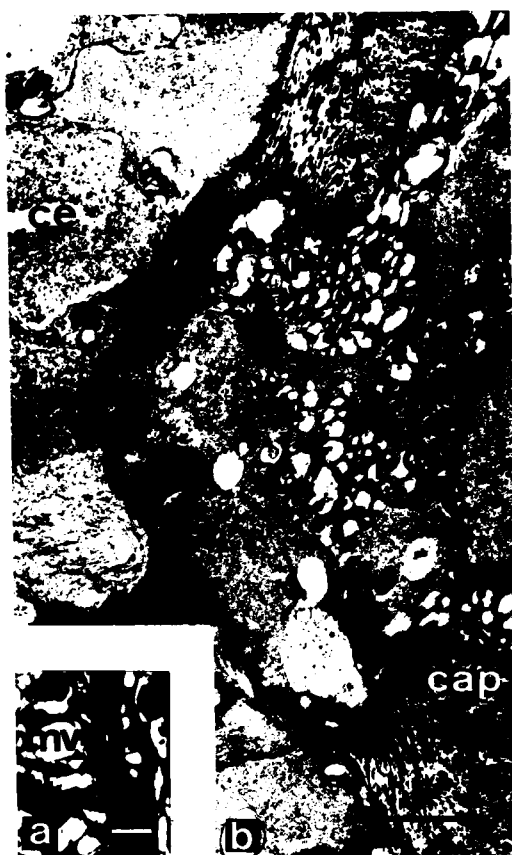


PLANCHE 31

Terminaisons axonales sur la capsule cérébrale.

Cerveau ; diamètre ovocytaire 65-100 μ (Fig. a) et 30-60 μ (Fig. b à g).

Fig. a - Terminaison axonale neurosécrétoire de cellule Ia. G : x 40000.

Fig. b, c - Terminaisons axonales de cellule Ib. Grossissement respectifs :
G x 50000, x 35400.

Fig. d, e, f - Terminaisons axonales de cellules II. Grossissement des
photos : G x 35400.

Fig. g - Prolongement présumé de cellule C₂ présent au-dessus de la capsule.
G : x 35400.

axCIa : axone appartenant au type cellulaire Ia

axCIb : axone appartenant au type cellulaire Ib

axCII : axone appartenant au type cellulaire II

Cap : capsule

Ce : cerveau

PC₂ : prolongement présumé de cellule infra cérébrale C₂



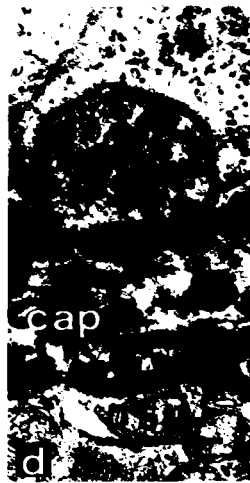
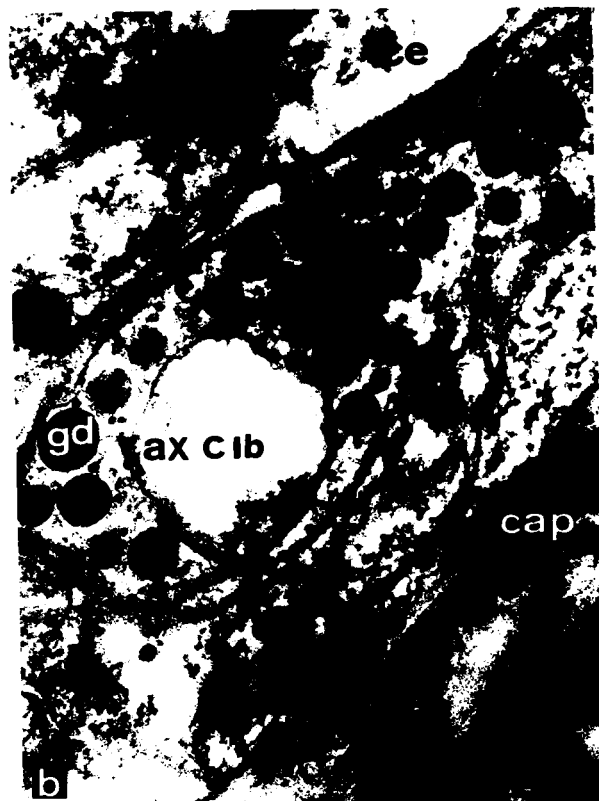


PLANCHE 32

Fig. a, b, c - Prolongements présumés de cellules infracérébrales C₂ au contact de la capsule cérébrale.

a - Cerveau ; diamètre ovocytaire 30-60 μ . G : x 35400.

b - Cerveau ; diamètre ovocytaire 50 μ . G : x 30900.

c - Région infracérébrale ; diamètre ovocytaire 65-100 μ . G : x 35400.

axm : axones riches en mitochondries

cap : capsule

ce : cerveau

cr : crêtes mitochondriales

gd : granules denses

id : inclusion dense

m : mitochondrie

PC₂ : prolongements présumés de cellules infracérébrales C₂

ri : région infracérébrale



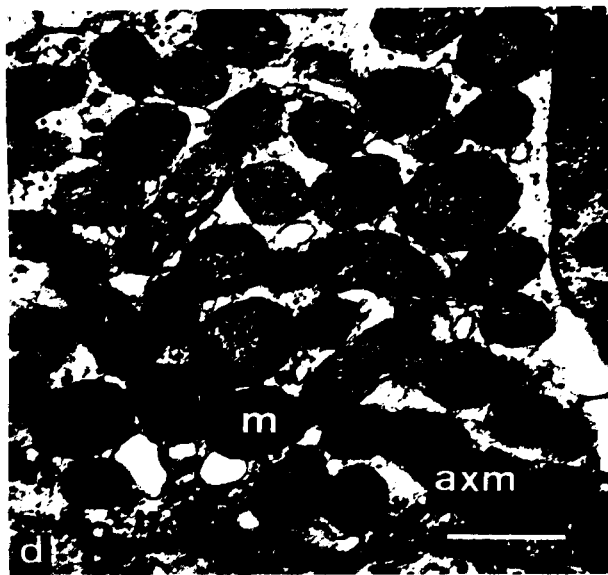
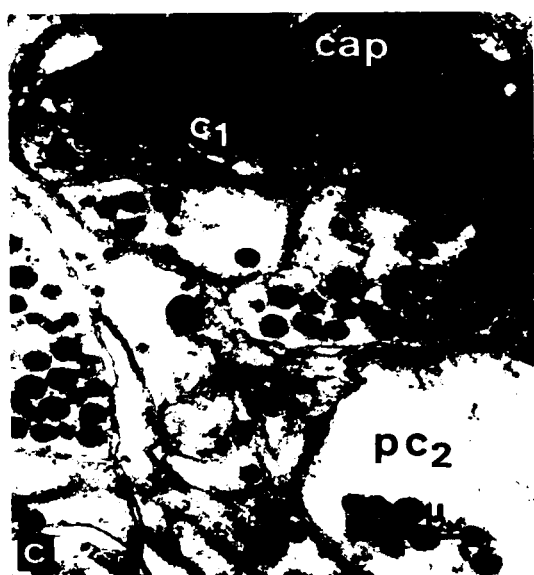
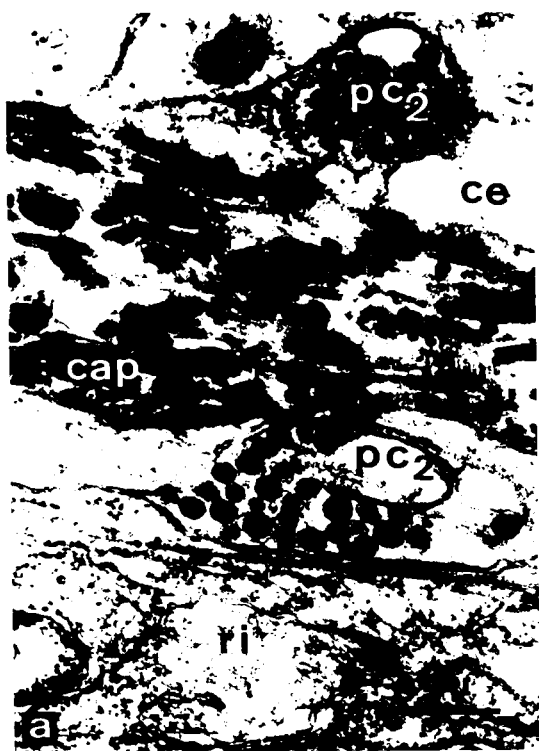


PLANCHE 33

Fig. a et b - Fibres névrogliques aboutissant sur la capsule cérébrale.

a - Cerveau de *Nereis*. G : x 40000.

b - *Nereis* âgée ; diamètre ovocytaire 170 μ . G : x 35400.

Fig. c et d - Diamètre ovocytaire 30-60 μ . Neuropile au-dessus du complexe cérébro vasculaire. Grossissements respectifs : G : x 50000, x 35400.

Fig. e - Diamètre ovocytaire 65-100 μ . Neurite riche en granules denses, observé dans le neuropile, dans le pédoncule des *Corpora pedunculata*. G : x 35400.

ax : axone

Cap : capsule

Ce : cerveau

hd : hemidesmosome

ng : névroglie

np : neuropile

nt : neurite

PC₂ : prolongements présumés de cellules C₂

VS : vésicules synaptiques



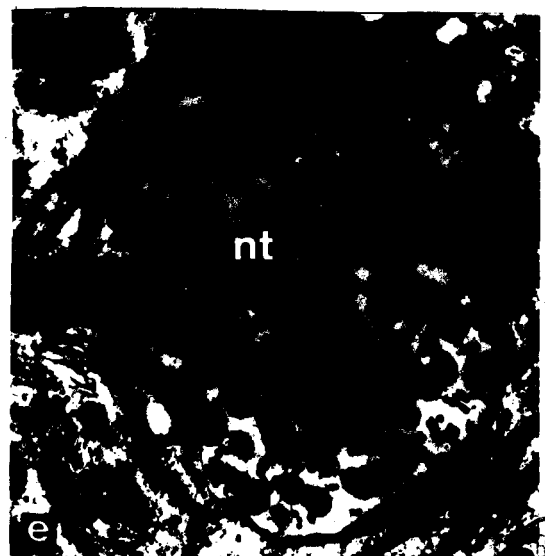
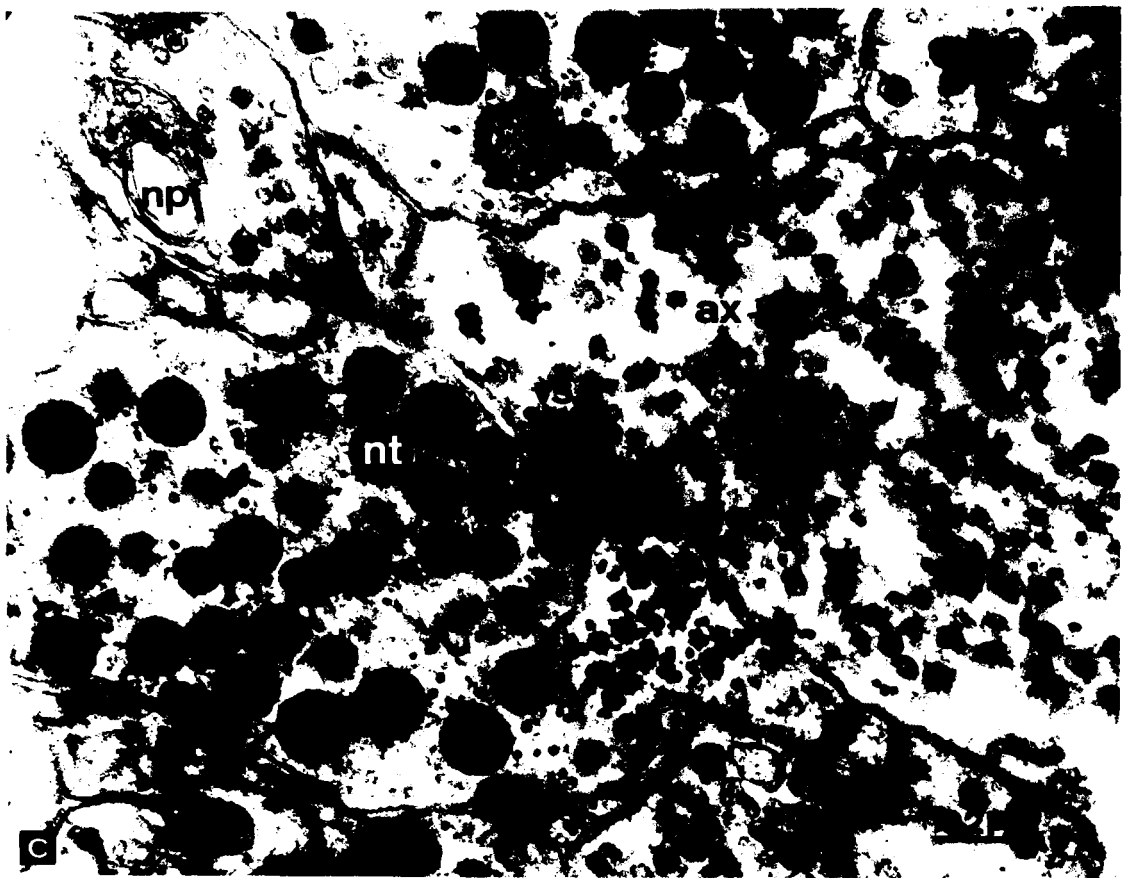


PLANCHE 34

Coupes transversales ; *Nereis* d'âge moyen.

Coupes semi-fines traitées pour l'autoradiographie ; coloration au bleu azur II en milieu non alcalin.

Fig. a et b - Marquage à la 5-HT tritiée.

a - Région moyenne du cerveau (cf. planche 4, fig. a). G : x 170.

b - Région plus antérieure (cf. planche 3, fig. a). G : x 170.

Fig. c, d, e - Marquage à la DA tritiée.

c - Région du noyau 14. G : x 370.

d - Région du nerf palpaire. G : x 260.

e - Région infracérébrale. G : x 370.

CE : cerveau

MU : muscle

NP : neuropile

OA : oeil antérieur

RAV : racine antérieure ventrale du collier périoesophagien

RPD : racine postérieure dorsale du collier périoesophagien.



