

50376
1978
213

50376
1978
213

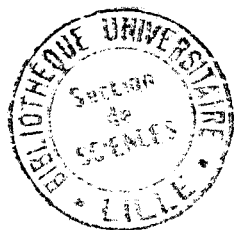
THESE

DE DOCTORAT DE III^e CYCLE

Biologie du Développement et de la Reproduction

Eduardo DEI-CAS

RECHERCHES SUR LE SYSTEME
NERVEUX ET LE PARENCHYME
DE *SCHISTOSOMA MANSONI*
(Trematoda : Digenea)



Soutenu le septembre 1978 devant la commission d'examen:

MM.	M. DURCHON	Président
	N. DHAINAUT-COURTOIS	Rapporteur
	J. BIGUET	Examineurs
	S. DEBLOCK	

1.2.1.6. Observations sur l'ultrastructure du système nerveux de <i>S. mansoni</i> adulte	p. 20
1.2.1.6.1. Remarques sur l'ultrastructure	p. 20
1.2.1.6.2. Introduction à l'étude quantitative des structures subcellulaires des fibres nerveuses	p. 22
1.2.2. Etudes autoradiographiques sur les neuromédiateurs chez <i>Schistosoma</i>	p. 22
1.2.2.1. 5-HT et DA	p. 22
1.2.2.2. Localisation des récepteurs acétylcholinergiques chez <i>S. mansoni</i> : étude préliminaire avec l' α -bungarotoxine-I 125	p. 23
1.2.3. Etude biochimique de l'activité cholinestérasique de <i>S. mansoni</i>	p. 23
 1.3. <u>Matériel et méthodes</u>	
1.3.1. Entretien de <i>Schistosoma mansoni</i> dans le laboratoire	p. 24
1.3.2. Etudes morphologiques	p. 25
1.3.2.1. Recherche de la neurosécrétion	p. 25
1.3.2.1.1. Techniques histologiques classiques	p. 25
1.3.2.1.2. Histofluorescence	p. 26
1.3.2.1.3. Techniques sur coupes semi-fines	p. 26
1.3.2.2. Microscopie électronique	p. 27
1.3.2.2.1. Technique de routine	p. 27
1.3.2.2.2. Etude quantitative des structures neuroplasmiques	p. 27
1.3.3. Etudes expérimentales	p. 27
1.3.3.1. Etudes autoradiographiques	p. 27
1.3.3.1.1. Incorporation de la 5-HT- ³ H et de la DA- ³ H	p. 27
1.3.3.1.2. Action de l' α -bungarotoxine-I 125	p. 29
1.3.3.2. Etude biochimique de l'activité cholinestérasique	p. 30
1.3.3.2.1. Obtention des vers	p. 30
1.3.3.2.2. Préparation des homogénats	p. 30
1.3.3.2.3. Dosage de l'activité de la BChE (E.C.3.1.1.8.)	p. 30

1.3.3.2.4. Dosage des protéines	p. 31
1.3.2.2.5. Expression des résultats	p. 31
1.4. <u>Les résultats</u>	p. 31
1.4.1. Cellules fuchsinophiles et recherche de neurosécrétion	p. 31
1.4.1.1. Adultes	p. 31
1.4.1.2. Stades larvaires	p. 32
1.4.1.2.1. Miracidium intraovulaire	p. 32
1.4.1.2.2. Cercaires intrasporocystiques	p. 33
1.4.2. Etude quantitative des structures subcellulaires des fibres nerveuses	p. 34
1.4.3. Etude autoradiographique de l'incorporation de la 5-HT- ³ H et de la DA- ³ H	p. 35
1.4.3.1. 5-HT- ³ H	p. 35
1.4.3.1.1. Adultes	p. 35
1.4.3.1.2. Sporocystes	p. 36
1.4.3.2. Incorporation de la 5-HT- ³ H après l'incubation dans la DA "froide"	p. 36
1.4.3.2.1. Adultes	p. 36
1.4.3.2.2. Sporocystes de deuxième génération	p. 36
1.4.3.3. Incorporation de la DA- ³ H	p. 36
1.4.3.3.1. Adultes	p. 36
1.4.3.3.2. Sporocystes de deuxième génération	p. 37
1.4.3.3.3. Miracidium intraovulaire	p. 37
1.4.4. Etude autoradiographique de la localisation de l' α -bungarotoxine-I 125	p. 38
1.4.4.1. Résultats autoradiographiques	p. 38
1.4.4.2. Effets de l' α -bungarotoxine-I 125 sur la morphologie et la motilité de <i>S. mansoni</i>	p. 38
1.4.5. Détermination de l'activité cholinestérasique	p. 38
1.4.5.1. Effet de la méthode de préparation des homogénats	p. 38
1.4.5.2. Activité de la BChE de <i>S. mansoni</i>	p. 38
1.4.5.3. L'effet du pH	p. 40
1.4.5.4. L'effet de la température	p. 40

1.5. <u>Discussion</u>	p. 40
1.5.1. Aspects morphologiques	p. 40
1.5.1.1. Cellules fuchsinophiles et neurosécrétion chez <i>S. mansoni</i>	p. 40
1.5.1.2. Etude quantitative des structures subcellulaires neuroplasmiques	p. 43
1.5.2. Aspects expérimentaux	p. 44
1.5.2.1. 5-HT- ³ H et DA- ³ H chez les adultes	p. 44
1.5.2.2. 5-HT- ³ H et DA- ³ H chez les stades larvaires	p. 47
1.5.2.3. 5-HT- ³ H et DA- ³ H dans <i>Biomphalaria glabrata</i>	p. 47
1.5.2.4. La DA- ³ H incorporée par les cellules du chorion de l'intestin du Hamster	p. 47
1.5.2.5. α -bungarotoxine-I 125	p. 48
1.5.2.6. Activité butyrylcholinestérasique de <i>S. mansoni</i>	p. 48
1.6. Conclusions sur l'étude du système nerveux de <i>S. mansoni</i>	p. 51
2. OBSERVATIONS SUR LE PARENCHYME DE <i>SCHISTOSOMA MANSONI</i> ADULTE	p. 54
2.1. Introduction	p. 54
2.2. Matériel et méthodes	p. 55
2.3. Résultats	p. 55
2.3.1. Le parenchyme au niveau photonique	p. 56
2.3.2. Ultrastructure	p. 58
2.4. Discussion	p. 59
3. CONCLUSIONS GENERALES	p. 60
4. RESUME	p. 62
4.1. Historique des recherches sur le système nerveux et le parenchyme de <i>Schistosoma</i>	p. 62
4.2. Résultats et discussion	p. 63
4.2.1. Cellules fuchsinophiles et recherche de la neurosécrétion	p. 63
4.2.2. Structures subcellulaires des neurites	p. 64

4.2.3. Etudes autoradiographiques	p. 64
4.2.3.1. Incorporation de la 5-HT- ³ H	p. 64
4.2.3.2. Incorporation de la DA- ³ H	p. 65
4.2.4. Etude biochimique : détermination de l'activité de la BChE de <i>Schistosoma</i>	p. 65
4.2.5. Etude cytologique du parenchyme	p. 66
5. BIBLIOGRAPHIE	p. 67

REMERCIEMENTS

Au moment de présenter cette thèse, je tiens à remercier Monsieur le Professeur DURCHON de m'avoir permis de poursuivre mes recherches dans le cadre de son laboratoire prestigieux, et d'avoir mis à ma disposition les recours matériels et techniques nécessaires. Je tiens à le remercier pour ses conseils sur l'orientation future de ma carrière. Je lui suis très reconnaissant de m'avoir fait le grand honneur de présider cette thèse.

Je tiens tout particulièrement à remercier Mme le Professeur DHAINAUT-COURTOIS de l'enthousiasme qu'elle a su me transmettre sur les problèmes posés par l'étude du système nerveux des Invertébrés et de ses orientations théoriques et pratiques générales. Elle a bien voulu lire plusieurs fois mon manuscrit et discuter avec une grande patience des aspects multiples de mon travail. Je voudrais qu'elle trouve ici le témoignage de mon admiration et de ma vive reconnaissance.

Je suis très reconnaissant envers Monsieur le Professeur DHAINAUT qui est un guide particulièrement précieux dans le domaine autoradiographique. Qu'il soit assuré de mon respect et de toute ma reconnaissance.

C'est pour moi un grand honneur que Monsieur le Professeur BIGUET, le prestigieux Professeur lillois de Parasitologie, à qui je veux exprimer vivement mon admiration et mon attachement, accepte de faire partie du Jury. Il m'a aidé chaleureusement dès mon arrivée en France, avec beaucoup de patience et d'amitié.

Monsieur le Professeur DEBLOCK a eu la bienveillance de m'accueillir en permanence dans son laboratoire de Parasitologie. J'ai pu toujours profiter de son jugement rigoureux et amical. Il me fait aujourd'hui l'honneur de faire partie de ce Jury. Je veux exprimer ici ma profonde gratitude.

C'est sous la haute compétence de Monsieur le Professeur VERNES, que j'ai développé l'activité hospitalière simultanément avec la recherche. J'ai eu le plaisir de partager avec lui des activités multiples. Cela m'a permis de saisir une certaine philosophie des sciences biomédicales et parasitologiques où la recherche, la tâche hospitalière et l'enseignement, trouvent leur juste place. Je veux exprimer ici mon admiration et mon respectueux attachement.

Monsieur le Professeur BUEDING (Johns Hopkins University, Maryland, U.S.A.) a eu la gentillesse de juger les résultats préliminaires de mes expériences autoradiographiques. Qu'il trouve ici le témoignage de ma gratitude.

Je suis très reconnaissant envers MM. les Professeurs OSIMANI et MANE-GARZON (Montevideo, Uruguay) dont j'ai pu bénéficier du dynamisme et de la culture. Ils m'ont orienté lorsque j'ai commencé ma carrière de chercheur, et ils m'ont toujours encouragé.

Je remercie également Monsieur le Professeur CAPRON de s'être intéressé à mon travail et de m'avoir encouragé à plusieurs reprises.

Je tiens à remercier également le Dr J.L. GENTILINI qui, par l'intermédiaire du jeune biologiste M. JAOUI, m'a aidé pour la détermination de l'activité cholinestérasique.

Je remercie vivement le personnel technique de l'INSERM et du Service de Biologie Animale, tout particulièrement Mme BONET, technicienne en microscopie électronique et autoradiographique, qui s'est occupée des aspects techniques avec compétence, célérité et gentillesse.

Je dois aussi remercier particulièrement M. MONTAGNE de m'avoir aidé dans le domaine technique : qu'il soit assuré de ma gratitude.

M. LAZARECKI et Mme AUGER ont collaboré efficacement dans la partie photographique. M. et Mme HIMPENS, Melle SOOTS et M. DEREMAUX, lorsque j'ai fait appel à leur aide, m'ont toujours montré beaucoup de gentillesse et d'amitié.

M. LEPACE et M. JOSE (INSERM) ont assuré l'entretien des animaux. Qu'ils soient assurés de ma gratitude.

Melle AYOUCHE, ancien interne des Hôpitaux de Tourcoing a bien voulu traduire amicalement la bibliographie en allemand. Qu'elle trouve ici le témoignage de ma gratitude.

Melle ANDRIEU, mycologiste de l'INSERM, m'a aidé, avec beaucoup de patience et d'amitié, à améliorer mon expression orale en français.

Les Docteurs POULAIN, JACKELINE, MOREAU et CHARET de l'INSERM (U.42), m'ont aidé à plusieurs reprises en discutant avec moi des différents aspects de mon travail.

Mes amis, les Docteurs ABDEL-MALEK et ABDELLATIFI (Hôpitaux de Tourcoing), ont eu la gentillesse de s'intéresser à mes recherches et de m'aider très amicalement.

Je ne veux pas terminer cette page sans vouloir exprimer mon affection et ma profonde reconnaissance envers ma femme Norah et mes trois filles, Paula, Béatrice et Mathilde, qui m'ont soutenu et accompagné en permanence pendant ces trois premières années de notre vie en France.

RECHERCHES SUR
LE SYSTÈME NERVEUX
ET LE PARENCHYME DE
SCHISTOSOMA MANSONI
(TREMATODA : DIGENEA)

INTRODUCTION GENERALE

Schistosoma mansoni Sambon. 1907 est le Trématode Digénétique le plus étudié. L'intérêt qu'il éveille pour les chercheurs de tous horizons est double. D'une part, la biologie de ce Trématode sanguicole est très particulière et attachante ; les schistosomes sont les Trématodes Digénétiques gonochoriques⁽¹⁾, mais les couples en copulation presque permanente produisent 100 à 150 oeufs par femelle et par jour (*S. mansoni*). Le contact hôte-parasite, dans le système vasculaire, est très intime. La production de différents types d'anticorps aux différents stades de l'infestation a permis de suivre l'évolution des rapports entre le ver et son hôte vertébré. L'étude de la composition antigénique de *S. mansoni* a permis à l'école parasitologique lilloise de proposer la théorie du "mimétisme immunologique", susceptible d'être appliquée à d'autres modèles parasitaires.

D'autre part, *S. mansoni* est d'un intérêt médical considérable. Le principal réservoir vertébré dans la nature est l'homme. Le ver est l'agent de la bilharziose ou schistosomose, une des maladies les plus importantes de par le monde en raison de sa fréquence et de sa gravité. La bilharziose intestinale

(1) La famille *Schistosomatidae* (*Digenea* : *Strigeatoidea*) et quelques genres de la famille *Didymozonidae*, rassemblent les seules espèces gonochoriques. Toutes les autres espèces sont des hermaphrodites et en général protérandriques.

a une distribution géographique qui se superpose à celle des espèces des mollusques hôtes (*Biomphalaria glabrata*, *B. pfeifferi*...). La maladie se rencontre en Afrique, où elle coexiste avec la bilharziose urinaire à *S. haematobium* et avec la bilharziose urogénitale à *S. intercalatum*, en Amérique Centrale et du Sud, où *S. mansoni* est la seule espèce représentée. Dans les régions endémiques, la fréquence est parfois très élevée. Dans le Nord-Est brésilien, sur 35 millions d'habitants, 4 millions souffrent de la maladie. Les bilharzioses atteignent 200 millions de personnes dans 70 pays. La gravité de la maladie est considérable. Si elle ne provoque que rarement la mort, elle condamne les malades à une invalidité qui peut se prolonger pendant plusieurs dizaines d'années, avec un retentissement socio-économique considérable.

L'intérêt de l'étude du système nerveux du parasite est multiple. D'une part, il faut rappeler notre ignorance de la structure des systèmes et des mécanismes nerveux chez les Plathelminthes libres et parasites. Ce que nous savons actuellement de la structure des systèmes nerveux des Plathelminthes parasites recouvre très probablement une évolution complexe et prolongée où l'adaptation à la vie parasitaire a joué un rôle important. D'autre part, la physiologie et la pharmacologie neuromusculaires des schistosomes représentent des chapitres importants pour la compréhension des mécanismes d'action de certaines drogues anti-schistosomes (SENF, 1975) ainsi que des influences possibles de certaines réponses immunologiques de l'hôte envers des enzymes participant au métabolisme des neuromédiateurs du ver (BOUT et Coll., 1974).

Schistosoma mansoni est un Plathelminthes, donc un ver acoelomate : ses organes sont inclus dans un parenchyme dont la structure et la fonction ont attiré l'attention des chercheurs depuis longtemps (LOOSS, 1895 ; PRENANT, 1922). Les organes nerveux sont aussi plongés dans ce milieu intérieur particulier.

Après deux années d'études sur le système nerveux du ver, un ensemble de faits intéressants : l'absence d'une séparation nette entre le tissu nerveux et les autres tissus, la présence de cellules libres dans le parenchyme qui sont très probablement nerveuses, l'observation de rapports complexes entre les éléments fibrocellulaires coexistants dans le parenchyme, nous a conduit à entreprendre l'étude de la structure de celui-ci.

En conclusion, notre travail a pour but de mieux connaître la biologie du ver grâce à une meilleure appréciation de la structure et de la physiologie de son système nerveux et du parenchyme. Nous nous proposons de faire d'abord une présentation de la biologie générale de *S. mansoni*, puis de développer les résultats de notre étude en deux chapitres :

- . Résultats de nos travaux sur le système nerveux du ver ;
- . Observations que nous avons pu faire sur le parenchyme.

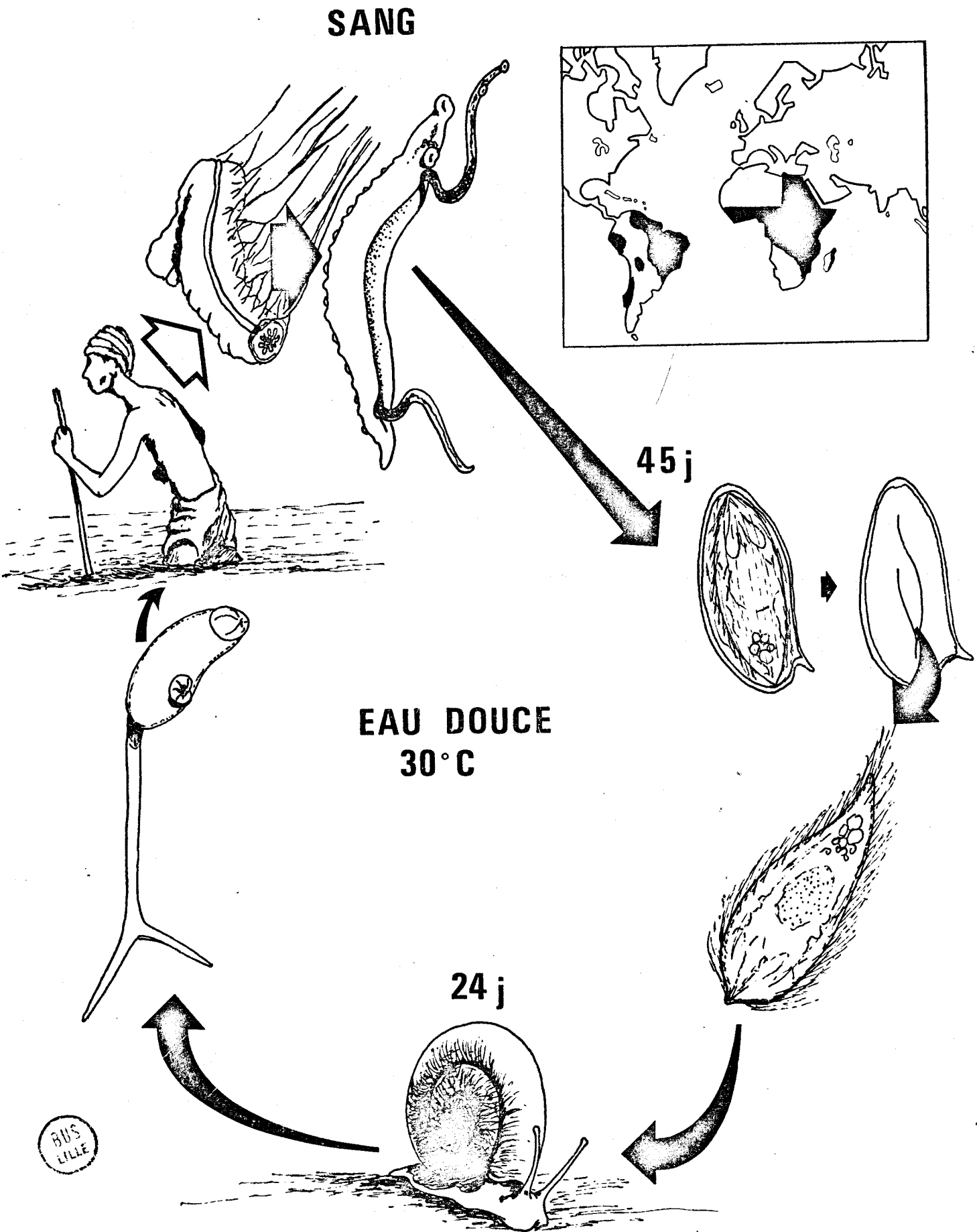


Fig. 1 - Cycle et distribution géographique de *Schistosoma mansoni*.
Original (voir texte).

RAPPEL SUR LA BIOLOGIE DE
SCHISTOSOMA MANSONI
(fig. 1)

La schistosomose humaine intestinale semble d'origine africaine. On a trouvé des oeufs de *Schistosoma mansoni* et de *S. haematobium* dans des momies égyptiennes datant de plus de 1250 ans A.C. (JORDAN, 1977). Le grand développement de la maladie en Amérique Centrale et du Sud est probablement la conséquence de l'introduction d'esclaves provenant de l'Afrique dans des régions habitées par les mollusques hôtes (*Biomphalaria glabrata*, *B. nigricans*, *B. stramineus*, *B. janairensis*, *B. incertus* et *B. tenagophilus*).

A. Le ver adulte

Le mâle adulte de *S. mansoni* mesure 7 à 16 mm de long sur 0,8 mm de large. Il possède deux ventouses (orale et ventrale ou acétabulaire), et un canal longitudinal ventral, le canal gynécophore, où est logée normalement la femelle. La femelle, plus mince et plus longue (22 mm sur 0,20 mm) que le mâle a aussi les deux ventouses caractéristiques de l'ordre.

Le mâle et la femelle habitent l'intérieur des petites veines du territoire mésentérique inférieur au niveau du colon descendant et du rectum. On peut trouver rarement des adultes dans le plexus vésical et dans les branches portales intrahépatiques.

Les adultes peuvent vivre pendant plusieurs dizaines d'années en produisant des oeufs fertiles. A partir du 30 à 35^{ème} jour après l'infestation, les vers commencent la ponte dans la lumière vasculaire. Les oeufs, mesurant 120 à 170 μ de long et 50 à 70 μ de large, sont ovalaires, non-operculés, dotés d'un éperon latéral caractéristique. L'accumulation des oeufs dans les veinules, les mouvements des adultes et les contractions de l'intestin, provoquent l'avance des oeufs vers la muqueuse intestinale. A ce niveau ils causent des ulcérations qui permettent le passage des oeufs dans la lumière intestinale. Les oeufs atteignent le milieu extérieur avec les selles. Le miracidium peut demeurer vivant à l'intérieur de l'oeuf (pendant plusieurs jours) où il se situe avec l'extrémité antérieure vers le pôle opposé à celui où est l'éperon latéral.

B. Le miracidium

Les conditions exigées pour l'éclosion sont : eau douce et température supérieure à 20°C, la température optimale étant de 28°C. Une salinité de 0,6 % inhibe l'éclosion (SMYTH, 1966) ; cela expliquerait la non-éclosion dans les selles, l'urine ou le sang.

L'éclosion semble être déclenchée par la pénétration de l'eau dans l'oeuf ; cela agirait en stimulant l'activité du miracidium, qui éclôt rapidement à travers une ouverture fusiforme et oblique de la coque.

Le miracidium cilié, mesurant 200 μ environ, ne se nourrit pas, et dans un délai de 6 à 12 heures doit trouver l'hôte intermédiaire. Le miracidium a un géotactisme négatif qui est plus intense que son phototactisme positif. L'hôte intermédiaire est un mollusque gastéropode d'eau douce, *Basommatophora Planorbidae*, du genre *Bicmphalaria*.

La pénétration dans le mollusque, qui demande 15 à 30 min., est le résultat des actions mécaniques et histolytiques exercées par le miracidium. La pénétration peut avoir lieu dans n'importe quelle zone du tégument du mollusque mais le plus souvent les miracidium "choisissent" l'extrémité céphalique. La pénétration peut déclencher une réaction inflammatoire locale des tissus du mollusque avec apparition de gonflements surtout visibles au niveau des tentacules.

C. Le sporocyste

Sous les téguments du mollusque, le miracidium qui a perdu sa couche ciliée au cours de la pénétration, se transforme en sporocyste de première génération (sporocyste 1), sorte de sac allongé à parois minces, situé dans la région céphalique. A l'intérieur du sporocyste il y a 50 à 100 cellules embryonnaires capables d'évoluer en produisant 200 à 400 sporocystes secondaires (sporocystes 2) ou de deuxième génération.

Les sporocystes 1 ne migrant pas, demeurent proches du point d'entrée. Les sporocystes 2 quittent le sporocyste 1 et migrent vers les espaces haemocoeliques qui entourent l'hépatopancréas. A l'intérieur des sporocystes 2 il y a 50 à 100 cellules embryonnaires. D'après OLIVIER et MAO (1949) les cellules embryonnaires du sporocyste 2 peuvent évoluer vers la formation de cercaires ou vers la formation de nouvelles cellules embryonnaires, qui à leur tour, vont devenir des cercaires. C'est une vraie polyembryonie. D'après FAUST et Coll. (1934), un seul miracidium peut être à l'origine de 300 000 cercaires.

L'importance de la polyembryonie est cependant en rapport avec l'état physiologique du mollusque et d'autres variables.

D. La furcocercaire

La cercaire des Schistosomes est une furcocercaire (cercaire à queue fourchue) avec les deux ventouses caractéristiques, sans pharynx, mesurant 500 μ de long (avec la queue). Dans la partie antérieure elle a plusieurs

glandes : 2 paires de glandes préacétabulaires (pourpre positives) et 3 paires de glandes postacétabulaires (pourpre négatives).

L'émergence des furcocercaires est stimulée par une lumière solaire directe. Une température de 29°C est optimale. La sortie des cercaires est active : elles quittent le sporocyste et parcourent les espaces haemocoeliques et veineux du mollusque pour arriver aux espaces périrectaux, aux pseudobranchies et à la région céphalique du mollusque. Les cercaires traversent le tégument de ces régions et atteignent l'eau ; l'activité métabolique est 10 fois plus grande que celle des adultes (HUNTER et VERNBERG, 1955).

Les furcocercaires ne se nourrissent pas. Elles ont un phototactisme positif et un géotactisme négatif.

La pénétration dans l'hôte définitif peut se faire par la peau ou à travers les muqueuses (après ingestion) ; elle s'opère en 15 à 20 minutes et produit souvent une irritation locale intense. L'action des enzymes lytiques qui atteignent les glycoprotéines inter cellulaires, ainsi que la mobilité spectaculaire déployée par la cercaire, expliqueraient la pénétration.

E. Le schistosomule

Les furcocercaires, qui ont perdu la queue au cours de la pénétration, et qui ont subi la transformation en schistosomules, arrivent dans la couche dermique et pénètrent dans les vaisseaux lymphatiques et sanguins. Par la circulation veineuse ils atteignent le coeur droit et les poumons. Chez la souris, la concentration maximum des schistosomules dans le poumon est atteinte vers les 7ème à 9ème jours après l'infestation. Pendant le séjour pulmonaire les schistosomules ne pratiquent pas l'hématophagie et n'augmentent pas de taille. Leurs cellules ne subissent pas de mitoses. Les schistosomules arrivent aux artérioles et capillaires pulmonaires par les veines pulmonaires. Les schistosomules qui tombent dans la cavité pleurale sont détruits. Par le coeur gauche les schistosomules arrivent à la circulation générale puis en n'importe quel point de l'organisme. Seuls les schistosomules arrivant au système porte intrahépatique pourront continuer le développement.

Les schistosomules pratiquent l'hématophagie dans le foie. Les cellules schistosomuliennes ont une activité mitotique considérable, ce qui se traduit par une augmentation considérable de leur taille.

Vers les 24ème à 30ème jours après l'infestation, les vers commencent une migration à contre-courant (rhéotropisme négatif) dans la veine porte vers les veinules mésentériques. Les vers vont se localiser alors dans le territoire de la veine mésentérique inférieure et dans la portion inférieure du territoire veineux mésentérique supérieur.

Les schistosomules se localisent dans les veinules, atteignent l'état adulte puis copulent.

Vers le 28ème à 30ème jours après l'injection débute la gamétogénèse.

Vers le 35ème jour la ponte commence. Les oeufs contenant un miracidium vivant apparaissent dans les selles 10 jours après. Les adultes sont hémato-phages pendant toute leur vie.

1. LE SYSTEME NERVEUX DE *SCHISTOSOMA MANSONI*

1.1. Historique

1.1.1. Recherches morphologiques et histochimiques

FRITSCH (1885, 1888), LEUCKART (1893) et LORTET et VIALLETON (1894) ont décrit le système nerveux des schistosomes. Cependant, la première monographie sur le parasite qui contient une description complète du système nerveux des schistosomes, est celle de LOOSS (1895). L'auteur figure le système nerveux du ver (fig. 2) et signale qu'il est formé par deux ganglions périoesophagiens situés à mi-distance entre les deux ventouses. Selon LOOSS (1895) les ganglions cérébraux sont constitués essentiellement par des fibres. Les cellules sont disposées sur la surface extérieure des ganglions. Elles mesurent 10 à 25 μ , ont un noyau ovalaire avec un caryosome central et quelques fins filaments chromatiniens. LOOS décrit trois paires de nerfs antérieures et deux paires postérieures prenant naissance au niveau des ganglions. Le même auteur signale que les cellules nerveuses ou ganglionnaires ne sont pas situées dans le trajet des nerfs mais dispersées dans le parenchyme. Elles ont le même aspect que les cellules ganglionnaires. Les cellules nerveuses se trouveraient en nombre assez important dans le parenchyme des deux ventouses. LOOSS suppose qu'elles sont connectées avec les troncs nerveux par de fins faisceaux (cf fig. 2).

Les études monographiques sur les schistosomes faites par FAUST et Coll. (1934) et par GÖNNERT (1955) n'ajoutent pas d'éléments nouveaux à l'ancienne description de LOOSS (1895).

FRIPP (1967), BUEDING et Coll. (1967) et DEI-CAS (1976) retrouvent chez *Schistosoma* le même modèle de système nerveux en mettant en évidence par histochimie l'activité cholinestérasique du ver adulte.

DEI-CAS (1976) fait la première description détaillée de la neuro-anatomie de *Schistosoma mansoni* (cf plus loin) en travaillant sur des coupes de microscopie photonique.

SILK et SPENCE (1969) et DEI-CAS (1976) font une étude ultrastructurale du système nerveux de *S. mansoni* adulte, qui contient la description des cellules nerveuses ganglionnaires et des éléments subcellulaires des fibres nerveuses. DEI-CAS (1976) localise pour la première fois au niveau ultrastructural l'activité cholinestérasique de *S. mansoni* adulte.

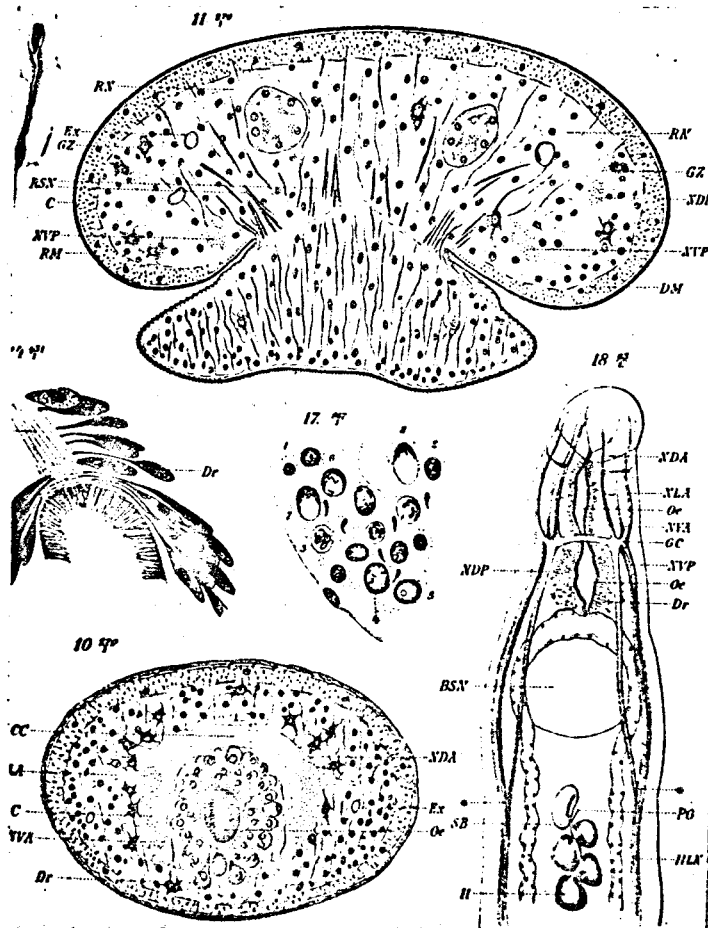


Fig. 2 - Reproduction photographique de la Planche II de la monographie de LOOSS (1895) sur *Schistosoma*. En bas, à droite, le système nerveux de la forme adulte.

1.1.2. Recherches sur les neuromédiateurs

Les nombreux travaux antérieurs semblent indiquer l'existence, chez *Schistosoma mansoni*, d'un système sérotoninergique stimulateur de la motilité, et d'un système cholinergique inhibiteur. Les catécholamines (= CA) bien que présentes dans le ver, ont un rôle beaucoup moins connu. La totalité des preuves exigées pour pouvoir affirmer avec certitude le rôle de neuromédiateurs des substances concernées, n'a pas encore été apportée.

1.1.2.1. Sérotonine (= 5-HT)

BENNETT et Coll. (1969) ont démontré que *S. mansoni* adulte contient 10 fois plus de 5-HT que le cerveau des Mammifères. Plusieurs auteurs (BENNETT et BUEDING, 1973 ; CHOU et Coll., 1973 ; BUEDING et Coll., 1974 ; SENFT et Coll., 1976 ; DEI-CAS et Coll., 1977) ont démontré que *S. mansoni* incorpore cette amine *in vitro*.

Les techniques d'histofluorescence ont mis en évidence la 5-HT au niveau de la commissure nerveuse en dehors des cellules. La fluorescence jaune caractéristique de la présence de 5-HT a été observée dans les troncs nerveux sous forme de structures dont la nature cellulaire n'est pas formellement

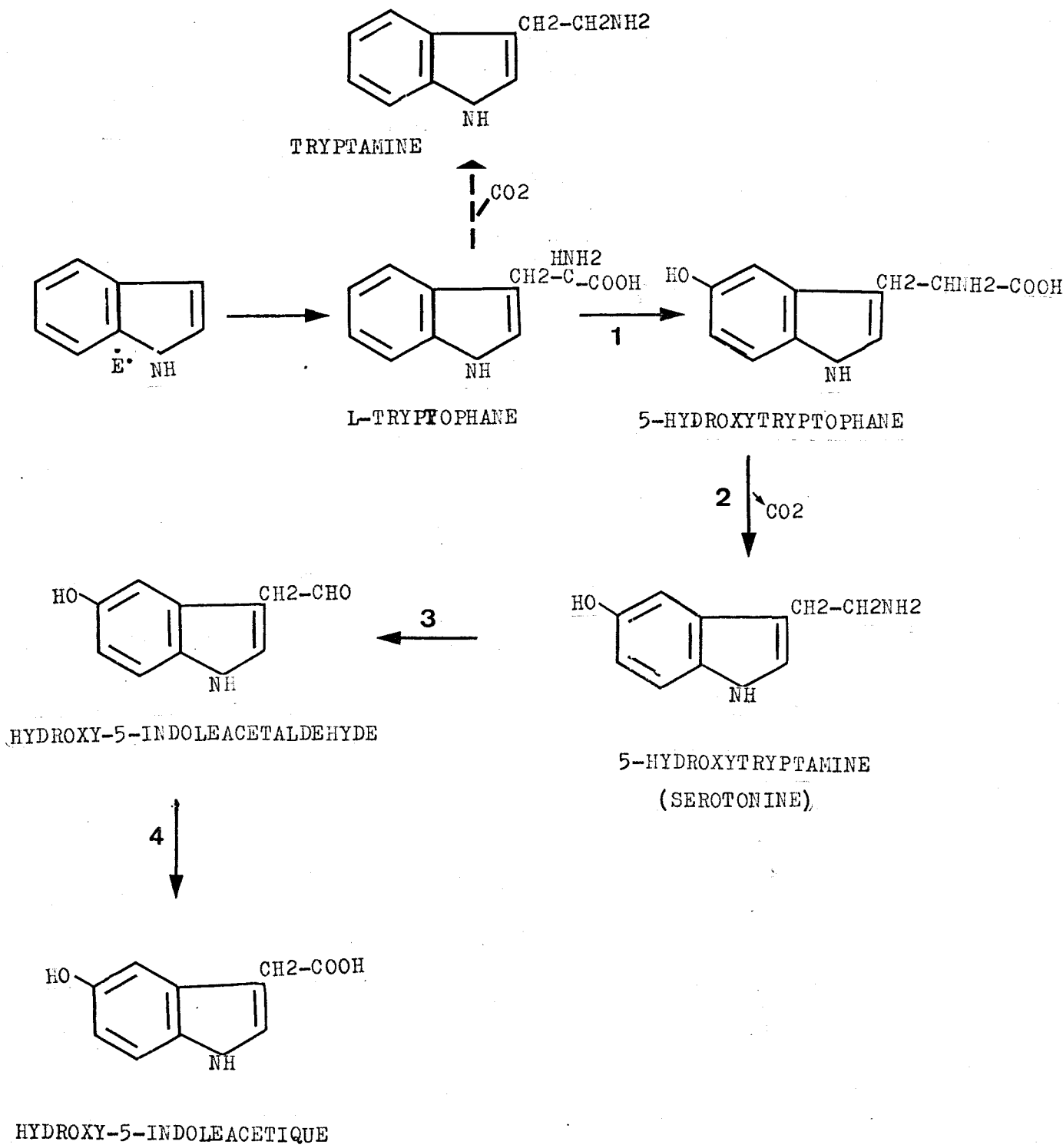


Fig. 3 - Métabolisme de la sérotonine.

1 : TP-oxygénase ; 2 : décarboxylase ; 3 : MAO ; 4 : déshydrogénase ;
(modifié de MICHAL, 1974).



démontrée. A partir de ces structures on peut noter l'émergence de fibres courtes, de fluorescence jaune, traversant le parenchyme en direction de la paroi du corps. Par ailleurs des structures de fluorescence verte, caractéristique de CA ont été également signalées le long des troncs nerveux. La fluorescence jaune peut être enfin retrouvée dans le parenchyme au niveau de granules de 2 à 3 μ de diamètre (BENNETT et BUEDING, 1971 ; DEI-CAS, 1976).

La 5-HT et les substances anticholinergiques produisent une augmentation de la motilité du ver *in vitro*. Cet effet est supprimé par l'emploi de la diéthylamide de l'acide bromolysergique et par la "vidange" préalable des sites de stockage de la 5-HT (BENNETT et BUEDING, 1973).

Les deux seules enzymes du métabolisme de la 5-HT (fig. 3) dont la présence a été démontrée chez *Schistosoma* sont la 5-HTP-décarboxylase (BENNETT et BUEDING, 1973) et la mono-aminoxydase (NIMMO SMITH et RAISON, 1968). Il semblerait que le ver soit incapable de synthétiser *de novo* cette amine biogène.

DEI-CAS et Coll. (1977) ont étudié la localisation de l'amine par des méthodes autoradiographiques au niveau photonique et ultramicroscopique. Ce travail a permis de localiser les captures de 5-HT-³H dans le système nerveux du ver adulte dans des fibres nerveuses contenant des granules denses mesurant 660 à 1200 Å.

A notre connaissance il n'existe pas d'étude sur la 5-HT chez les stades larvaires de *Schistosoma*.

1.1.2.2. CA et DA

BENNETT et Coll. (1969) et CHOU et Coll. (1972) ont trouvé chez *Schistosoma* une CA dont la concentration est 10 fois moins forte que celle de la 5-HT (0,4 μ g/g de poids frais). Les études d'histofluorescence ont montré que cette CA, la NE (= norepinephrine), se localise dans la région céphalique (au niveau de deux cellules bipolaires reliées par une commissure); dans des dilatations bulbeuses des 4 nerfs longitudinaux à partir desquelles s'organise un réseau diffus de fibres "vertes" ; dans des branches nerveuses qui à partir des nerfs longitudinaux pénètrent dans l'acétabulum ; dans deux grands neurones retroacétabulaires (BENNETT et BUEDING, 1971 ; MACHADO et Coll., 1972). Cependant MACHADO et Coll. (1972) ne trouvent pas de fibres catécholaminergiques au niveau acétabulaire.

CHOU et Coll. (1972) ont mis en évidence la DA chez *S. japonicum*, mais ils ne la retrouvent pas chez *S. mansoni*.

GIANUTSOS et BENNETT (1977), en utilisant une méthode radioenzymologique 10 fois plus sensible que celle utilisée par CHOU et Coll.

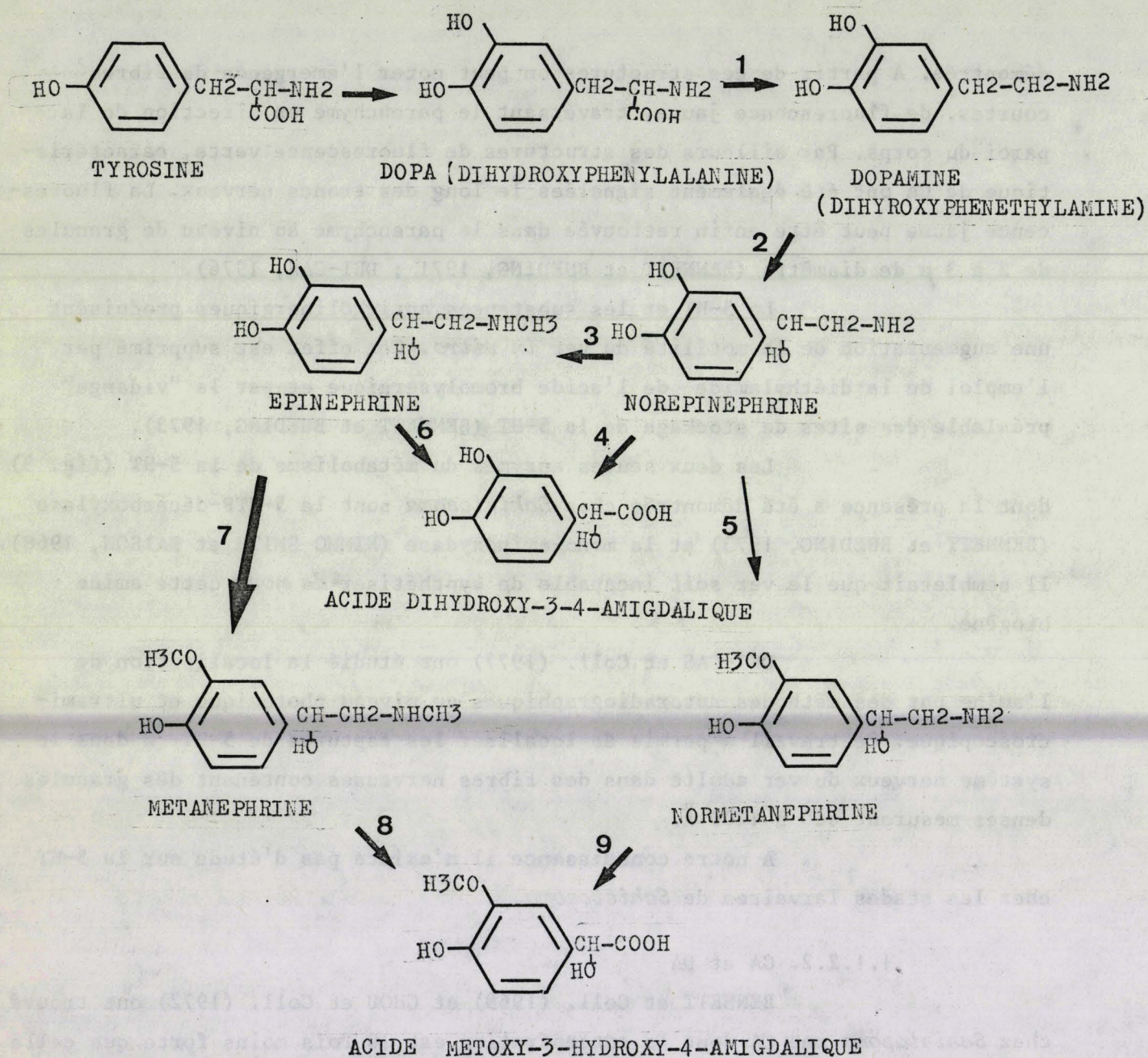


Fig. 4 - Métabolisme des catécholamines.

1 : DOPA-décarboxylase ; 2 : dopamine-hydroxylase ; 3 : méthylase ;
 4, 6, 8 et 9 : aminoxydase ; 5 et 7 : catéchol-O-méthyl-transférase.
 (Modifié de KUSCHINSKY et LULLMANN, 1968).



(1972) trouvent la DA et la NE chez les deux sexes de *S. mansoni*. Les concentrations de DA et de NE sont 2 à 3 fois plus élevées chez la femelle que chez le mâle. Les deux amines semblent plus concentrées dans la région céphalique des vers. Pour la DA, les concentrations sont : $7,4 \pm 0,98$ ng/mg (femelle) et $2,96 \pm 0,74$ ng/mg de protéine (mâle). Pour la NE, les chiffres sont les suivants : $10,9 \pm 2,19$ ng/mg (femelle) et $3,53 \pm 0,91$ ng/mg de protéine (mâle).

BENNETT et BUEDING (1973) apportent des indications sur la présence de la DOPA-décarboxylase, enzyme essentielle pour la synthèse des DA, NE et E (fig. 4). L'incubation du ver dans un milieu contenant le L-DOPA a permis de mettre en évidence la DA, mais n'a pas augmenté la concentration de la NE. L'histofluorescence pratiquée sur ces vers incubés avec la L-DOPA semble indiquer que la DA occupe les sites de stockage de la NE (BENNETT et BUEDING, 1973).

La NE est aussi incorporée activement mais l'efficacité de la capture représente 17 % de celle de l'incorporation de la 5-HT (BENNETT et BUEDING, 1973).

L'incubation de *Schistosoma* dans un milieu contenant la DA, la NE, l'apomorphine, l'épinephrine (= E), ou l'isoprotérénol, entraîne un allongement des vers. Cet effet est inhibé par des substances anti-DA, mais non par les β -bloquants, excepté par la di-hydroergotamine (TOMOSKY et Coll., 1974).

Il n'y a pas, à notre connaissance, d'études sur les CA des phases larvaires de *Schistosoma*.

La fig. 4 rappelle le métabolisme des CA.

1.1.2.3. Acétylcholine (=ACh)

Après le travail de BUEDING (1952) qui détermine pour la première fois l'activité acétylcholinestérasique (AChE, E.C.3.1.1.7) et butyrylcholinestérasique (BChE, E.C.3.1.1.8) dans les extraits de *Schistosoma mansoni* adulte des deux sexes, un ensemble de preuves histochimiques (BUEDING et Coll., 1967 ; FRIPP, 1967 ; DEI-CAS, 1976), pharmacologiques et physiologiques indique l'existence dans le ver d'un système cholinergique inhibiteur de la motilité.

BARKER et Coll. (1966) ont démontré une action de type acétylcholinergique dans des homogénats de *Schistosoma mansoni* adulte. BUEDING (1952), BUEDING et Coll. (1972), BUEDING et FISHER (1973) ; GEAR et FRIPP (1974), HILLMAN et SENFT (1975) et TOMOSKY-SYKES et BUEDING (1977) ont mesuré l'activité de l'acétylcholinestérase (AChE) dans les homogénats du ver. BUEDING (1952), BUEDING et Coll. (1972) et nous mêmes, dans le chapitre correspondant de cette

Tableau 1 - Principales recherches sur les neuromédiateurs de *Schistosoma*.

	5-HT	CA et DA	ACh et ChE
Concentration dans le Ver adulte	0,4 µg/g poids humide (BENNETT et Coll., 1969).	NE : 0,04 µg/g poids humide (environ) (BENNETT et Coll., 1969 ; CHOU et Coll., 1972). 10,9 ng/mgP ⁽¹⁾ (femelle) 3,53 ng/mgP (mâle) (GIANUTSOS et BENNETT, 1977). DA : 2,96 ng/mgP (mâle) 7,4 ng/mgP (femelle) (GIANUTSOS et BENNETT, 1977).	ACh : 0,01 à 0,02 µg/ml (BARKER et Coll., 1966) AChE : 5,8 à 6,4 µl CO ₂ /mg poids sec (mâle) ; 5,6 à 6,7 µl CO ₂ /mg poids sec (femelle) (BUEDING, 1952). 51,5 ± 5,5 mU/mgP (BUEDING et Coll., 1972). (GEAR et FRIPP, 1974 ; HILLMAN et SENFT, 1975 ; TOMOSKY-SYKES et BUEDING, 1977). BChE : 1,2 à 2 µl CO ₂ /mg poids sec (mâle) ; 1,3 à 1,75 µl CO ₂ /mg poids sec (femelle) (BUEDING, 1952). 13,7 mU/mg P (BUEDING et Coll., 1972).
Localisation	SN ⁽²⁾ BENNETT et BUEDING, 1971 ; DEI-CAS, 1976	SN BENNETT et BUEDING, 1971 MACHADO et Coll., 1972	ChE : SN (PEPLER, 1958 ; LEWERT et HOPKINS, 1965 ; FRIPP, 1967 ; BUEDING et Coll., 1967 ; BRUCKNER et VOGEL, 1974 ; DICONZA et BASCH, 1975 ; DEI-CAS, 1976).
Incorporation <i>in vitro</i>	BENNETT et BUEDING, 1973 ; CHOU et Coll., 1973 ; BUEDING et Coll., 1974 ; SENFT et Coll., 1976. En autoradiographie (ultrastructure) DEI-CAS et Coll., 1977.	BENNETT et BUEDING, 1973	-
Enzymes du métabolisme du neuromédiateur	5-HTP-décarboxylase BENNETT et BUEDING, 1973 M.A.O. NIMMO-SMITH et RAISON, 1968	DOPA-décarboxylase BENNETT et BUEDING, 1973 M.A.O. NIMMO-SMITH et RAISON, 1968	Choline-acétylase (BUEDING, 1952)
Effets <i>in vitro</i> sur le Ver	Augmentation de la motilité (plusieurs auteurs).	DA, NE et E : allongement des Vers TOMOSKY et Coll., 1974	ACh : Diminution de la motilité (plusieurs auteurs).

(1) mgP : milligrammes de protéines.

(2) SN : système nerveux.



contribution, apportent les résultats du dosage de l'activité de la butyrylcholinestérase (BChE) de *S. mansoni*. BUEDING (1952) rapporte la présence d'activité choline-acétylasique chez le ver.

Plusieurs auteurs (cf chapitre correspondant) ont précisé par voie histochimique la localisation de l'activité cholinestérasique chez *S. mansoni* au niveau de la microscopie photonique. Nous avons démontré cette activité au niveau de la microscopie électronique (DEI-CAS, 1976).

BUEDING et Coll. (1972) ont étudié les effets du métrifonate et de son catabolite, le dichlorvos, sur l'activité cholinestérasique de *Schistosoma*. Au cours des études sur l'hycanthone, une drogue anti-schistosome, HILLMAN et GIBLER (1975) en employant un dérivé de la choline (DNS-Chol.) ont mis en évidence par histofluorescence les sites récepteurs cholinergiques. Cependant TOMOSKY-SYKES et BUEDING (1977) conclurent qu'étant donné son manque de spécificité, la dérivé DNS-Chol. ne peut pas être utilisé pour la localisation histochimique des structures cholinergiques.

FRIPP et Mc SHEEHY (1969) et COLES (1970) séparent par électrophorèse la "cholinestérase" schistosomienne en plusieurs composants, en signalant des différences entre les sexes. FRIPP (1970) a proposé d'utiliser la présence de fractions cholinestérasiques différentes dans un but taxonomique.

BOUT et Coll. (1974) ont isolé par chromatographie d'affinité, l'ACHE de l'adulte de *S. mansoni* et ils ont réussi à préparer l'anti-sérum spécifique.

Le tableau 1 représente un résumé des principaux travaux faits sur les neuromédiateurs de *Schistosoma*.

1.2. Introduction et remarques préliminaires

1.2.1. Morphologie du système nerveux de *S. mansoni*

Dans cette introduction il nous a semblé essentiel de rappeler brièvement nos recherches antérieures sur le système nerveux de *Schistosoma mansoni* :

- la neuroanatomie ;
- l'histologie et la cytologie ;
- l'ultrastructure ;
- l'histochimie et la cytochimie ultrastructurales.

Dans le chapitre "Résultats", nous avons ajouté nos recherches complémentaires sur les cellules supposées neurosécrétrices du ver, dont les premiers résultats étaient déjà dans notre D.E.A. (1976).

Enfin, nous apportons les résultats nouveaux de notre étude quantitative des structures subcellulaires des fibres nerveuses.

1.2.1.1. Remarques préliminaires

Au cours de la réalisation de cette thèse, l'analyse de la nombreuse bibliographie relative à l'ultrastructure du tissu nerveux des Trématodes et des Plathelminthes nous a permis de déceler au niveau de l'interprétation des structures, des difficultés dérivées des différences existant entre les tissus des acoelomates et ceux des autres groupes du règne animal.

En fait, nous avons souvent rencontré l'impossibilité d'appliquer à notre matériel des critères qui sont utilisés habituellement pour les tissus des vertébrés, toute extrapolation n'étant pas toujours possible.

Une première difficulté nous a été posée au cours de la description des cellules qui se trouvaient au niveau du ganglion de *Schistosoma* : lesquelles peuvent être appelées "neurones" ?

L'éventualité, fréquente, de trouver des cellules musculaires dans le ganglion nous a obligé à parler de "neurones" seulement si la morphologie de la cellule en question correspondait à la caractérisation suivante (caractérisation seulement valable au niveau de la microscopie électronique) : un neurone est caractérisé par la présence de prolongements, d'un noyau vésiculeux à nucléole souvent excentrique, des ribosomes libres ou collés à la surface externe de citernes isolées (qui ne font pas partie du système réticulaire endoplasmique granulaire), de microtubules, d'un ou de plusieurs appareils de Golgi, de granules denses à degré de "maturité" variable, souvent associés au Golgi.

Par ailleurs, il n'est pas obligatoire d'avoir tous les éléments pour pouvoir affirmer le caractère neuronal d'une cellule. Souvent, la présence de quelques uns est suffisante. D'autres structures peuvent également s'ajouter (p. ex. granules de glycogène).

D'autre part, la distinction entre axone et dendrite, sauf dans le cas des synapses où il est facile d'identifier les structures pré- et post-synaptiques, est souvent impossible. En principe, un axone est caractérisé par la présence de mitochondries et par l'absence de ribosomes. La présence d'un contour irrégulier, de ribosomes et d'épines dendritiques (WOLFE, 1961),

caractérise les dendrites. Néanmoins il n'est pas démontré que les critères cités soient applicables au tissu nerveux des Plathelminthes. Pour cela, l'emploi du terme "neurite", proposé par WEBB et DAVEY (1976) et utilisé parmi d'autres auteurs par GILLOTEAUX (1977), nous a semblé plus adéquat.

1.2.1.2. Neuroanatomie

D'après DAWES (1946, p. 53), HYMAN (1951, p. 226), BAER et JOYEUX (1961, *in* GRASSE, vol. IV, p. 603), RHODE (1968) et RAMISZ et SZANKOWSKA (1970), le modèle de système nerveux le plus souvent retrouvé chez les *Trematoda Digenea* consiste en deux ganglions reliés par une large commissure dorsale. Chaque ganglion émet 3 nerfs antérieurs et 3 nerfs postérieurs. Parmi ces derniers, le *Nervus lateralis* est souvent absent dans les formes allongées.

Le système nerveux central de *Schistosoma mansoni* est formé de deux ganglions latéraux symétriques, situés à mi-distance entre la ventouse orale et l'acetabulum et réunis par une commissure dorsale ou sus-oesophagienne (Pl. II, figs 1 et 2).

Chaque ganglion se présente sous une forme plus ou moins pyramidale à sommet orienté vers la face dorsale.

Les faces distale et proximale à l'oesophage de chaque ganglion sont respectivement convexe et concave. La première est en rapport avec une grande cellule flamigère du système protonéphridial située constamment au niveau du ganglion dans le parenchyme. Cette dernière est en rapport avec l'oesophage et ses cellules glandulaires.

La commissure dorsale a une section transversale ovale dont l'axe longitudinal a un pôle antéroventral et l'autre postérodorsal (Pl. II, fig. 3).

De chaque ganglion se détachent 2 groupes de nerfs principaux (Pl. II, figs 1 et 2).

Le groupe antérieur comprend trois nerfs : le *Nervus ventralis* antérieur, le *Nervus lateralis* antérieur et le *Nervus dorsalis* antérieur.

Des trois nerfs, le plus gros est le *Nervus ventralis* antérieur qui se ramifie abondamment, envoyant : 1) des branches à la ventouse orale, 2) un connectif pour le *Nervus lateralis* antérieur et 3) des branches qui le mettent en rapport avec le *plexus* périoesophagien.

Le *Nervus lateralis* antérieur a un diamètre moyen par rapport aux diamètres des autres nerfs. Près de son origine, il émet une branche reliée au *plexus* périoesophagien : le *Nervus oesophagealis*.

Le *Nervus dorsalis* antérieur donne beaucoup de branches qui entrent dans la ventouse orale et aussi dans le *plexus* périoesophagien. Ce *plexus* met en rapport les trois nerfs du groupe antérieur.

Le groupe postérieur de chaque ganglion comprend 2 nerfs principaux : le *Nervus ventralis* postérieur et le *Nervus dorsalis* postérieur. Près de l'origine de ces 2 nerfs, il en existe d'autres, plus petits, reliés, semble-t-il, au *plexus* périoesophagien.

Le *Nervus ventralis* postérieur est plus gros que le *Nervus dorsalis* postérieur. A la base de l'acétabulum, au niveau des régions antérieure et postérieure, les 2 nerfs *ventralis* postérieurs sont réunis par les 2 commissures préacétabulaire et postacétabulaire (Pl. IV, fig. c).

Nous avons trouvé chez *Schistosoma mansoni* un système nerveux dont la structure est conforme au modèle général ; il est différent de celui décrit par FRIPP (1967) et rejoint la description classique de LOOSS (1895).

Notre conclusion relative à l'absence, chez *Schistosoma*, du *Nervus lateralis* postérieur est en accord avec l'affirmation de HYMAN (1951): "... the lateral cords may be absent in elongated types" (p. 226).

1.2.1.3. Histologie et cytologie du système nerveux

Dans les coupes histologiques classiques et dans les coupes semi-fines (Pl. III, figs a et b), les ganglions se présentent sous l'aspect de 2 masses fibrillaires, situées de chaque côté de l'oesophage, qui émettent les grands nerfs par leurs angles latéraux. Les cellules sont à la surface de chaque masse fibrillaire. Les ganglions et les nerfs n'ont pas de gaine : ils sont en rapport direct avec le parenchyme. Nous n'avons pas trouvé plus de 3 à 5 cellules dans chaque ganglion. Les cellules ganglionnaires, mesurant 7 à 10 μ de diamètre, ont leur contour net. Leur forme est plus ou moins étoilée. Il est difficile de suivre les prolongements qui disparaissent dans le parenchyme.

Dans les coupes semi-fines colorées au bleu azur et au bleu de toluidine, le cytoplasme est bleu pâle et le noyau est rond avec un nucléole fortement coloré (Pl. III, fig. a). Un mince dépôt chromatinien se trouve sur la face interne de l'enveloppe nucléaire. Les cellules ganglionnaires que nous venons de décrire sont assez différentes des cellules musculaires à cytoplasme bleu foncé, et des cellules tégumentaires, qui ont une chromatine disposée en plusieurs grosses mottes et un cytoplasme encore plus foncé que celui des cellules musculaires.

1.2.1.4. Etudes histochimiques et de cytochimie ultrastructurale

1.2.1.4.1. Colorations histochimiques pratiquées sur l'adulte

Glucides. La réaction de l'A.P.S., avec oxydation par l'acide périodique pendant 2 minutes et 4 minutes et réduction pendant 1 minute et 30 secondes et 8 minutes respectivement, est positive dans : l'épithélium digestif, les fibres conjonctives du parenchyme et la lame basale du tégument. Nous n'avons pas vu de réaction positive au niveau des structures nerveuses. Une oxydation de 10 minutes et une réduction de 3 minutes déterminent une coloration excessive et non-spécifique des coupes (DEI-CAS, 1976).

Protides. Lorsqu'on fait agir le réactif de Schiff pendant 10 minutes et 50 minutes, la réaction de la ninhydrine détermine une coloration pâle, homogène et non-spécifique des coupes (DEI-CAS, 1976).

Lipides. Pour confirmer la nature lipidique des structures arrondies présentes constamment dans le parenchyme des adultes, surtout du mâle, nous avons appliqué sur des coupes semi-fines la technique d'EURENIUS et JARSKÄR (1970), qui a donné des résultats positifs. Le parenchyme des adultes est donc parsemé de gouttelettes osmiophiles de nature lipidique, plus abondantes chez le mâle.

1.2.1.4.2. Mise en évidence des amines biogènes chez l'adulte

L'application de la technique de FALCK et OWMAN (1965) pour la détection qualitative des amines biogènes chez *S. mansoni* a montré une fluorescence jaune au niveau des troncs nerveux et, d'une manière plus dispersée, dans les ganglions. Nous n'avons pas observé de zones à fluorescence verte (DEI-CAS, 1976).

Cette étude a confirmé les résultats de BENNETT et BUEDING (1970, 1971), MACHADO et Coll. (1972), CHOU et Coll. (1972) et TOMOSKY et Coll. (1974). D'après ces auteurs, chez *S. mansoni*, la 5-HT serait l'amine biogène la plus importante du point de vue quantitatif (BENNETT et Coll., 1969). BENNETT et BUEDING (1973) ont démontré l'existence d'un mécanisme de capture pour la 5-HT. Ce fait renforce l'hypothèse d'un rôle de neurotransmetteur pour cette substance (cf 1.5.2.).

1.2.1.4.3. Localisation de l'activité cholinestérasique chez *Schistosoma mansoni*

L'activité cholinestérasique a été démontrée histochimiquement dans le miracidium (PEPLER, 1958 ; BRUCKNER et VOGEL, 1974),

dans les sporocystes (DI CONZA et BASCH, 1975), dans la cercaire (LEWERT et HOPKINS, 1965 ; BRUCKNER et VOGEL, 1974) et chez l'adulte (FRIPP, 1967 ; BUEDING et Coll., 1967) de *S. mansoni*.

Nous avons appliqué la technique de GWYN et HEARDMAN (1965) sur l'adulte (DEI-CAS, 1976) et la cercaire de *S. mansoni*, en arrivant à des résultats semblables à ceux qu'ont obtenus les autres auteurs au niveau de la microscopie photonique.

Chez le mâle et la femelle (Planche IV, figs c et d), l'activité cholinestérasique est présente dans les ganglions, les commissures dorsale, préacétabulaire et postacétabulaire, les nerfs des groupes antérieur et postérieur qui prennent naissance dans le ganglion, le contenu oesophagien et dans l'épithélium du même organe.

Le temps de fixation 1-10 minutes au formol 4 % n'a pas influencé les résultats. Une température d'incubation de 37°C et un temps d'incubation de 3 heures ont été optima.

L'inhibition complète de la réaction par l'ésérine a confirmé la présence d'activité cholinestérasique dans la phase adulte de *S. mansoni*.

L'application de la technique de GWYN et HEARDMAN (1965) sur les cercaires libres, montre l'activité enzymatique intense dans les ganglions et, plus faible, au niveau de la commissure nerveuse.

Nous avons observé chez *S. mansoni*, pour la première fois en microscopie électronique, une activité acétylcholinestérasique spécifique (DEI-CAS, 1976 ; DEI-CAS et DHAINAUT-COURTOIS, 1977).

L'incubation de vers après une fixation par le glutaraldéhyde de 3 heures, dans un milieu à base de AcThChI, à 4°C, 20°C et 37°C (technique de KARNOVSKY et ROOTS, 1964), démontre au niveau de certaines terminaisons une activité cholinestérasique localisée dans les espaces interaxonaux et neuromusculaires. En effet, seules les terminaisons de moins de 7000 Å de diamètre présentent le dépôt noir, signe de l'activité cholinestérasique.

Nous avons donc constaté :

- la présence d'activité acétylcholinestérasique dans les espaces interaxonaux et neuromusculaires des fibres plus petites ;
- l'absence de cette activité dans les cellules des ganglions et dans les sections des fibres plus grosses.

Ces terminaisons présentant une réaction positive sont localisées à la périphérie des ganglions et dans le parenchyme sous-tégumentaire (Pl. IV, figs a, e et f).

Nous n'avons pas trouvé de différences sensibles entre les vers incubés à diverses températures. Il convient toutefois de signaler qu'à 37°C les dépôts noirs non-spécifiques, de nature cristalline sont plus nombreux.

Au niveau des cellules du ganglion (Pl. IV, figs a et e) et dans les fibres plus épaisses des commissures et des nerfs, nous n'avons pas détecté d'activité cholinestérasique.

Rarement nous avons observé l'activité cholinestérasique autour du péricaryon et des prolongements de cellules musculaires (Pl. IV, fig. b).

Les coupes de vers incubés dans un milieu contenant de l'iso-OMPA montrent aussi l'activité cholinestérasique avec la même distribution.

Les coupes incubées dans un milieu de BW 284 C 51 ne montrent aucune activité.

Nous avons retrouvé la même distribution de l'activité cholinestérasique après incubation avec l'iso-OMPA, ce qui veut dire qu'il s'agit d'une activité acétylcholinestérasique spécifique.

Les résultats en microscopie électronique correspondent à ceux de la microscopie photonique.

Bien que la présence d'activité acétylcholinestérasique suggère la présence d'une activité motrice et sensorielle (FRIPP, 1967), l'acétylcholinestérase peut être liée à d'autres phénomènes. En effet, SCHWABBE, KOUSSA et ACRA (1961) suggèrent que l'acétylcholinestérase contrôle le transport du glucose vers l'intérieur de la larve hydatique d'*Echinococcus*.

Nous n'avons pas trouvé d'activité acétylcholinestérasique ni dans les cellules flamigères, ni dans le tégument ou l'appareil génital de *S. mansoni*.

1.2.1.5. Recherche de neurosécrétion et de cellules fuchsinophiles chez *Schistosoma mansoni*

Les travaux relatifs au système nerveux de *Schistosoma mansoni* sont nombreux. Cependant, avant nos contributions (DEI-CAS, 1976 et 1977), nous n'avons trouvé que trois références sur l'existence possible de phénomènes neurosécrétoires chez le parasite.

La première est celle de SILK et SPENCE (1969) ; ces auteurs émettent l'hypothèse que les granules denses de "type 4" mesurant entre 1000 et 1600 Å sont de nature neurosécrétoire. La deuxième est celle de REISSIGG (1970) qui a suggéré que les granules denses présents dans les neurones parenchymateux et mesurant 1000 à 3000 Å représentent de la neurosécrétion.

Enfin, MACHADO et Coll. (1972) publient la micrographie d'une coupe optique d'un mâle de *Schistosoma* figurant une cellule parenchymateuse colorée par l'hématoxyline chromique, mais cette dernière n'est pas commentée par les auteurs.

DEI-CAS (1976), pour la première fois décèle des cellules contenant des granules fuchsinophiles et présentant la fluorescence rouge après coloration par la géranine G.

Dans la présente contribution, nous nous sommes proposé de préciser nos résultats antérieurs par une étude faite sur des coupes semi-fines, et de chercher des structures fuchsinophiles dans le miracidium intra-ovulaire et la cercaire intrasporocystique.

1.2.1.6. Observations sur l'ultrastructure du système nerveux de *S. mansoni* adulte

Dans ce sous-chapitre, nous allons compléter l'étude ultrastructurale du système nerveux de *Schistosoma mansoni*, que nous avons réalisée pour notre D.E.A. Un rappel du sujet nous semble essentiel pour arriver à comprendre les chapitres suivants.

1.2.1.6.1. Remarques sur l'ultrastructure

Dans les coupes ultrafines pratiquées au niveau de la partie céphalique du parasite, chaque ganglion montre trois à cinq cellules situées périphériquement, mais immergées dans un ensemble de fibres nerveuses qui forment les racines des grands nerfs d'origine ganglionnaire et de la commissure sus-oesophagienne. Une cellule filamigère, toujours en rapport anatomique avec le ganglion, se situe du côté distal par rapport à l'oesophage.

Le ganglion a une structure essentiellement fibreuse. La présence de fibres musculaires au niveau du ganglion, interposées entre les fibres nerveuses, est un fait remarquable qui avait déjà été observé par SILK et SPENCE (1969b) au niveau de la commissure sus-oesophagienne.

Chaque ganglion est séparé du tégument notamment par les fibres musculaires sous-tégumentaires.

Un grossissement plus fort montre que quelques unes des cellules observées au niveau ganglionnaire sont de nature musculaire.

Les neurones ganglionnaires, mesurant 6,5 à 10 μ , ont une forme plus ou moins étoilée (Pl. III, fig. a), parfois triangulaire (Pl. IV, fig. a) avec un seul prolongement (neurones unipolaires ?). Le cytoplasme est moins dense que celui des cellules musculaires, tégumentaires et protonéphridiales (Pl. III, fig. f). Dans le cytoplasme nous avons observé des ribosomes libres et groupés, parfois collés à la surface externe de la membrane de citernes membranaires, souvent en rapport avec l'appareil de Golgi et

la membrane cellulaire. Nous avons vu plusieurs appareils de Golgi par neurone (Pl. III, fig. f). La présence de granules denses mesurant 500 à 1350 Å, avec une densité variable, souvent en rapport avec le ou les appareils de Golgi a été observée dans tous les cas. Cependant, la présence de granules denses n'est pas spécifique des neurones. Les cellules musculaires peuvent contenir des granules ayant les mêmes caractères.

Les mitochondries ont une forme ronde ou ovale, avec des crêtes assez droites et une matrice qui présente de petits granules denses.

Le péricaryon a aussi des granules libres indépendants, qui ressemblent fortement à ceux des particules β de glycogène, et qui mesurent 130 Å. Ils sont parfois groupés et ressemblent alors à des particules α de glycogène.

Les noyaux (2,7 à 4,8 μ) vésiculeux des neurones, parfois pénétrés par des digitations cytoplasmiques, montrent sur un fond clair un nucléole qui mesure 8900 à 10000 Å, sans formation filamenteuse. La chromatine est disposée en couche mince sur la face interne de l'enveloppe nucléaire, et en granules chromatinien denses et délicats distribués variablement dans la surface du noyau. La présence des granules chromatinien ne nous a pas semblé constante (Pl. III, fig. f).

Les neurones parenchymatiques ont la même ultrastructure que les neurones ganglionnaires.

Les neurites visibles au niveau des commissures et des nerfs présentent : des granules, des vésicules, des microtubules et des mitochondries. Notre description de ces structures confirme, en général, celle qui a été faite par SILK et SPENCE (1969b). Comme ces auteurs, nous trouvons deux sortes de granules osmiophiles, en dehors des granules de glycogène, et deux sortes de vésicules.

Les synapses axo-axonales (Pl. III, fig. e) et neuromusculaires correspondent, en général, à celles décrites chez les Plathelminthes, mais elles sont vraiment différentes de celles trouvées par KOPOWITZ et CHIEN (1975) chez le polyclade *Notoplana acticola*.

L'analyse détaillée des structures neuroplassmiques subcellulaires sera faite dans le chapitre suivant.

Enfin, nous avons retrouvé chez les adultes de *Schistosoma* un organe tégumentaire (Pl. III, fig. c), très probablement de nature sensorielle, dont la morphologie a été bien décrite (MORRIS et THREADGOLD, 1967, 1968 ; SILK et SPENCE, 1969b ; DEI-CAS, 1976) mais dont la fonction reste inconnue.

Tableau 2 - Ultrastructure : Correspondance probable entre les granules et les vésicules des structures nerveuses des Trématodes trouvées par les différents auteurs.

	DIXON et MERCER 1965 cercaire de <i>Fasciola hepatica</i>	SILK et SPENCE 1969 adulte de <i>Schistosoma mansoni</i>	WILSON 1970 miracidium de <i>F. hepatica</i>	REISSIG 1970 adulte de <i>S. mansoni</i>	GRASSO et QUAGLIA 1974 adulte de <i>F. hepatica</i>	DEI-CAS 1976 adulte de <i>S. mansoni</i>
Granules	type (d) (2000 Å)	type 4 (1000-1600 Å)	"large vesicular bodies" (1650 Å)	"droplets electron- dense" (1000-3000 Å)	-	type (1) (800-2300 Å)
	type (b) (600-1000 Å)	type 3 (320-900 Å)	"medium sized dense vesicles" (600-750 Å)	-	"neurosecretory granules" (800-1000 Å)	type (2) (370-1600 Å)
Vésicules	type (a) (200- 800 Å)	type 1 (200-500 Å)	"small clear vesicles" (300-450 Å)	-	-	type (1) (200- 500 Å)
	-	type 5 (500-1500 Å)	-	-	-	type (2) (600-1000 Å)



1.2.1.6.2. Introduction à l'étude quantitative des

structures subcellulaires des fibres nerveuses

Plusieurs auteurs (DIXON et MERCER, 1965 ; SILK et SPENCE, 1969b ; WILSON, 1970 ; REISSIG, 1970 ; GRASSO et QUAGLIA, 1974 ; DEI-CAS, 1976) ont rapporté la présence de granules et/ou de vésicules dans les fibres nerveuses des Trématodes étudiés par la microscopie électronique à transmission. SILK et SPENCE (1969b) et DEI-CAS (1976) ont trouvé dans les fibres nerveuses de *S. mansoni* adulte, les structures subcellulaires suivantes : microtubules, mitochondries, granules supposés de glycogène, deux sortes de granules denses et deux sortes de vésicules claires. Des granules denses et des vésicules claires sont probablement en rapport avec des phénomènes de neurosécrétion et/ou de neurotransmission. DEI-CAS (1977) a proposé de classer les granules et vésicules de *S. mansoni* adulte en 4 groupes : granules denses de type 1 (800 à 2300 Å), supposés neurosécrétoires (SILK et SPENCE, 1969b ; DEI-CAS, 1976) ; granules denses de type 2 (370 à 1600 Å), qui sembleraient contenir de la 5-HT d'après des études autoradiographiques (DEI-CAS et Coll., 1977) ; vésicules claires de type 1 (200 à 500 Å), probablement de nature "synaptique" ; vésicules claires de type 2 (600 à 1000 Å), de nature inconnue. Ces structures se trouvent souvent associées entre elles ou avec d'autres structures neuroplasmiques. Les granules de type 2, et les vésicules de type 1 sont beaucoup plus abondants dans les coupes que les granules de type 1 et les vésicules de type 2.

DEI-CAS (1976) a proposé une correspondance probable entre les granules et vésicules neuroplasmiques trouvés par les différents auteurs chez les Trématodes adultes et larvaires (cf. tableau 2).

Dans cette étude, nous nous proposons de faire une caractérisation quantitative des granules et des vésicules neuroplasmiques. Cela nous a semblé être une condition préalable, essentielle à toute autre étude sur le contenu et le rôle physiologique de ces structures.

1.2.2. Etudes autoradiographiques sur les neuromédiateurs chez *Schistosoma*

1.2.2.1. 5-HT et DA

Bien que toutes les preuves exigées pour pouvoir affirmer avec certitude le rôle neurotransmetteur des amines biogènes chez *S. mansoni* n'aient pas été apportées, plusieurs travaux semblent indiquer l'existence, chez le ver adulte, d'un système sérotoninergique stimulateur de la motilité, et d'un système cholinergique inhibiteur (cf Historique, ch. 1.1.).

La 5-HT est présente dans le système nerveux et dans le parenchyme de *S. mansoni*. DEI-CAS et Coll. (1978) ont démontré par autoradio-

graphie que la 5-HT tritiée (5-HT-³H) incorporée par le ver, se localise dans des fibres nerveuses contenant des granules denses mesurant 660 à 1280 Å.

Malgré le marquage autoradiographique du tissu nerveux au cours de nos expériences antérieures d'incorporation de la 5-HT-³H, nous n'excluons pas la possibilité d'une localisation de l'amine dans des sites où normalement pourrait se trouver un autre neuromédiateur. Nous avons donc été amenés à répéter nos expériences d'incorporation de la 5-HT-³H après une préincubation des vers dans un milieu riche en "DA froide". Cette amine a en effet un rôle central dans le métabolisme des CA (fig. 4) dont l'existence a été démontrée par plusieurs auteurs chez *Schistosoma* (cf. "Historique" : Ch. 1.1.).

Nous avons entrepris, d'autre part, des études autoradiographiques à haute résolution sur l'incorporation de la DA-³H. Nous nous sommes proposé tout d'abord de confirmer l'incorporation de cette amine, puis de préciser sa localisation et sa correspondance éventuelle avec des structures subcellulaires nerveuses ou extranerveuses, afin d'apporter des indications supplémentaires sur son rôle de neurotransmetteur.

Nous avons également étudié l'incorporation de la 5-HT-³H et de la DA-³H par l'oeuf et par les sporocystes de première et de deuxième génération contenant les furcocercaires.

1.2.2.2. Localisation des récepteurs acétylcholinergiques chez *S.*

mansoni : étude préliminaire avec l' α -bungarotoxine-I 125

L' α -bungarotoxine inhibe les réponses cholinergiques en bloquant les récepteurs nicotiques de l'acétylcholine (FULPINS et Coll., 1974 et RAFTERY et Coll., 1974, cités par CARPENTER et Coll., 1976). Nous avons cru intéressant d'essayer de localiser *in vitro* par autoradiographie, les récepteurs cholinergiques de *S. mansoni* en utilisant l' α -bungarotoxine-I 125.

1.2.3. Etude biochimique de l'activité cholinestérasique de *S. mansoni*

Malgré les nombreux travaux faits sur *Schistosoma* où l'activité cholinestérasique a été mise en évidence par des moyens histochimiques ou biochimiques (cf. "Historique" : Ch. 1.1.), BUEDING (1952), BUEDING et Coll. (1972) et GEAR et FRIPP (1974) publient les trois seules contributions, à notre connaissance, contenant des valeurs absolues de cette activité.

BUEDING (1952) en utilisant la technique de NACHMANSOHN et ROTHENBURGH (1945), exprime les activités de l'AChE et de la BChE de *Schistosoma* en μ l de CO₂ par milligramme de poids sec. La méthode utilisée et l'expression des résultats rend très difficile la comparaison avec les résultats d'autres auteurs.

BUEDING et Coll. (1972) utilisent la technique de ELLMAN et Coll. (1961). Dans le texte il y a une seule mention, qui est indirecte, des valeurs d'activité de l'AChe. Les auteurs ne publient aucune valeur d'activité de la BChE de *Schistosoma*.

GEAR et FRIPP (1974) utilisent la méthode radioisotopique de REED et Coll. (1966) avec l'acétylcholine-1-C 14 comme substrat. L'AChe des schistosomes atteint le maximum d'activité à 37°C, le pH optimum étant entre 8 et 8,4. Ils expriment l'activité de l'AChe en milimoles de substrat hydrolysé par ml de la suspension contenant 8,3 mg d'homogénat par ml.

La Figure 3 du travail de ces derniers auteurs montre qu'à 37°C et à pH compris entre 7,4 et 8,8, l'activité de l'AChe de *S. bovis* est d'environ 18 à 25 milimoles de substrat hydrolysé par ml de la suspension.

A notre connaissance il n'y a pas d'étude faite sur la cinétique de l'activité de la BChE des schistosomes en fonction du pH et de la température.

Nous avons considéré intéressant d'apporter nos déterminations de l'activité de la BChE de *S. mansoni* exprimée en unités internationales. Nous avons déterminé cette activité enzymatique simultanément dans un pool de sérum humain et dans un sérum standard.

1.3. Matériel et méthodes

Nous avons travaillé avec la souche brésilienne (Surinam) de *Schistosoma mansoni* entretenue à l'I.N.S.E.R.M. (C.E.R.T.I.A., Flers-Bourg, Lille) chez le Hamster.

1.3.1. Entretien de *Schistosoma mansoni* dans le laboratoire (Pl. I)

Les hamsters sont rasés et exposés individuellement dans des cages transparentes avec un fond d'eau d'aquarium, pendant 60 à 90 minutes, à 600 cercaires récemment émergés (Pl. I, figs g et h).

40 à 45 jours plus tard, les hôtes définitifs sont héparinés et sacrifiés au Nembutal, sauf dans le cas où les schistosomes seront utilisés pour des expériences physiologiques et neurochimiques. Dans ce dernier cas, les hamsters sont tués par décérébration.

L'extraction des parasites est faite par perfusion de solution saline ou de tampon phosphate pH 7,2, 0,2 M., dans les deux cas à 37°C. Les schistosomes sont récoltés vivants dans le dispositif montré dans la fig. b (Pl. I), et ensuite fixés pour l'étude morphologique ou incubés dans des milieux différents pour les études expérimentales.

L'intestin grêle des hamsters est ouvert longitudinalement, après dissection, et la muqueuse est énergiquement grattée avec deux lames (Pl. I, figs c et d), pour libérer les oeufs. Ceux-ci, soumis à la lumière intense et à 28°C, éclosent en 10 à 20 minutes, libérant les miracidiums.

Les miracidiums sont mis en contact avec les *Biomphalaria glabrata* (coque mesurant 3 à 5 mm), à 28°C, pendant plusieurs heures, dans des boîtes de Pétri rectangulaires à 24 compartiments (COSTAR) (Pl. I, fig. f). Cela nous permet de contrôler sous la loupe la pénétration des miracidiums dans chacun des mollusques exposés. Chaque *Biomphalaria*, exposé à 5 à 10 miracidiums, est conservé dans des aquariums à 28°C (température de l'eau) (fig. e, Pl. I) et nourri avec de la salade passée à l'autoclave (même régime que pour les mollusques sains).

24 à 25 jours après l'injection, les *Biomphalaria* exposés sont mis à l'obscurité et à la température du laboratoire. 3 à 4 jours plus tard nous pouvons obtenir des cercaires, en exposant les mollusques, à 28°C, à la lumière intense pendant quelques minutes. Ici aussi, nous travaillons dans les boîtes de Pétri rectangulaires à 24 compartiments (COSTAR), ce qui nous permet, d'une part, de connaître exactement la proportion de mollusques infestés et, d'autre part, de récolter les cercaires échappées dans un volume d'eau relativement faible (2-3 ml).

Pour infester les hamsters nous faisons un pool avec les cercaires provenant de 25 à 50 *Biomphalaria*. Nous concentrons les cercaires par phototropisme et nous faisons le comptage sous la loupe binoculaire.

1.3.2. Etudes morphologiques

1.3.2.1. Recherches de la neurosécrétion

1.3.2.1.1. Techniques histologiques classiques

Les colorations suivantes ont été faites : fuchsine paraldéhyde (GABE, 1968) ; fuchsine paraldéhyde-hématoxyline de Groat-picro indigo carmin (GABE, 1968) ; fuchsine paraldéhyde d'après CLARK (1955) ; fuchsine paraldéhyde d'après CAMERON et STEELE (1959) et BONNER (1968) ; bleu alcian et hématoxyline chromique-phloxine (GABE, 1968).

La fixation a été effectuée par : le Bouin contenant ou non de l'acide acétique et le formol neutre à 10 % avec ou sans ClNa pour les techniques de GABE (1968) et CLARK (1955) ; le propane refroidi par l'azote liquide en plongeant ensuite les pièces dans l'acide picrique en solution alcoolique à 1 % , pour la technique de CAMERON et STEELE (1959) et BONNER (1968).

La déshydratation a été réalisée par l'alcool. L'inclusion, après un séjour de 24-72 heures dans l'alcool butylique normal, a été réalisée dans la paraffine à point de fusion égal à 58°C. Les coupes d'une épaisseur de 6 μ ont été montées au baume.

1.3.2.1.2. Histofluorescence

Pour mettre en évidence les cellules neurosécrétrices nous avons également utilisé un colorant fluorescent, la géranine G (CATANIA, 1976).

La fixation a été effectuée par le formol 10 % neutre, la déshydratation par l'alcool et l'inclusion dans le Paraplast. Les coupes d'une épaisseur de 6 μ ont été montées à l'Entellan.

1.3.2.1.3. Techniques sur coupes semi-fines

Les adultes et les stades larvaires étudiés ont été fixés dans le glutaraldéhyde, postfixés dans l'acide osmique et inclus dans l'araldite comme précédemment (DEI-CAS, 1976 ; cf. 1.3.2.2.1.).

Les coupes semi-fines (1 à 2 μ) ont été soumises à la technique de MAYOR et Coll. (1961) afin d'enlever une partie de l'araldite. Nous avons utilisé le solvant (solution saturée de méthoxyde de Na) dilué à 50 % dans le mélange à parts égales d'alcool méthylique et de benzène.

Sur les coupes semi-fines nous avons fait la coloration de CLARK (1955) selon GABE (1968), et la coloration à la thionine-aldéhyde (PAGET, 1959). Les deux techniques ont été adaptées aux coupes semi-fines selon les modifications proposées par ENGELHARDT et DHAINAUT-COURTOIS (communication personnelle). Au lieu de refixer dans le liquide de Helly, à la manière de STOECKEL et Coll. (1972), nous avons plongé les coupes pendant 8 heures à 37°C dans le mélange : formol 20 %, acide acétique 5 %, eau distillée 75 %, bichromate de potassium (ou acide chromique) 3 %. Nous n'avons pas fait le mordantage dans le lugol mais dans le mélange KMnO_4 2,5 % : 1 vol ; H_2SO_4 5 % : 1 vol ; eau distillée : 6 vol. Après un passage par l'acide oxalique 1 %, la technique suit le même protocole que pour les coupes ordinaires.

La coloration à la thionine-aldéhyde selon PAGET (1959), adaptée aux coupes semi-fines, comporte : la refixation à 37°C pendant 8 heures dans le mélange décrit ci-dessus ; l'oxydation dans le mélange KMnO_4 2,5% 1 vol ; H_2SO_4 5 % 1 vol ; eau distillée 6 vol ; le bain dans l'acide oxalique (1 %) et la coloration pendant 45 minutes dans la thionine-aldéhyde.

Dans les deux cas nous avons employé le mélange colorant de fond conseillé par CLARK (1955).

1.3.2.2. Microscopie électronique

1.3.2.2.1. Technique de routine

Les vers, prélevés *in vivo* par perfusion, sont fixés directement 3 heures à 4°C par une solution de glutaraldéhyde à 3 % dans le tampon phosphate 0,2 ou 0,1 M à pH 7,2.

Après lavage dans du tampon contenant du sucrose 0,33 M, on fait une post-fixation pendant 1 heure à la température du laboratoire par une solution de tétroxyde d'osmium à 1 % dans le même tampon. Les pièces sont ensuite déshydratées par l'acétone et incluses dans l'Araldite.

Les coupes sont effectuées au couteau de verre avec les microtomes Porter Blum MT 1 et LKB, puis montées sur des grilles en cuivre parfois recouvertes d'une membrane de parlodion, contrastées par l'acétate d'uranyle (WATSON, 1958) et le citrate de plomb (REYNOLDS, 1963), et observées au microscope électronique Siemens Elmiskop 1.

Pour le repérage des différents éléments cellulaires et fibrillaires du système nerveux, des coupes semi-fines ont été colorées par une solution aqueuse de bleu azur à 1 ‰.

1.3.2.2.2. Etude quantitative des structures neuroplasmiques

Les pièces ont été traitées pour la microscopie électronique selon la technique décrite précédemment. Plusieurs dizaines d'exemplaires des deux sexes ont été étudiés. Les diamètres des granules et des vésicules ont été mesurés sur des micrographies électroniques, en prenant le diamètre maximum, l'épaisseur de la membrane (lorsqu'elle était visible) étant comprise. Les mesures ont été effectuées avec un appareil destiné à mesurer les diamètres (Transidyne General Corporation Model 2743, U.S.A.).

Nous avons calculé la moyenne, l'écart type et la variance de chaque mesure, l'écart type de la moyenne et le coefficient de variation pour chacune des 4 séries de structures (granules de types 1 et 2, vésicules de types 1 et 2). Nous avons appliqué le test de Student pour établir le degré de signification statistique des différences (P = 95 %).

1.3.3. Etudes expérimentales

1.3.3.1. Etudes autoradiographiques

1.3.3.1.1. Incorporation de la 5-HT-³H et de la DA-³H

Des adultes, des oeufs et des sporocystes de première et de deuxième génération de *Schistosoma mansoni* (souche de Surinam,

I.N.S.E.R.M., Unité 42, Flers, France) ont été incubés *in vitro* dans un milieu primaire constitué de sérum de cheval dilué à 75 % dans l'eau distillée stérile, auquel nous avons ajouté les neuromédiateurs "froids" ou marqués au tritium.

Les adultes, prélevés par perfusion après sacrifice de l'hôte par décérébration sont rincés dans du sérum de cheval à 75 % et préincubés 15 minutes à 37°C dans le même milieu dans tous les cas.

Pour étudier l'incorporation dans les oeufs nous avons incubé des fragments de 1 à 3 mm³ d'intestin de hamster parasité, dans les différents milieux, après rinçage et préincubation comme pour les vers adultes.

Les sporocystes, provenant du pied, des tentacules et de la glande digestive de *Biomphalaria glabrata*, ont été disséqués dans du sérum de cheval à 75 % sous la loupe binoculaire, rincés et préincubés en suivant le même protocole.

Toutes les pièces ont été post-incubées 20 minutes dans du sérum de cheval à 75 % "froid", renouvelé 2 à 3 fois, à 37°C, puis fixées au glutaraldéhyde à 3 % en tampon phosphate 0,2 M pH 7,2 à 4°C, déshydratées à l'acétone et incluses dans l'araldite.

Les coupes semi-fines et ultrafines sont effectuées au microtome LKB, puis soumises à la technique autoradiographique (LARRA et DROZ, 1970), la durée d'exposition étant de 4 à 8 semaines.

Le détail des expériences est le suivant :

Adultes

. 5-HT-³H(1) (activité spécifique 13,8 Ci/ml)

Les vers ont été incubés 10, 20 et 60 minutes dans le milieu contenant 40, 60 et 100µC/ml de 5-HT-³H, à 37°C.

. DA "froide"(2) plus 5-HT-³H

La deuxième fraction d'adultes a été incubée d'abord pendant 60 minutes à 37°C dans le milieu contenant 0,005 mg/ml de dopamine "froide". Les vers ont été ensuite incubés 60 minutes à 37°C dans le milieu contenant 60 µC/ml de 5-HT-³H.

. DA-³H(1) (activité spécifique 2 Ci/ml)

Les vers ont été incubés pendant 60 minutes à 37°C dans le milieu contenant 40 µC/ml et 100µC/ml de DA-³H.

(1) 5-Hydroxy(³H) Tryptamine Sulphate (Code TRK-223)(Batch 49) Radiochemical Centre Amersham.

(2) Dopamine-cat. 101580-I.C.H. Pharmaceuticals, Inc. Life Sciences Group. Cleveland, Ohio, Lote n° 5171.

Sporocystes

Les sporocystes de première génération ont été incubés seulement dans le milieu contenant la 5-HT-³H en suivant le même protocole que pour les adultes.

Les sporocystes de deuxième génération ont subi les mêmes traitements décrits à propos des adultes.

Oeufs

Les fragments d'intestin de hamster contenant les oeufs vivants ont été incubés seulement dans la DA-³H en suivant le protocole décrit pour les adultes.

1.3.2.1.2. Action de l' α -bungarotoxine-I 125

Plusieurs dizaines de couples de *S. mansoni* (souche Surinam, I.N.S.E.R.M., Flers, France), obtenus par perfusion des hamsters infestés 45 jours auparavant avec 600 cercaires, ont été incubés dans les milieux suivants :

- sérum de cheval dilué à 75 % dans l'eau distillée, 3 heures à 37°C.
- préincubation dans le Flaxedil (SPECIA, 10 mg/ml) dilué à 50 % dans du sérum de cheval 75 %, 60 minutes, et post-incubation dans de l' α -bungarotoxin-I 125 (1,6 μ g/ml) à 20 % dans du sérum de cheval 75 %, 120 minutes, à 20°C et à 37°C ;
- α -bungarotoxin-I 125 (1,6 μ g/ml) 20% dans du sérum de cheval 75 %, 120 minutes à 20°C et à 37°C.

Le rapport nombre de vers/volume de milieu n'a jamais dépassé 10 couples par ml.

Pendant l'incubation nous avons noté les modifications morphologiques et de la motilité des vers parasites incubés dans les différents milieux.

La totalité des parasites a été fixée dans le glutaraldéhyde, post-fixée dans l'osmium et préparée pour l'autoradiographie selon la technique de LARRA et DROZ (1970) modifiée par DHAINAUT-COURTOIS et DHAINAUT (1976).

Nous rapportons ici les résultats de l'étude des coupes semi-fines.

1.3.3.2. Etude biochimique de l'activité cholinestérasique

1.3.3.2.1. Obtention des vers

Les schistosomes adultes (*S. mansoni* souche Surinam, I.N.S.E.R.M., U. 42, Flers, France) sont obtenus au niveau de la veine porte par perfusion de tampon phosphate 0,1 M, pH 7,2, à 37°C, après sacrifice des hamsters, héparinés, par décérébration. Les hamsters avaient été infestés 45 jours auparavant avec 600 cercaires.

Après avoir lavé 4 fois à 4°C les vers dans le tampon, nous avons séparé les couples sous la loupe binoculaire.

1.3.3.2.2. Préparation des homogénats

Dans tous les cas nous avons travaillé sur le surnageant conservé à -20°C jusqu'à l'utilisation.

Trois séries (A) (30 femelles, 30 mâles et 15 couples) ont chacune été mises dans 3 ml de tampon. Après 3 congélations à -180°C à -190°C dans l'azote liquide, suivies de décongélations dans l'eau tiède, les fractions ont été centrifugées à 4000 t/mn pendant 10 minutes à 4°C.

Une deuxième série (B) de 133 mâles a été homogénéisée dans 2 ml de tampon avec un homogénéisateur Virtis, pendant 15 minutes à vitesse maximum. La suspension a été conservée à -20°C, après centrifugation à 20000 g, 20 minutes à 4°C.

La dernière série (C) est composée de couples dont le poids humide est de 95,6 mg. Cette fraction a été suspendue dans 2 ml du même tampon, soumise à 3 congélations et décongélations successives dans l'azote liquide, homogénéisée dans le Virtis et centrifugée à 4000 t/mn, pendant 20 minutes à 4°C.

1.3.3.2.3. Dosage de l'activité de la BChE (E.C.3.1.1.8)

Nous avons utilisé une technique dérivée des travaux de KNEDEL et Coll. (1967) (Cholinestérase C-system, Behringer. Mannheim. Réf. 15879 et 15666). Le substrat étant l'iodure de 5-butyrylthiocholine, les déterminations ont été faites à 25°C, 30°C et 37°C, aux pH 7, 7,2, 7,4, 7,6 et 7,8 dans le tampon KH_2PO_4 0,13 M/ Na_2HPO_4 0,15 M. L'activité est mesurée par la vitesse de formation de la thiocholine qui réduit l'acide 5,5'-dithiobisnitrobenzoïque (DTNB) en 2-nitro-5-mercaptobenzoate. La lecture a été faite à 405 nm. Les concentrations dans le mélange réactionnel étaient : 7mM pour l'iodure de 5-butyrylthiocholine et 0,25 mM pour le DTNB.

Les déterminations ont été faites dans le système automatique d'analyse GEMSEAC du Laboratoire de l'Hôpital Dron à Tourcoing (Prof. A. VERNES, France). Chaque détermination a été faite toutes les 15 secondes pendant 105 secondes.

1.3.3.2.4. Dosage des protéines

La concentration protéique des surnageants a été déterminée par la méthode de LOWRY et Coll. (1951) en utilisant comme standard le sérum albumine de boeuf (150 µg/ml).

1.3.3.2.5. Expression des résultats

L'activité de la BChE a été exprimée en unités internationales, 1 unité (U) étant l'activité enzymatique qui transforme une umole de substrat en une minute (Boehringer. Mannheim, 1975). Les résultats en U/1 (= mU/ml) ont été exprimés en mU par milligramme de protéines (= mU/mgP).

1.4. Les résultats

1.4.1. Cellules fuchsinophiles et recherche de neurosécrétion

1.4.1.1. Adultes

Dans les coupes ordinaires et semi-fines colorées à la fuchsine paraldéhyde, les cellules ganglionnaires situées à l'origine des gros nerfs postérieurs prennent une couleur violet foncé (Pl. III, fig. d). Cela est particulièrement remarquable dans les coupes transversales pratiquées immédiatement au-dessus des glanges oesophagiennes. Les mêmes cellules prennent aussi l'hématoxyline chromique de Gomori mais d'une façon moins constante. Il est difficile de savoir, en examinant les préparations, si les structures fuchsinophiles sont les péricaryons ou les prolongements puisque les premiers sont placés dans une masse de fibres nerveuses et musculaires.

Nous avons trouvé des cellules fuchsinophiles dans le parenchyme (Pl. III, fig. e). La figure b (Pl. III) montre une grande cellule fuchsinophile apparemment isolée.

L'examen des coupes semi-fines transversales (Pl. II, fig. c) révèle l'existence dans la région rétroacétabulaire d'un ensemble de structures fuchsinophiles constitué par des cellules et des fibres. Les cellules semblent être en rapport avec le *nervus ventralis* postérieur et avec les commissures pré- et post-acétabulaires. Ces cellules ont une fuchsinophilie très intense. Occasionnellement nous avons observé une cellule fuchsinophile située entre les deux caecums intestinaux, avec un prolongement dirigé vers la base de l'acétabulum. Les fibres fuchsinophiles sont très abondantes dans le parenchyme rétroacétabulaire et dans la base de l'acétabulum (Pl. III, fig. c).

Les coupes ordinaires montrent des cellules fuchsinophiles dans le parenchyme des ventouses orales et ventrales (Pl. III, figs g et h). Ces cellules ont les dimensions suivantes : 4-10 μ sur 3-7 μ . Elles montrent une fuchsinophilie homogène et intense du péricaryon. Elles ont un grand noyau vésiculeux, clair, avec un gros nucléole toujours excentrique.

Sur les coupes colorées par la fuchsine paraldéhyde d'après la méthode de CLARK (1955) et de CAMERON et STEELE (1959), des granules fuchsinophiles d'un diamètre compris entre 0,4-1,5 μ sont visibles ; ils sont localisés au niveau des fibres nerveuses des ganglions, des commissures et des nerfs. Ils ont un aspect semblable à celui des granules plus grands parfois observés dans les cellules.

Enfin, dans le parenchyme de la région du cirre, nous trouvons constamment deux à quatre cellules fortement violacées ; le noyau étant rond et clair, le péricaryon étroit, parfois avec un prolongement dirigé vers la région de l'orifice génital. Ces cellules ne semblent pas avoir de liaisons avec les organes nerveux (Pl. III, figs a et f). Malheureusement nous n'avons pas retrouvé les cellules fuchsinophiles de la région du cirre et du parenchyme acétabulaire dans les coupes semi-fines, même avec la modification de la technique de la fuchsine paraldéhyde appliquée aux coupes semi-fines faite par ENGELHARDT et DHAINAUT-COURTOIS (1978).

Lorsqu'on utilise la Gêranine G (CATANIA, 1976), un fluorochrome, on observe une fluorescence rouge intense mais inconstante émise par :

- une ou deux cellules triangulaires situées au niveau des ganglions ;
- plusieurs cellules et leurs prolongements formant un vrai réseau au niveau de la base de l'acétabulum (Pl. III, fig. i) ;
- plusieurs cellules du parenchyme, de forme triangulaire, situées près du tégument ou près des caeca (Pl. III, fig. j).

Nous n'avons pas observé de cellules fluorescentes dans les exemplaires fixés au Bouin.

Nous avons trouvé une fluorescence orangée très diffuse au niveau des ganglions et de la commissure, concentrée au niveau des cellules parenchymateuses du mâle, des glandes vitellogènes de la femelle et au niveau de l'oeuf intra-utérin, lorsque nous avons coloré avec l'acridine-orange. Ce colorant permet aussi d'observer des formations filamenteuses ramifiées autour des caecums intestinaux, dont la nature nerveuse ne peut pas être affirmée.

1.4.1.2. Stades larvaires

1.4.1.2.1. Miracidium intraovulaire

Les coupes ordinaires et semi-fines ne montrent pas de cellules fuchsinophiles ou hématoxylinophiles dans le miracidium intra-

ovulaire. Les techniques utilisées nous ont permis, néanmoins, de mettre en évidence le système nerveux central du miracidium ; celui-ci est une masse arrondie, fibrillaire, très remarquable, dans le milieu du corps, colorée faiblement en vert (technique de CLARK). Quelques corps cellulaires jaunâtres sont reconnaissables à la périphérie du gros ganglion.

1.4.1.2.2. Cercaires intrasporocystiques

La seule structure qui semble être fuchsinophile dans la cercaire développée intrasporocystique est la glande céphalique. Cette fuchsinophilie n'est présente que dans les coupes ordinaires (fig. 5).

La technique de CLARK, pratiquée sur les coupes semi-fines, nous a permis d'observer les glandes pré- et post-acétabulaires, ces dernières colorées très fortement en vert.

Les coupes semi-fines colorées au bleu azur et au bleu de toluidine montrent la structure fibrillaire du système nerveux central, situé au milieu du corps, et formé par deux ganglions latéraux réunis par une très large commissure.

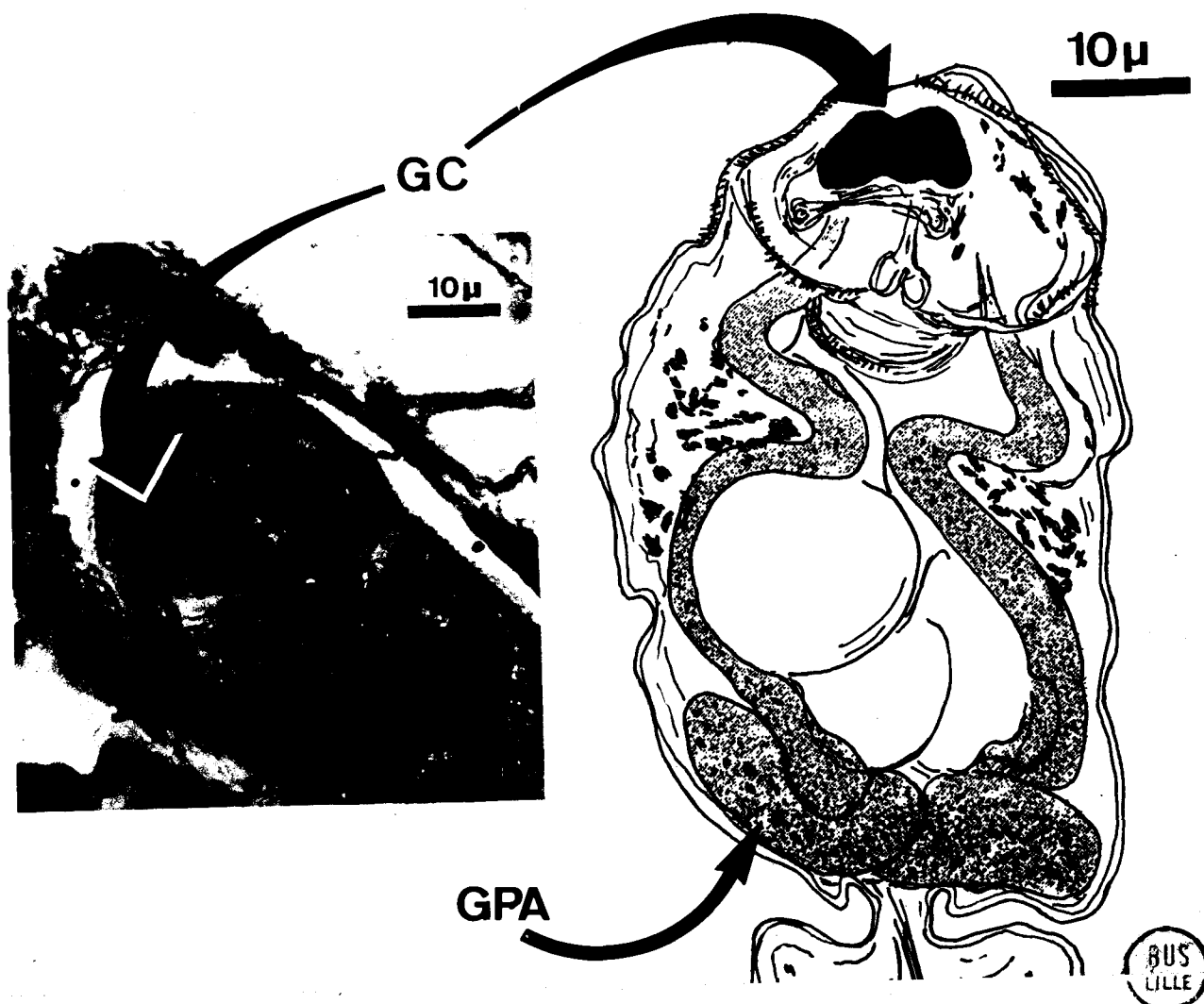


Fig. 5 - Cercaire intrasporocystique : glande céphalique colorée fortement par la fuchsine-paraldéhyde (col. Fuchsine paraldéhyde-hématoxyline de Groat-picro-indigo-carmin).
GC : glande céphalique ; GPA : glandes postacétabulaires.

1.4.2. Etude quantitative des structures subcellulaires
des fibres nerveuses

Les résultats sont rassemblés dans le tableau 3. Les planches V et VI montrent la distribution de taille des 4 structures neuroplasmiques considérées.

Tableau 3 - Taille (Å) des granules et vésicules de *S. mansoni*.

Structure	Extrêmes	Moyenne	Ecart type	n
g 1	1000-3235	1750	480	51
g 2	365-1680	820	200	399
v 1	165-900	375	116	290
v2	620-1900	1040	340	57

g 1 : granules de type 1 ; g 2 : granules de type 2 ;
v 1 : vésicules de type 1 ; v 2 : vésicules de type 2.

La distribution des diamètres des granules de type 1 suit un modèle bimodal avec un premier mode vers 1410 Å et un deuxième plus bas, vers 2340 Å.

La distribution des diamètres des granules de type 2 est également bimodale : un premier mode à 850 Å et un deuxième mode plus bas à 1050 Å (Pl. V).

Les diamètres des vésicules de type 1 et 2 montrent une distribution monomodale (Pl. V et VI).

Le test de STUDENT (tableau 4 confirme nettement la présence de 4 populations de diamètres qui sont significativement différents entre eux.

Tableau 4 - Comparaison des tailles des structures neuroplasmiques de *S. mansoni*
Test de STUDENT (P = 95 %).

	g1/v1	g1/v2	g1/g2	g2/v1	g2/v2	v1/v2
t =	22,6	8,7	13,6	36,1	4,71	14,4
d.d.1. (1)	341	106	448	687	454	345

(1) degrés de liberté.

1.4.3. Etude autoradiographique de l'incorporation de la 5-HT-³H et de la DA-³H

1.4.3.1. 5-HT-³H

1.4.3.1.1. Adultes

Les meilleurs résultats ont été obtenus sur les vers incubés dans les concentrations les plus faibles de 5-HT-³H (40 et 60 uC/ml).

Les coupes semi-fines (Pl. VIII, figs a, b et c) non colorées révèlent une capture :

- au niveau des ganglions nerveux et de la commissure où le marquage permet de reconnaître la forme de ces organes ;
- sous la couche musculaire longitudinale dans la parenchyme sous forme de gros amas régulièrement espacés. Ceux-ci sont plus abondants chez le mâle, au niveau du parenchyme du cirre ;
- dans les troncs nerveux, sous forme d'amas alignés.

Le muscle, les organes digestifs, génitaux et excréteurs, ne sont pas marqués.

Les coupes ultrafines (Pl. VIII, figs d et e ; Pl. IX, figs a et c) présentent un marquage au niveau des fibres nerveuses contenant des granules denses, à densité électronique moyenne, mesurant 420 à 1680 Å (moyenne : $820,5 \pm 20,4$ Å), entourés par une membrane séparée parfois par un espace clair du contenu dense. Ces granules, souvent associés à des vésicules claires ou à contenu dense (mesurant 163,8 à 899,1 Å ; moyenne : $376,9 \pm 13,6$ Å), correspondent aux granules de type 3 (SILK et SPENCE, 1969) et de type 2 (DEI-CAS, 1976). Les granules de type 2 sont aussi associés à des microtubules et à des granules qui ont les caractères morphologiques du glycogène. Néanmoins, 46 à 47 % du marquage se localise dans le neuroplasma des fibres contenant des granules de type 2 (cf. tableau 5) non associés à d'autres structures.

Dans les conditions où nous avons travaillé, l'étude en haute résolution semble confirmer l'absence de marquage dans le muscle, les organes digestifs et génitaux, le système excréteur, ainsi que dans les cellules nerveuses, musculaires et dans l'organe sensoriel tégumentaire. La présence occasionnelle de marquage dans le tégument semble résulter du "bruit de fond".

A l'exception d'une expérience, l'incubation des *Schistosoma* adultes dans la 5-HT-³H a déclenché chez les vers une stimulation très remarquable de la mobilité par rapport aux témoins (incubés dans le sérum de cheval à 75 % sans la 5-HT-³H).

1.4.3.1.2. Sporocystes

Les sporocystes de première génération provenant du pied et des tentacules des exemplaires de *Biomphalaria* infestés 13 jours auparavant avec moins de 10 miracidiums, et ceux de deuxième génération, contenus dans la glande digestive de *Biomphalaria* infestés de la même façon 30 jours auparavant, et contenant des furcocercaires développées complètement, n'ont pas incorporé la 5-HT-³H.

Par contre, les tissus de *Biomphalaria*, en particulier au niveau du cytoplasme des fibres nerveuses des régions neuromusculaires du tentacule (Pl. X, figs a et c), et au niveau des cellules de la glande digestive ont incorporé le neuromédiateur.

1.4.3.2. Incorporation de la 5-HT-³H après l'incubation dans la DA "froide"

1.4.3.2.1. Adultes

Les coupes faites sur des exemplaires des deux sexes montrent l'incorporation de la 5-HT-³H dans les fibres nerveuses contenant des granules de type 2 (Pl. IX, fig. b). Le marquage est cependant légèrement moins intense que lorsqu'on ne fait pas de préincubation dans la DA "froide".

D'autre part, 45 à 46 % du marquage se localise dans les fibres nerveuses contenant des granules de type 2 associés à des vésicules de type 1 (synaptiques) et des mitochondries.

Au cours de l'incubation dans la 5-HT-³H, les vers voyaient augmenter remarquablement leur motilité par rapport aux témoins.

1.4.3.2.2. Sporocystes de deuxième génération

Les furcocercaires intrasporocystiques, qui montraient des degrés de développement très différents n'ont pas incorporé la 5-HT-³H.

1.4.3.3. Incorporation de la DA-³H

1.4.3.3.1. Adultes

La DA-³H est incorporée par les adultes des deux sexes. Les fibres nerveuses semblent être les seules structures qui capturent la molécule marquée. Occasionnellement on note un marquage dans des fibres musculaires, dans le cytoplasme de cellules musculaires. Le marquage est absent des organes sensoriels tégumentaires ainsi que de tous les autres organes.

Il est difficile d'affirmer la correspondance de la DA-³H avec une structure subcellulaire neuroplasmique déterminée. Cependant, il faut signaler que le marquage ne se superpose pas aux granules de type 2 et qu'il semble être associé à des vésicules à contenu clair ou dense semblables à celles de type 1, parfois contenues dans des terminaisons présynaptiques.

1.4.3.3.2. Sporocystes de deuxième génération

Les furcocercaires contenues dans les sporocystes situés dans la glande digestive de *Biomphalaria* ne semblent pas incorporer la DA-³H. Cependant, certaines cellules de la glande digestive de l'hôte incorporent cette amine biogène.

1.4.3.3.3. Miracidium intraovulaire

L'oeuf vivant de *Schistosoma* n'a pas incorporé la DA-³H dans les conditions où nous avons travaillé. Par contre, des cellules de la couche conjonctive de la paroi intestinale du Hamster ont incorporé cette amine biogène.

Tableau 5 - Distribution de la capture de la 5-HT-³H (sans et avec préincubation dans la DA), et de la DA³H, par l'adulte de *Schistosoma mansoni* des deux sexes.

Structures Cellulaires Neuroplasmiques	5-HT- ³ H (1)	DA + 5-HT- ³ H (2)	DA- ³ H (1)
granules 2	46 %	22 %	—
granules 2 + mitochondries	10 %	4 %	—
granules 2 + vésicules 1 + mitochondries	18 %	46 %	—
granules 2 + vésicules 1	23 %	28 %	22 %
granules 2 + granules 1	3 %	—	—
vésicules 1	—	—	22 %
Autres structures neuroplasmiques	—	—	56 %

(1) Incubation 1 heure à 37°C.

(2) Préincubation 1 heure à 37°C dans la DA "froide", suivie d'incubation 1 heure à 37°C dans la 5-HT-³H.

1.4.4. Etude autoradiographique de la localisation de l' α -bungarotoxine-I 125

1.4.4.1. Résultats autoradiographiques

Les coupes semi-fines des exemplaires de toutes les séries ne montrent pas de marquage, sauf dans la lumière digestive où ce dernier est très faible.

1.4.4.2. Effets de l' α -bungarotoxine-I 125 sur la morphologie et la motilité de *S. mansoni*

Les exemplaires préincubés dans le Flaxedil et postincubés dans l' α -bungarotoxine-I 125 ont montré des modifications remarquables de la morphologie : un tassement et un raccourcissement évidents de la longueur par rapport aux témoins, avec une augmentation de l'épaisseur. Cet effet est plus marqué chez les vers incubés à 37°C. La motilité, bien que conservée, est très réduite par rapport aux témoins dans cette série de vers, surtout chez les mâles. Tandis que les témoins restent accouplés 2 h après l'incubation à 37°C, les couples incubés dans le Flaxedil/ α -bungarotoxine-I 125 sont séparés 10 à 15 minutes après le début de la préincubation.

Les schistosomes incubés directement dans l' α -bungarotoxine n'ont pas montré de modifications morphologiques, la motilité étant légèrement réduite.

1.4.5. Détermination de l'activité cholinestérasique

1.4.5.1. Effet de la méthode de préparation des homogénats

La comparaison de l'activité de la BChE des fractions préparées différemment est difficile : si la concentration protéique de l'homogénat est plus grande, la proportion de protéines non spécifiques risque d'être plus forte ce qui retentit sur les résultats exprimés en mU/mg P. Nous avons trouvé les activités les plus faibles dans les homogénats les plus concentrés. La corrélation négative entre ces deux variables bien que statistiquement non significative ($r : 0,0006$) est constante. Sauf en ce qui concerne la concentration protéique, il nous a semblé improbable que la modalité de préparation des homogénats ait eu une influence marquée sur les résultats.

1.4.5.2. Activité de la BChE de *S. mansoni*

Le tableau 6 montre les moyennes des déterminations. L'activité la plus forte a été en général dans le pH 7,4. Dans ce pH, lorsque la concentration protéique était de 35 à 60 mg/l, à 25°C, l'activité a varié de

890 à 1910 mU/mg P pour les mâles ; elle était de 2540 mU/mg P chez les femelles, et de 1250 à 2540 mU/mg P pour les homogénats mixtes. L'activité la plus faible : 240 mU/mg P (couples, pH 7, 25°C, 60 mg P/l).

L'activité BChE semble être plus forte chez la femelle (tableau 6). Cependant, les grands écarts types des chiffres des mâles et le nombre trop bas des échantillons femelles testés ne nous permettent pas d'arriver au seuil de la différence significative (t : 1.53).

Tableau 6 - *Schistosoma mansoni* : activité cholinestérasique (mU/mg P).
substrat : butyrylthiocholine.

t°	pH	Mâles	Femelles	Mâles + Femelles
25°C	7	362,5 ± 197,2 n = 4	400 n = 1	398,3 ± 83,2 n = 6
	7,2	355 ± 270 n = 2	790 n = 1	460 ± 380 n = 3
	7,4	1400 ± 1020 n = 2	2540 n = 1	1900 ± 744,8 n = 3
	7,6	462,5 ± 103,4 n = 4	510 n = 1	457,14 ± 74,6 n = 7
	7,8	507,5 ± 340,5 n = 4	565 ± 310 n = 2	552,9 ± 166,8 n = 7
30°C	7,2	520 ± 660 n = 2	980 n = 1	790 ± 261 n = 3
	7,4	490 ± 720 n = 2	1180 n = 1	863,3 ± 358,2 n = 3
	7,6	435 ± 190 n = 2	1020 n = 1	696,7 ± 323,2 n = 3
	7,8	330 ± 60 n = 2	990 n = 1	626,7 ± 400 n = 3
37°C	7,2	600 n = 1	—	—
	7,4	1330 ± 1240 n = 2	2430 n = 1	2190 ± 480 n = 2
	7,6	560 n = 1	—	—
	7,8	720 n = 1	—	—

n = nombre d'échantillons (chaque détermination a été faite toutes les 15 sec., pendant 105 sec).

BChE
mU/mg PROT

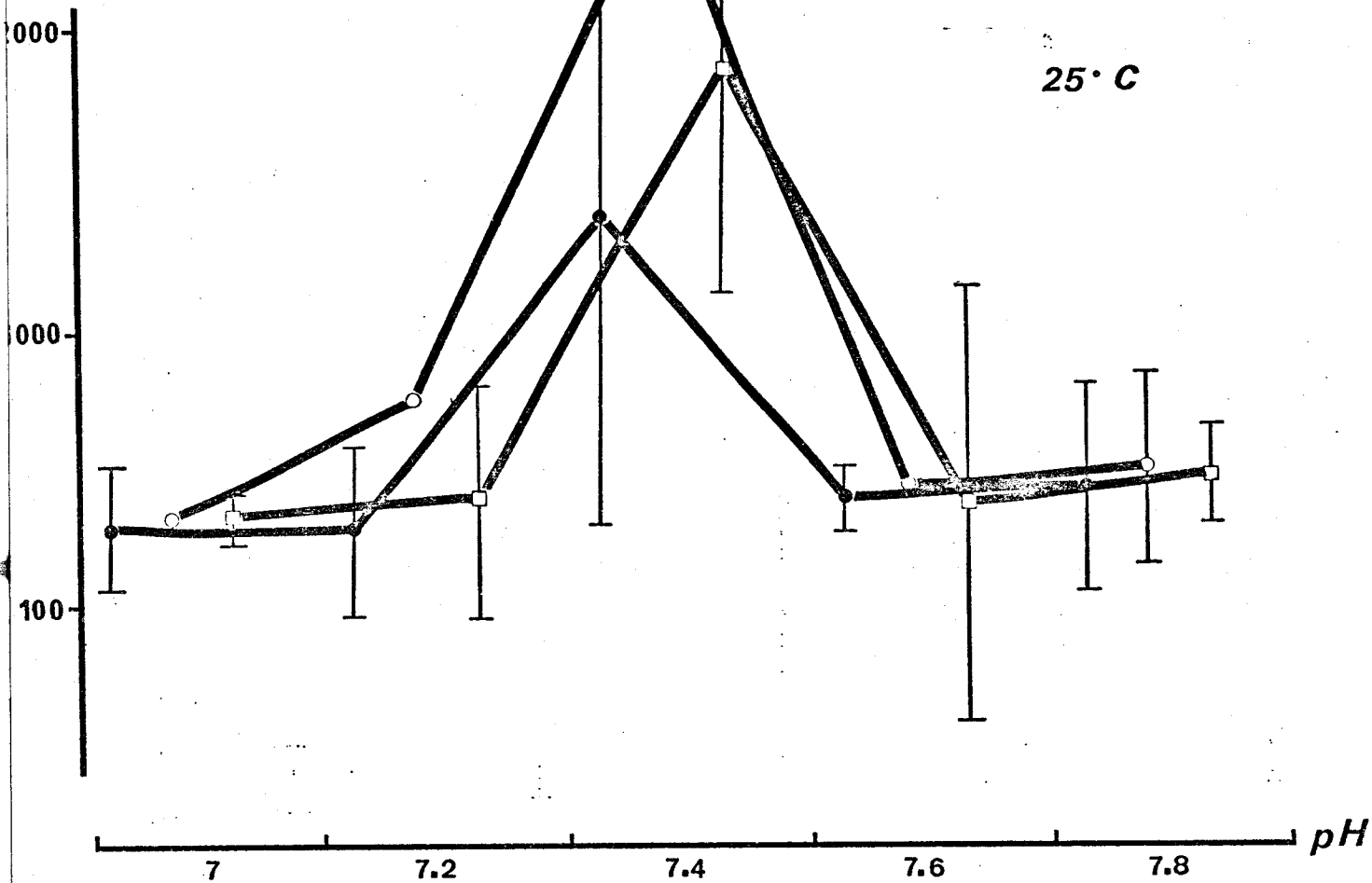


Fig. 6 - Activité butyrylcholinestérasique de *S. mansoni*.
Cercles remplis : mâles ; cercles vides : femelles ; carrés vides : mâles + femelles.



1.4.5.3. L'effet du pH

La Figure 6 montre les variations de l'activité de la BChE de *S. mansoni* en fonction du pH. Malgré la grande taille des écarts types, il semble exister une augmentation de l'activité à pH 7,4. Cette augmentation a été enregistrée dans toutes les expériences et à toutes les températures (25, 30 et 37°C).

1.4.5.4. L'effet de la température

Dans nos conditions de travail, l'activité augmente avec la température (tableau 6).

1.5. Discussion

1.5.1. Aspects morphologiques

1.5.1.1. Cellules fuchsinophiles et neurosécrétion chez *S. mansoni*

Depuis deux années de recherches sur le système nerveux de *Schistosoma mansoni*, nous préférons rester réservés sur l'existence possible de structures neurosécrétoires chez le parasite, décelables avec les méthodes histologiques.

Nos premiers résultats (DEI-CAS, 1976), qui semblaient encourageants, se sont avérés inconstants et peu reproductibles.

Dans les coupes ordinaires, la présence de cellules fuchsinophiles et géraninophiles au niveau des organes nerveux, ne semble pas être constante. L'étude est toujours difficile étant données les difficultés pour arriver à une bonne fixation du parasite, la petite taille des cellules et l'impossibilité d'identifier avec certitude la nature de celles-ci.

Dans les coupes semi-fines, la plus haute résolution nous permet de mieux distinguer les structures fuchsinophiles. Certaines coupes semi-fines montrent des structures dans des organes nerveux mais aussi dans des régions apparemment extranerveuses (Pl. III, figs a, b, e et f). Du point de vue purement technique, sauf exception, nous n'avons pas réussi à éliminer un "background" bleuâtre de nos coupes semi-fines, peut-être causé par un traitement trop fort par le méthoxide de Na, par la re-fixation prolongée, dans le mélange formol:acide chromique:acide acétique, ou par les deux effets combinés (STEEL et MORRIS, 1977).

Néanmoins, nous croyons qu'il existe des "vraies" cellules fuchsinophiles chez *S. mansoni*, observables dans les coupes ordinaires et dans les semi-fines, et dont l'aspect ressemble à celui des cellules neurosécrétrices d'autres invertébrés : une cellule de chaque côté, au niveau de l'origine du

Nervus ventralis postérieur (cellule qui est toluidine négative !) ; d'autres, plus grandes, au niveau du parenchyme chez le mâle (Pl. III, figs b et e), dans la moitié du corps, apparemment isolées des organes digestifs, génitaux et nerveux.

Les cellules fuchsinophiles observables occasionnellement dans le parenchyme des ventouses dans les coupes ordinaires, semblent correspondre aux grosses cellules qui ont attiré l'attention des parasitologistes dans les ventouses des Trématodes depuis longtemps (LOOSS, 1895). Ces cellules sont très occasionnellement fuchsinophiles dans les coupes semi-fines.

Enfin, les coupes semi-fines montrent plusieurs structures fuchsinophiles au niveau de la région rétroacétabulaire et dans le parcours des *nervus ventralis* postérieurs et des commissures de la même région. Celle-ci est aussi le siège, de façon inconstante, d'une fluorescence rouge à la géranine G.

Malheureusement il nous a été impossible d'établir une corrélation entre les cellules fuchsinophiles et leur image au niveau de la microscopie électronique.

Les granules fuchsinophiles trouvés dans les fibres nerveuses peuvent correspondre à ceux rapportés par GERSCH (1965) pour les fibres nerveuses des nerfs ventraux de plusieurs Plathelminthes. Cet auteur suppose qu'il s'agit de granules stockant du matériel neurosécrétoire.

Quelle est la signification de telles affinités tinctoriales ? Le fait que ces cellules réagissent positivement aux techniques signalétiques de neurosécrétion suggère qu'il pourrait s'agir de cellules neurosécrétrices.

En général, les localisations des cellules fuchsinophiles correspondent à celles décrites par d'autres auteurs chez d'autres espèces (UDE, 1962 ; GRASSO, 1967a et b ; MATSAKI, 1970 ; HARRIS et CHENG, 1972 ; SHYMASUNDARI et RAO, 1975 (voir tableau 7).

Il faut remarquer, chez *S. mansoni*, la présence d'un véritable réseau de fibres fuchsinophiles et fluorescentes (rouge) lorsqu'elles sont colorées par la géranine G, qui semblent émerger des commissures sus- et sous-acétabulaires et pénétrer en se ramifiant dans l'acétabulum. Cette innervation complexe et importante au cours de la phase adulte d'un Trématode, confirme le point de vue de RÖHDE (1968) lorsqu'il signale à propos de *Multicotyle purvisi* Dawes, 1941, que le système nerveux et les organes sensoriels des Trématodes endoparasites peuvent avoir un degré extraordinaire de complexité, semblable à celui des *Turbellaria* libres. RÖHDE ajoute que ce fait infirme l'hypothèse émise fréquemment et selon laquelle les endoparasites auraient un système nerveux et des organes sensoriels plus ou moins simplifiés.

Tableau 7 - Cellules neurosécrétrices dans les Trématodes digénétiques.

Localisation et nombre	Espèce	Phase du cycle	Affinités tinctoriales (1)	Auteur
Une cellule de chaque ganglion au niveau de la naissance de chaque cordon nerveux	<i>Dicrocoelium lanceolatum</i>	Adulte	FP HC	UDE (1962)
Plusieurs cellules dans les ganglions, les connectifs et les nerfs	<i>Fasciola hepatica</i>	Adulte	B FP	GRASSO (1967a et b)
Plusieurs cellules dans les ganglions et dans les nerfs	<i>Opisthodiscus diplodiscoides</i>	Adulte	FP HC	MATSKASI (1970)
Plusieurs cellules associées aux ganglions et aux nerfs lontitudinaux	<i>Leucochloridium diomorphum constantiae</i>	Métacercaire Adulte	FP HC	HARRIS et CHENG (1972)
Plusieurs cellules dans les ganglions, commissures, nerfs, parenchyme de la ventouse ventrale, pharynx et glande de Mehlis	<i>Fasciola hepatica</i> et <i>Fasciola gigantica</i>	Adulte	B FP HC, etc..	SHYMASUNDARI et RAO (1975)
Plusieurs cellules dans les ganglions, nerfs, parenchyme des ventouses orale et ventrale, parenchyme du corps	<i>Schistosoma mansoni</i>	Adultes des 2 sexes	FP G HC	DEI-CAS

(1)

B : Bleu Alcian ; FP : fuchsine paraaldéhyde ; G : géranine G ;

HC : hématoxyline chromique.



Des auteurs nommés précédemment, seuls MATSAKI (1970) et HARRIS et CHENG (1972) ont essayé d'établir une relation entre les changements enregistrés au niveau des cellules présumées neurosécrétrices et les modifications de la biologie des Trématodes. HARRIS et CHENG (1972) ont suggéré l'existence d'un effet inhibiteur cérébral sur le développement des gonades semblable à ce qui a été mis en évidence chez les Néréidiens (*Polychaeta*, *Annelidae*).

Les résultats de nos recherches au niveau de la microscopie photonique, et la présence de granules denses probablement neurosécrétoires (SILK et SPENCE, 1969b ; REISSIGG, 1970 ; DEI-CAS, 1976) dans les cellules et fibres nerveuses des schistosomes adultes, bien qu'insuffisantes pour nous permettre d'affirmer l'existence de phénomènes neurosécrétoires chez *Schistosoma*, ne nous empêchent pas de poursuivre leur recherche en employant d'autres méthodes.

La fuchsinophilie de la glande céphalique de la cercaire intrasporocystique est un fait intéressant qui n'avait pas été signalé auparavant. EBRAHIMZADEH (1970) trouve que la glande céphalique prend l'Azan de Heindenhein, et DORSEY (1976) signale qu'elle est colorée par le "Luxol Fast Blue" et par l'Hématine acide de Baker. Il a été proposé (DORSEY, 1976) que la glande céphalique contiendrait des phospholipides dont le rôle serait de réparer les téguments de la ventouse orale de la cercaire après pénétration du tégument de l'hôte définitif.

1.5.1.2. Etude quantitative des structures subcellulaires neuroplasmiques

Nous ne pouvons pas exclure l'influence possible des méthodes de préparation des tissus pour la microscopie électronique sur la taille et sur la densité des granules et des vésicules. Cette influence peut rendre plus discutable la comparaison de nos résultats avec ceux d'autres auteurs.

Les valeurs de "t" rendent très probable l'existence de 4 populations différentes (2 de granules denses, 2 de vésicules claires) à partir du critère de la taille.

D'autre part, le critère "taille" est en accord avec le critère morphologique. Des observations précédentes indiquaient l'existence de 4 substructures neuroplasmiques différentes.

Il est cependant très probable que des changements physiologiques au niveau des fibres nerveuses (stimulation électrique ou chimique p. ex. ; incorporation de substances différentes) puissent influencer la morphologie des modes de distribution (cf. ZIMMERMANN et WHITTAKER, 1977) des tailles.

D'après les hypothèses déjà formulées, les granules de type 1 seraient de type neurosécrétoire, les granules de type contiendraient des neurotransmetteurs (probablement des amines biogènes), les vésicules de type 1 seraient synaptiques. Il est difficile d'imaginer le rôle des vésicules claires de type 2.

La présence de phénomènes de neurosécrétion est probable chez *S. mansoni*. Ces phénomènes ont été démontrés au niveau histologique chez les Plathelminthes dont plusieurs espèces de Trématodes (cf. chapitre correspondant). Des cellules fuchsinophiles, Gomori positives et Gèranine C positives ont été signalées chez les adultes de *Schistosoma* des deux sexes (MACHADO, 1972 ; DEI-CAS, 1976). Cependant le rapport entre l'affinité tinctoriale des dites cellules au niveau photonique (coupes ordinaires et semi-fines) avec la présence de granules supposés de neurosécrétion (SILK et SPENCE, 1969b), au niveau électronique, n'a pas pu être établi.

Des expériences d'incorporation *in vitro* des neuromédiateurs radioactifs indiquent que le contenu des granules de type 2 est la 5-HT (DEI-CAS et Coll., 1977, 1978). Cette hypothèse est la seule à être confirmée.

L'association des granules de type 1 avec les vésicules de type 2, ainsi que la présence de ces structures dans les cellules non nerveuses (SILK et SPENCE, 1969a) suggèrent l'existence d'un système de transfert direct de matériel de cellule à cellule ("direct cell to cell transfer"). Cette supposition est renforcée par l'inexistence de systèmes de transports extracellulaires chez les Plathelminthes (DIXON et MERCER, 1965 ; SILK et SPENCE, 1969b).

En conclusion, nos résultats nous permettent d'établir les faits suivants :

- . Absence de formes "de passage" d'un type de granule ou de vésicule à un autre type.
- . Existence de différences très significatives entre les populations comparées.
- . Confirmation par biométrie de l'existence de deux types de granules denses et de deux types de vésicules claires, distinguées auparavant seulement sur le plan morphologique.

1.5.2. Aspects expérimentaux

1.5.2.1. 5-HT-³H et DA-³H chez les adultes

Le mâle et la femelle de *Schistosoma mansoni* incorporent *in vitro* la 5-HT-³H et la DA-³H. Les deux amines se localisent dans des structures fibrillaires du système nerveux central et périphérique du ver.

Ces résultats sont en accord avec les études d'histofluorescence de BENNETT et BUEDING (1971). Les résultats des études à haute résolution montrent la 5-HT-³H dans le cytoplasme des fibres nerveuses, très probablement des axones (présence de mitochondries, absence de réticule granulaire endoplasmique), contenant des granules denses de type 2, associés ou non à d'autres structures axoplasmiques (vésicules de type 1 et de type 2, de glycogène...).

La préincubation des vers dans la DA "froide" n'a pas changé de façon significative la distribution ou la quantité de 5-HT-³H incorporée. Ce fait confirme la spécificité du marquage et renforce la valeur des indications autoradiographiques sur la correspondance entre les granules de type 2 et la nature de leur contenu.

Les données du tableau 5 nous permettent de faire une estimation semiquantitative de la distribution des amines incorporées, mais il faut être prudent pour l'interprétation puisque très fréquemment le marquage trop fort ne nous a pas permis de voir les structures sous-jacentes. En outre, il ne faut pas oublier qu'une micrographie électronique de l'incorporation n'est qu'une image instantanée d'un processus physiologique dynamique qui s'étale dans le temps.

WEBB et DAVEY (1976) rappellent la correspondance possible des vésicules de granules denses avec leur contenu en amines biogènes. Ces auteurs supposent, pour *Hymenolepis microstoma* (un cestode), que des vésicules denses ("dense-core-vesicles") contiendraient de la 5-HT. S'il existe une correspondance entre nos granules de type 2 et les "dense-core-vesicles" de WEBB et DAVEY (1976), nos résultats semblent confirmer leur hypothèse.

Nos résultats apportent la première indication directe de la nature chimique des dits granules axoplasmiques (ou neuroplasmiques) chez les Trématodes.

Les expériences ont été répétées plusieurs fois. Dans tous les cas où l'incorporation a été mise en évidence pendant l'incubation, les vers ont montré une augmentation de la motilité par rapport aux témoins.

La concentration de 100 µC/ml nous a semblé excessive pour la haute résolution, mais acceptable pour l'étude des coupes semi-fines. Nous n'avons par remarqué de différences significatives entre les vers incubés dans 40 et 60 µC/ml. Ces deux concentrations semblent les plus adéquates pour la haute résolution.

Il n'est pas exclu que la 5-HT puisse avoir un rôle extraneuraxial chez *Schistosoma*. HILLMAN et SENFT (1973) rappellent que la 5-HT pourrait agir sur le métabolisme énergétique du ver. Tel serait le rôle de la 5-HT chez *Fasciola hepatica* (MANSOUR et Coll., 1960). L'absence de marquage, d'après

nos expériences, dans des structures non-nerveuses de *Schistosoma*, semblerait exclure un rôle extranerveux pour la 5-HT incorporée. La localisation ultra-structurale rend encore plus probable le rôle de neurotransmetteur de cette amine biogène.

L'absence de marquage dans l'organe sensoriel tégumentaire semble confirmer son rôle de neurotransmetteur au niveau des structures motrices et non sensorielles.

L'absence de marquage dans les péricaryons des cellules nerveuses dans nos conditions d'expérimentation, est un fait à signaler, dont l'explication reste obscure, et qui a été rapporté par DHAINAUT-COURTOIS et DHAINAUT (1976) pour *Nereis diversicolor*. Cependant, tout récemment ces auteurs ont trouvé des cellules nerveuses marquées (DHAINAUT-COURTOIS et Coll., 1978a, b, c) par la 5-HT-³H.

La DA-³H, dont la distribution a été étudiée en haute résolution, occupe aussi sélectivement les fibres nerveuses. Tandis que les résultats d'histofluorescence (BENNETT et BUEDING, 1971 ; MACHADO et Coll., 1972) ont permis l'identification des cellules chargées de catécholamines, nos expériences ne montrent pas le marquage des péricaryons.

La DA existe chez *S. japonicum* (CHOU et Coll., 1972) et chez *S. mansoni* (GIANUTSOS et BENNETT, 1977). Sa localisation sélective dans des structures nerveuses est en accord avec son rôle supposé de neurotransmetteur. TOMOSKY et Coll. (1974) ont apporté des évidences pharmacologiques sur la nature dopaminergique des récepteurs qui participent à l'allongement corporel induit *in vitro* par les catécholamines.

BENNETT et BUEDING (1971) ont suggéré que les CA pourraient agir comme neurotransmetteurs interneuronaux en provoquant la libération de la 5-HT à partir des sites de stockage, mais il n'est pas exclu que la DA ait un rôle extranerveux. GIANUTSOS et BENNETT (1977) rappellent que la DA a été un bon substrat pour la phenol-oxydase de *Fasciola hepatica* (MANSOUR, 1958, cité par GIANUTSOS et BENNETT, 1977). La phenol-oxydase est l'enzyme qui, agissant sur des dihydroxyphenols forme les polymères de quinone impliqués dans la production des oeufs par le ver.

L'étude des photos d'autoradiographie à haute résolution ne nous a pas permis de trouver une correspondance entre la présence de la molécule marquée et une structure subcellulaire neuroplasmique déterminée. Toutefois, le marquage ne correspond pas clairement avec les granules de type 1, ni de type 2, ni avec les vésicules de type 2 (DEI-CAS, 1976). Il semblerait correspondre parfois à des vésicules de type 1, mais cette supposition exige des études autoradiographiques plus poussées pour être acceptée.

1.5.2.2. 5-HT-³H et DA-³H dans les stades larvaires

Dans nos conditions d'expérimentation, nous n'avons pas vu de marquage dans les sporocystes, les furcocercaires intrasporocystiques et le miracidium intraovulaire, que ce soit dans les expériences avec la 5-HT-³H ou avec la DA-³H. Parallèlement, nous avons déjà signalé le marquage des structures nerveuses et cellulaires appartenant aux hôtes, ce qui semble indiquer que les conditions expérimentales étaient adéquates. Néanmoins, le non-marquage des stades larvaires de *Schistosoma* peut être dû simplement à une difficulté de pénétration des molécules marquées, soit dans le sporocyste, soit dans l'oeuf, entourés respectivement par les cellules de l'hôte autour d'un tégument épais et par une coque "cuticularisée" elle-même englobée par la réaction fibrocellulaire inflammatoire de l'hôte.

Le fait que les stades larvaires de *Schistosoma* n'aient pas incorporé les neuromédiateurs marqués au cours de nos expériences nous amène à considérer l'éventualité que cette absence d'incorporation ne soit pas le résultat d'artefacts mais bien une réalité. Il convient, à ce sujet, de rappeler les différences existant entre le métabolisme et la physiologie des stades évolutifs différents des parasites hétéroxènes.

En particulier, l'absence d'incorporation de la DA-³H par les stades larvaires de *Schistosoma* chez le mollusque est en désaccord avec l'hypothèse de TOMOSKY et Coll. (1974) selon laquelle les récepteurs dopaminergiques existeraient déjà au moment du passage par le mollusque.

1.5.2.3. 5-HT-³H et DA-³H dans *Biomphalaria glabrata*

La 5-HT-³H a été incorporée par les éléments nerveux du tentacule optique de *Biomphalaria glabrata* (Pl. X, fig. c), ainsi que par des cellules de l'hépatopancréas du mollusque. La DA-³H a aussi été incorporée par des cellules de la glande digestive.

La présence de la DA chez *Biomphalaria* avait été signalée, et plusieurs auteurs ont apporté des évidences qui démontrent son rôle neurotransmetteur chez les mollusques (Cf. TOMOSKY et Coll., 1974).

1.5.2.4. La DA-³H incorporée par les cellules du chorion de l'intestin du Hamster

Cette localisation de la DA-³H incorporée exige des études supplémentaires. En fait, notre observation a été faite sur des semi-fines non colorées mais pas en haute résolution.

1.5.2.5. α -bungarotoxine-I 125

L'absence d'influence de l' α -bungarotoxine-I 125 sur l'activité motrice des schistosomes peut s'expliquer par la mauvaise pénétration de la toxine dans le parasite dont témoignerait, probablement, l'absence de marquage. Les modifications de la morphologie des schistosomes observées seraient dues au Flaxedil. Ce fait est, cependant, curieux par rapport aux observations des autres auteurs. La deuxième éventualité est que le tassement et le raccourcissement des schistosomes aient été déterminés par l'action conjuguée des deux substances.

L'absence de la réponse attendue, marquage au niveau des régions neuromusculaires avec augmentation de la motilité par blocage compétitif du système cholinergique inhibiteur peut être expliquée par l'existence de différences stériques au niveau de la molécule du récepteur.

Autant BARKER et Coll. (1966) que HILLMAN et SENFT (1975) trouvent que ni la d-tubocurarine, la muscarine, la nicotine et le décaminium n'ont d'effets sur l'activité motrice des schistosomes. Les auteurs nommés ne décrivent pas de modifications morphologiques des vers pendant les incubations. BAKER et Coll. (1966) et HILLMAN et SENFT (1975) ont suggéré que les récepteurs cholinergiques des schistosomes ne sont pas stériquement identiques aux récepteurs cholinergiques "classiques", muscariniques et nicotiniques.

Il nous est difficile d'aller plus loin dans l'explication de nos résultats. Ce qui est surtout difficile à expliquer est la réduction de la motilité des vers sous Flaxedil, effet qui, bien entendu, exige une confirmation ultérieure.

1.5.2.6. Activité butyrylcholinestérasique

Bien que la butyrylthiocholine soit le substrat "spécifique" de la BChE (PILZ, 1974), il ne faut pas oublier que nous déterminons une activité enzymatique mais que nous ne faisons pas le dosage d'une enzyme. En fait, plusieurs enzymes ou isoenzymes pourraient être responsables de cette activité.

BUEDING (1952), BUEDING et Coll. (1972), BUEDING et FISHER (1973), GEAR et FRIPP (1974), HILLMAN et SENFT (1975) et TOMOSKY-SYKES et BUEDING (1977) ont déterminé l'activité de l'AChE de *Schistosoma*, en utilisant comme substrat l'acétylthiocholine (technique de ELLMAN et Coll., 1911).

GOLDBERG et BUEDING (cités par NIZAMI et Coll., 1977) ont montré que l'activité de l'AChE de la partie céphalique de *S. mansoni* est deux fois supérieure à celle du reste du corps.

A notre connaissance, BUEDING (1952) et BUEDING et Coll. (1972) sont les seuls auteurs qui déterminent l'activité de la BChE de *Schistosoma*. BUEDING (1952) utilise la technique de NACHMANSOHN et ROTHENBURGH (1941) toute comparaison étant impossible avec nos résultats.

Nous pouvons déduire que BUEDING et Coll. (1972) trouvent 50 mU/mg P environ d'activité de l'AChE dans des homogénats de *S. mansoni*. En fait les auteurs disent : "The AChE activities per mg protein of both sexes of *S. mansoni*..... were approximately half equalled that of mouse brain... The latter amounted to 103 ± 7 n mol acetylthiocholine hydrolyzed per min and per mg protein (25°C)".

Si, d'après les chiffres publiés par BUEDING (1952), l'activité de la BChE de *S. mansoni* est en moyenne le 21,1 % de l'activité cholinestérasique totale, l'activité de la BChE trouvée par BUEDING et Coll. (1972) serait de 14 mU/mg P environ. En tenant compte du nombre des vers par millilitre et de la méthode, semblable à la nôtre, utilisée par ces derniers auteurs pour préparer les homogénats, nous pouvons estimer qu'ils ont travaillé avec une concentration protéique de l'ordre de 0,12 mg/ml. Nos homogénats de mâles, avec la même concentration atteignent une activité de la BChE qui est à peu près 30 fois supérieure.

La diminution de l'activité de la BChE de nos homogénats avec l'augmentation de la concentration protéique peut indiquer que nous avons réussi à extraire le maximum d'activité de nos homogénats.

Dans nos expériences, la femelle de *S. mansoni* semble avoir une activité butyrylthiocholinestérasique plus forte que celle du mâle. Cette observation n'a pas été signalée par les autres auteurs.

PROBERT et DURRANI (1977) déterminent l'activité de la BChE de *Fasciola hepatica* et *F. gigantica*. Cette activité est le 25 à 31 % de l'activité cholinestérasique totale. Ils trouvent 50 ± 750 mU/mg P chez *F. hepatica*, et 75 ± 9 , 80 ± 9 , 85 ± 50 et 91 ± 9 mU/mg P chez *F. gigantica* (cf. tableau II, PROBERT et DURRANI, 1977) en utilisant une méthode semblable à la nôtre. Le maximum d'activité cholinestérasique totale (300 mU/mg P environ, pour *F. gigantica*) est obtenu à un pH compris entre 7 et 8 (cf. fig. 1, PROBERT et DURRANI, 1977).

NIZAMI et Coll. (1977) déterminent l'activité de l'AChE de sept espèces de trématodes digénétiques (*Echinostoma malayanum*, *Fasciolopsis buski*, *Gastrodiscoides hominis*, *Gastrothylax crumenifer*, *Gigantocotyle explanatum*, *Isoparorchis hypselobagris* et *Srivastavaia indica*). Ils trouvent que l'activité de l'AChE est plus forte chez les trématodes intestinaux que chez les trématodes à habitat extra-intestinal, et même que chez les trématodes qui

BUS
LILLE

habitent le caecum et le rumen. Les auteurs ont rappelé que l'AChE pourrait avoir le rôle de diminuer localement la motilité intestinale en agissant comme un véritable "biochemical holdfast" (LEE, 1970 ; OGILVIE et JONES, 1971).

Les valeurs de la BChE de *Schistosoma* dépassent celles des homogénats de différents tissus de rat. En fait, VARELA et MANDEL (1974) trouvent que l'activité de la BChE libre, des homogénats de coeur et d'intestin de rat, est respectivement 97 ± 33 et 317 ± 52 mU/mg P (cf. tableau I VARELA et MANDEL, 1976). La BChE liée, a pour les mêmes homogénats, 221 ± 42 et 702 ± 148 mU/mg P.

L'activité cholinestérasique de *Schistosoma* est presque restreinte aux structures nerveuses et neuromusculaires (DEI-CAS, 1976). Il faut donc admettre que cette activité est très forte puisqu'elle dépasse assez largement celle trouvée dans des homogénats tissulaires de vertébrés préparés de façon semblable.

Plusieurs auteurs acceptent le rôle d'hydrolyser l'acétylcholine de *Schistosoma* pour l'AChE. L'acétylcholine est le neurotransmetteur inhibiteur de la motilité chez le ver. Cela n'exclut pas l'existence de fonctions extranerveuses des cholinestérases schistosomiennes. PROBERT et DURRANI (1977) résument les hypothèses sur les fonctions des cholinestérases des trématodes et des cestodes. La BChE hydrolyserait l'acétylcholine qui agit dans les synapses interneuronales. L'AChE hydrolyserait l'acétylcholine des synapses neuromusculaires, mais elle aurait aussi des rôles extranerveux : sur la perméabilité et l'osmorégulation de la larve hydatique (SCHWABE et Coll., 1961) ; sur l'excrétion de lipides chez *Ligula* (ARME, 1966) ; sur l'accumulation de lipides dans le sporocyste des trématodes (PROBERT, 1966).

En conclusion :

1. L'activité de la BChE de *Schistosoma mansoni* est de 3 à 11 fois plus forte que celle de *Fasciola* et 2 à 9 fois plus élevée que celle de plusieurs tissus de rat.
2. L'activité de la BChE de *S. mansoni* est plus forte à pH 7,4. Cette activité augmente avec la température (25 à 37°C).
3. Bien que l'activité de la BChE semble plus forte chez la femelle de *S. mansoni* que chez le mâle, cette différence n'a pu être établie de façon statistiquement significative.
4. Les fonctions exactes de la BChE chez *S. mansoni* demeurent donc à l'heure actuelle obscures.

1.6. Conclusions sur l'étude du système nerveux de *S. mansoni*

Notre contribution apporte des éléments nouveaux sur la neuroanatomie, la neurosécrétion, l'ultrastructure et la cytochimie ultrastructurale du système nerveux, la localisation des neuromédiateurs, et l'activité de la BChE.

L'anatomie générale du système nerveux de *S. mansoni* suit le modèle général du système nerveux des Trématodes : une paire de ganglions latéro-oesophagiens reliés l'un à l'autre par une commissure dorsale ou sus-oesophagienne. Les nerfs qui prennent origine dans le système nerveux central suivent aussi la distribution du modèle habituel. Cependant, il faut remarquer l'organisation complexe des éléments nerveux dans la région rétroacétabulaire en rapport avec le *Nervus ventralis* postérieur. Par ailleurs, dans les deux ventouses, les éléments nerveux sont représentés remarquablement. Les grandes cellules à noyau vésiculeux du parenchyme des ventouses sont de nature musculaire.

Les organes nerveux de *Schistosoma* ne sont pas séparés structurellement des éléments parenchymateux. Les fibres nerveuses et les cellules sont groupées en conservant leur individualité au sein des organes du système nerveux central. Cependant, les neurones sont aussi observés dans le parenchyme, loin des nerfs et d'autres cellules nerveuses. Comme l'ont déjà signalé DIXON et MERCER (1965) (cités par SILK et SPENCE, 1969b), il est possible que le passage de neuromédiateurs et/ou de la neurosécrétion des éléments nerveux vers les organes cibles se fasse par transfert direct de cytoplasme à cytoplasme. Cela semble particulièrement vrai pour les muscles où on peut observer des granules du même type que ceux présents dans les cellules et neurites.

Les affinités tinctoriales de certaines structures nerveuses, et, semble-t-il, non-nerveuses, nous permettent de supposer l'existence de phénomènes neurosécrétoires. Cela a été proposé pour d'autres *Trematoda Digenea* (UDE, 1962 ; GRASSO, 1967a et b ; MATSKASI, 1970 ; HARRIS et CHENG, 1972 ; SHYMASUNDARI et RAO, 1975). Cependant le matériel lysosomal, les ribosomes libres et d'autres structures peuvent occasionnellement réagir avec les colorants signalétiques de la neurosécrétion (BERLIND, 1977).

Les granules de type I dont les caractères morphologiques et biométriques correspondent à ceux des granules de neurosécrétion ont été observés dans des éléments nerveux et musculaires. Néanmoins, la libération du matériel contenu dans les granules vers le milieu extracellulaire n'a pas été démontrée ; cela est pourtant une condition nécessaire pour pouvoir affirmer la nature neurosécrétoire de ces granules (BERLIND, 1977).

La recherche des éléments neurosécréteurs dans la cercaire de *S. mansoni* nous a permis de mettre en évidence pour la première fois, à notre connaissance,

la fuchsinophilie de la glande céphalique dont les propriétés tinctoriales ont été étudiées par EBRAHIMZADEH (1970) et DORSEY (1976).

L'ultrastructure du système nerveux de *S. mansoni* adulte suit le modèle général du système nerveux des Plathelminthes.

Quatre populations de structures fines neuroplasmiques peuvent être distinguées sur les plans morphologique et biométrique :

- granules denses de type 1 ($1750 \text{ \AA} \pm 480$), probablement de nature neurosécrétoire;
- granules denses de type 2 ($820 \text{ \AA} \pm 200$), contenant de la 5-HT, d'après nos études autoradiographiques ;
- vésicules claires de type 1 ($375 \text{ \AA} \pm 116$), d'aspect synaptoïde ;
- vésicules claires de type 2 ($1040 \text{ \AA} \pm 340$), dont la nature est inconnue.

Le neuroplasma des fibres contient aussi des mitochondries, des microtubules et des granules de glycogène.

Les synapses de *S. mansoni* adulte n'ont pas de caractères particuliers par rapport à ceux des synapses des Trématodes. Cependant, elles sont différentes des synapses décrites chez les Turbellariés (KOOPOWITZ et CHIEN, 1975).

L'activité cholinestérasique du ver adulte est localisée dans le système nerveux central et périphérique et dans la paroi oesophagienne. A haute résolution, l'activité cholinestérasique est localisée autour des petites neurites, dans les régions neuromusculaires et synaptiques, et parfois, autour de cellules musculaires.

D'après nos études histochimiques utilisant des inhibiteurs, l'activité de l'AChE serait plus importante que les activités cholinestérasiques non-AChE. Cela est en accord avec les résultats biochimiques (BUEDING, 1952 ; BUEDING et Coll., 1972). Cependant nous avons trouvé en employant des méthodes biochimiques, une activité très importante de la BChE schistosomienne. Cette activité s'élève avec la température, entre 25 et 37°C, et elle est plus forte à pH 7,4.

La 5-HT et la DA sont capturées sélectivement *in vitro*. Cela nous a permis d'étudier la localisation spécifique de ces substances dans l'organisme des parasites adultes. La 5-HT et la DA sont incorporées dans les neurites. La 5-HT se localise surtout dans des fibres nerveuses contenant des granules denses de type 2 ($820 \text{ \AA} \pm 200$). A notre connaissance, c'est la première indication sur le contenu chimique de ces granules. De semblables granules ont été observés chez *Fasciola hepatica* (DIXON et MERCER, 1965 ; WILSON, 1970 ; GRASSO et QUAGLIA, 1974).

Le succès relatif de la méthodologie autoradiographique appliquée aux amines biogènes schistosomiennes peut être expliqué par l'existence d'une capture spécifique de la 5-HT et de la DA, par la résistance des deux substances au traitement histologique et par la solidité de leur union avec les structures cellulaires. On

sait par contre que l'union trop faible de la DA avec les structures cellulaires du cerveau des vertébrés a rendu difficile les études autoradiographiques (TAXI, 1976).

Dans les conditions où nous avons travaillé, les phases larvaires de *Schistosoma* n'ont pas incorporé *in vitro* la 5-HT et la DA marquées. Par contre, l'hépatopancréas de *Biomphalaria glabrata* a incorporé la 5-HT-³H et la DA-³H. Les régions neuromusculaires du tentacule du mollusque ont incorporé la 5-HT-³H. Ce fait ouvre, peut-être, une nouvelle voie d'accès aux problèmes du rapport hôte-parasite. En fait, il est probable qu'il existe des influences réciproques entre les neuromédiateurs de l'hôte et ceux du parasite.

2. OBSERVATIONS SUR LE PARENCHYME DE *SCHISTOSOMA MANSONI* ADULTE

2.1. Introduction

Dans les Métazoaires Acoelomates, l'espace entre la paroi du corps et les organes internes est occupé par un tissu appelé la parenchyme, dont la structure et les fonctions restent encore incertaines. Les caractéristiques du parenchyme ne sont pas les mêmes chez tous les Acoelomates, et même à l'intérieur de l'ordre *Digenea* il existe d'importantes différences.

Selon LOOSS (1895), CHATIN (1887), LEUCKART (1893), et LORTET et VIALLETON (1894), avaient déjà fait référence au parenchyme des Schistosomes. D'après eux, le parenchyme est une structure réticulaire formée par des cellules étoilées avec des prolongements, sur un fond de "substance fondamentale" ou "amorphe".

LOOS (1895) trouve des différences entre le parenchyme des mâles et celui des femelles de *Schistosoma*. Chez le mâle, le parenchyme est parcouru par d'abondantes fibres musculaires. Le noyau des cellules a un gros corps chromatinien et quelques petits corpuscules périphériques. Dans le parenchyme s'observent des vacuoles ovalaires dont le grand axe est orienté selon le sens des fibres musculaires. LOOS signale qu'il ne peut pas distinguer les prolongements des cellules parenchymateuses des prolongements des cellules musculaires. Il observe aussi de nombreuses cellules ganglionnaires, réparties partout dans le corps.

Chez la femelle, toujours selon LOOSS (1895), l'étude du parenchyme est facilitée par l'absence d'une aussi grande quantité de fibres musculaires. Les cellules parenchymateuses sont semblables à celles du mâle. Pour LOOSS (1895), la "substance amorphe" n'existe ni chez le mâle ni chez la femelle.

GÖNNERT (1955) trouve que chez le mâle de *Schistosoma* la plus grande partie du corps est formée par des cellules parenchymateuses contenant du glycogène et des lipides. Selon le même auteur, le noyau des cellules musculaires est plus petit que celui des cellules parenchymateuses.

SILK ET SPENCE (1969a, b), SILK et Coll. (1969) et SPENCE et SILK (1970, 1971), dans une série de travaux sur l'ultrastructure de *S. mansoni*, ne font pas référence à la cellule parenchymateuse signalée par les auteurs antérieurs.

REISSIG (1970) décrit quatre types cellulaires dans le parenchyme de *S. mansoni*, dont deux musculaires, un nerveux et un tégumentaire. Bien que cet auteur n'ait pas exclu l'existence d'un type cellulaire purement parenchymateux

chez *S. mansoni*, elle ne l'a pas décrit. Par contre, une cellule parenchymateuse dont il semble que la structure soit assez caractéristique et dont la fonction soit en rapport avec le métabolisme énergétique, a été décrite par THREADGOLD et GALLAGHER (1966) et GALLAGHER et THREADGOLD (1967) chez *Fasciola hepatica*. THREADGOLD et ARME (1974) et BENNETT (1977) ont fait référence à la même cellule.

Au cours des études ultrastructurales faites sur *S. mansoni* adulte, nous avons observé dans le parenchyme plusieurs types cellulaires. La nature et la signification de ces cellules n'étant pas encore éclaircie, nous avons cru intéressant de rapporter nos observations sur la composition cellulaire du parenchyme du ver. Nous proposerons ensuite des critères pour pouvoir reconnaître chaque type cellulaire au niveau des microscopies photonique et électronique.

2.2. Matériel et méthodes

Les méthodes d'obtention des *Schistosoma mansoni* adultes et les techniques de fixation pour la microscopie photonique et électronique ont déjà été décrites (cf. 1.3.2.1.1., 1.3.2.1.3. et 1.3.2.2.1.).

Les colorations suivantes ont été faites sur les coupes semi-fines : Bleu azur, Bleu de toluidine, Fuchsine paraldéhyde selon CLARK (1955) modifiée par ENGELHARDT et DHAINAUT-COURTOIS (1978) et Thionine-aldéhyde selon PAGET (1959).

Les colorations suivantes ont été faites sur les coupes à la paraffine : A.P.S. ou Hotchkiss-McManus (GABE, 1968) ; Fuchsine-paraldéhyde-hématoxyline de Groat-picro-indigo-carmin (GABE, 1968) ; Fuchsine-paraldéhyde d'après CLARK (1955), d'après CAMERON et STEELE (1959) et d'après BONNER (1958) ; Bleu Alcian ; Hématoxyline chromique-phloxine de Gomori (GABE, 1968).

Les dessins de cellules observées dans les coupes semi-fines ont été faits à la chambre claire.

Pour le comptage des cellules de différents types, nous avons eu recours à la méthode employée par GUSTAFSSON (1976) dans ses études cytologiques des Cestodes.

2.3. Résultats

C'est surtout à partir des coupes semi-fines colorées au Bleu azur et au bleu de toluidine que nous sommes arrivés à reconnaître les types cellulaires du parenchyme de la partie antérieure du corps de *Schistosoma mansoni* adulte. Ensuite, nous avons établi la correspondance entre la cytologie au niveau des coupes semi-fines et celle observable dans les coupes à la paraffine et dans les coupes ultrafines.

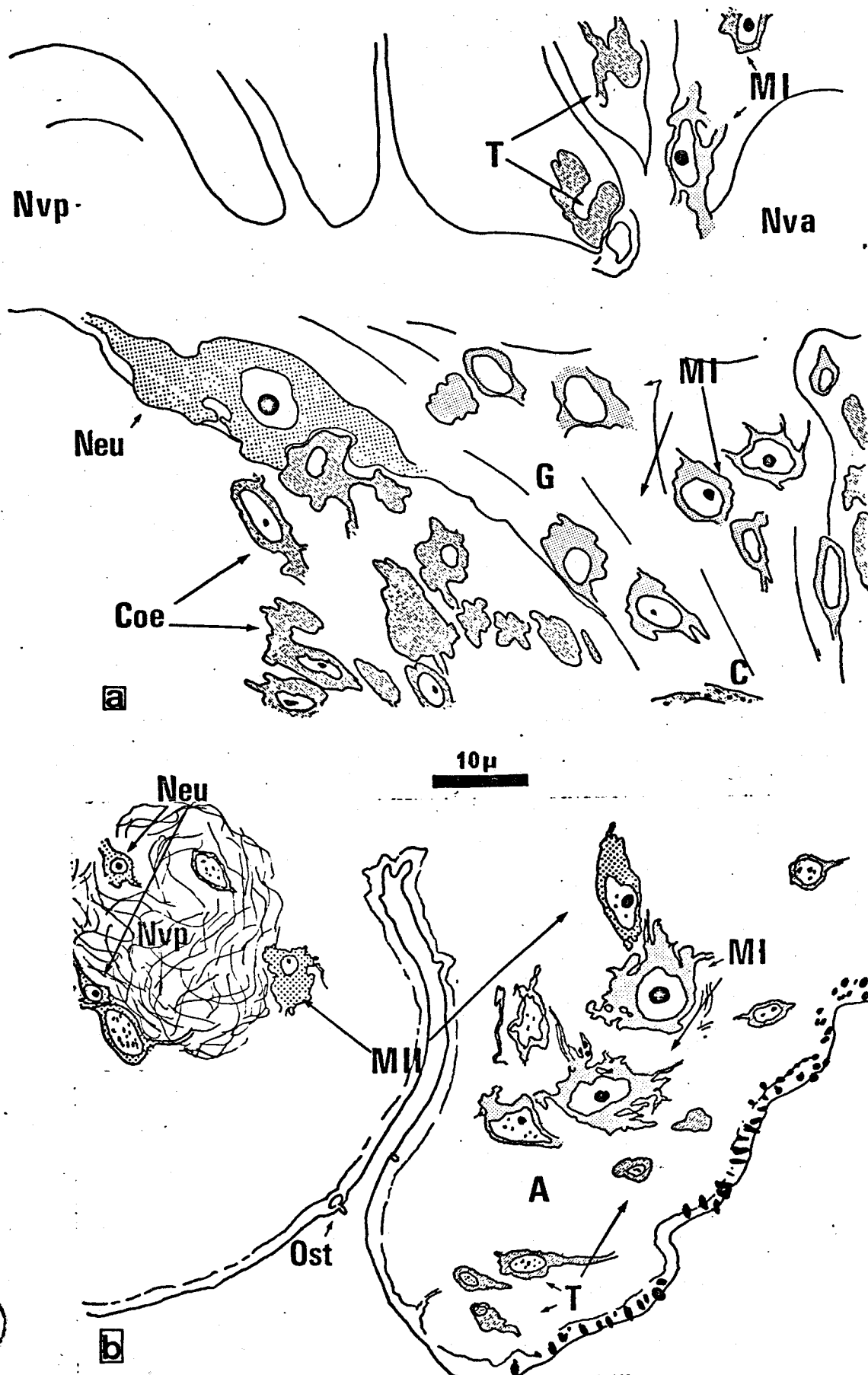


Fig. 7 - Cytologie de *S. mansoni* adulte. Coupes semi-fines colorées au Bleu azur (chambre claire). Toutes les cellules n'ont pas été représentées. a : coupe horizontale (mâle) dont le plan passe par la partie la plus ventrale du système nerveux central ; b : coupe transversale (mâle) au niveau de l'acétabulum. A : acétabulum ; C : commissure nerveuse sus-oesophagienne ; Coe : cellules oesophagiennes ; G : ganglion ; i : caecum ; MI : cellules musculaires de type I ; MII : cellules musculaires de type II ; Neu : neurone ; Nva : *Nervus ventralis* antérieur ; Nvp : *Nervus ventralis* postérieur ; Ost : organe sensoriel tégumentaire ; T : cellules tégumentaires.

Bien que les coupes à la paraffine nous aient permis d'établir les affinités tinctoriales de chaque type cellulaire, nous aurions été incapables de découvrir l'architecture tissulaire sans l'étude des coupes semi-fines incluses dans l'araldite.

2.3.1. Le parenchyme au niveau photonique

Sur les coupes semi-fines colorées au bleu azur et au bleu de toluidine, les cellules tégumentaires (3 à 5 μ) sont reconnaissables par un cytoplasme coloré très fortement en bleu, avec des prolongements, et par un noyau avec un nucléole et une chromatine disposée en plusieurs masses (Fig. 7a et b).

Nous avons observé deux types de cellules musculaires qui correspondent à ceux décrits par REISSIGG (1970) à l'échelle ultrastructurale.

Les cellules musculaires de type I sont les plus grandes (5 à 24 μ). Le cytoplasme coloré en bleu est souvent vacuolisé et contient des inclusions de lipides osmiophiles (Fig. 7 b). Les prolongements donnent naissance à des fibres musculaires. Le noyau arrondi, grand et clair, peut être pénétré par des digitations cytoplasmiques. Il ne montre qu'un grand nucléole central ou excentré mais jamais collé à l'enveloppe nucléaire. Celle-ci est très nette. Nous n'avons pas distingué de chromatine.

Les cellules musculaires de type II (Figs 7 b) sont reconnaissables par le cytoplasme bleu, le noyau ovalaire et clair, avec un nucléole excentré souvent collé à l'enveloppe nucléaire, coloré en bleu intense, et plusieurs corps chromatinien disposés au hasard. Ces cellules ont une taille et un aspect très variables, en rapport avec le plan de la coupe. Le cytoplasme peut aussi héberger des lipides osmiophiles.

Nous avons observé deux types de neurone. Le grand neurone ganglionnaire, situé à l'origine du *Nervus ventralis* postérieur (Pl. IV, fig. a ; Fig. 7 a), c'est une cellule de grande taille (25 sur 20 μ), et c'est la seule grande cellule nerveuse que nous ayons observée dans le ganglion. Son cytoplasme bleu pâle, son noyau grand et clair, et le nucléole sphérique remarquable, permettent de repérer assez facilement cette cellule dans les coupes semi-fines sagittales et horizontales. La fuchsine paralaldéhyde ne semble pas colorer ce grand neurone.

Les neurones parenchymateux sont plus petits (4 à 7 μ), en général de forme triangulaire ; les caractères cytologiques étant les mêmes que ceux des neurones des organes nerveux (voir ch. 1).

La cellule protonéphridiale a un cytoplasme aussi basophile que celui de la cellule tégumentaire. Le noyau présente un gros nucléole et la

Tableau 8 - Affinités tinctoriales des types cellulaires du parenchyme de la partie antérieure de *Schistosoma mansoni* adulte.

	Bleu azur et Bleu de toluidine	Fuchsine - paraldéhyde (selon CLARK, 1955)	Hématoxyline chromique de Gomori (GABE, 1968)
Cellule tégumentaire			
cytoplasme	bleu foncé	foncé	granules rouges (même affinité tinctoriale que les épines tégumentaires)
noyau	chromatine en plusieurs masses	jaune ; chromatine bleu foncé	clair ; chromatine en rouge
nucléole	bleu foncé	bleu noirâtre	rouge
Cellule musculaire de type I			
cytoplasme	bleu	clair	violet
noyau	clair	jaune	clair
nucléole	bleu foncé	orange	rouge
Cellule musculaire de type II			
cytoplasme	bleu	bleu pâle	violet
noyau	clair ; plusieurs corps chromatiniens	orange ; chromatine bleu foncé	clair ; chromatine en bleu
nucléole	bleu foncé	bleu foncé	rouge
Neurone			
cytoplasme	bleu pâle	clair ; parfois fuchsinophile	souvent bleu violacé
noyau	clair	jaune	clair
nucléole	bleu foncé	orange	rouge violacé

MS
LILLI

chromatine disposée en plusieurs masses. Les cellules protonéphridiales sont toujours en rapport avec les tubes de l'appareil excréteur.

Dans le tableau 8 nous avons regroupé les caractéristiques tinctoriales des types cellulaires parenchymateux décrits et figurés (Fig. 7).

Dans le tableau 9 est indiquée la fréquence (en nombre et en pourcentage) de chaque type cellulaire dans le parenchyme des diverses régions de la partie antérieure du ver.

La Fig. 8 (a, b et c) représente la composition cellulaire du parenchyme de trois régions de *S. mansoni*.

Tableau 9 - Composition cellulaire du parenchyme de quatre zones de *Schistosoma mansoni*. Coupes semi-fines de 1 à 2 μ faites sur cinq exemplaires mâles.

Type cellulaire	Ventouse orale (Coupe sagittale)		Région du système nerveux central (Coupe horizontale)		Région de la ventouse acétabulaire (Coupe transversale)		Parenchyme de la région dorsale (1) (Coupe sagittale; niveau testiculaire)	
	Nb	%	Nb	%	Nb	%	Nb	%
Cellules tégumentaires	10	45	24	39	28	40	35	67
Cellules de l'épithélium digestif	—	—	18	29	—	—	—	—
Cellules musculaires I	3	14	14	23	18	25	16	31
Cellules musculaires II	8	36	1	2	20	29	—	—
Neurones	1	5	4	7	4	6	1	2

(1) Une seule coupe étudiée en détail.

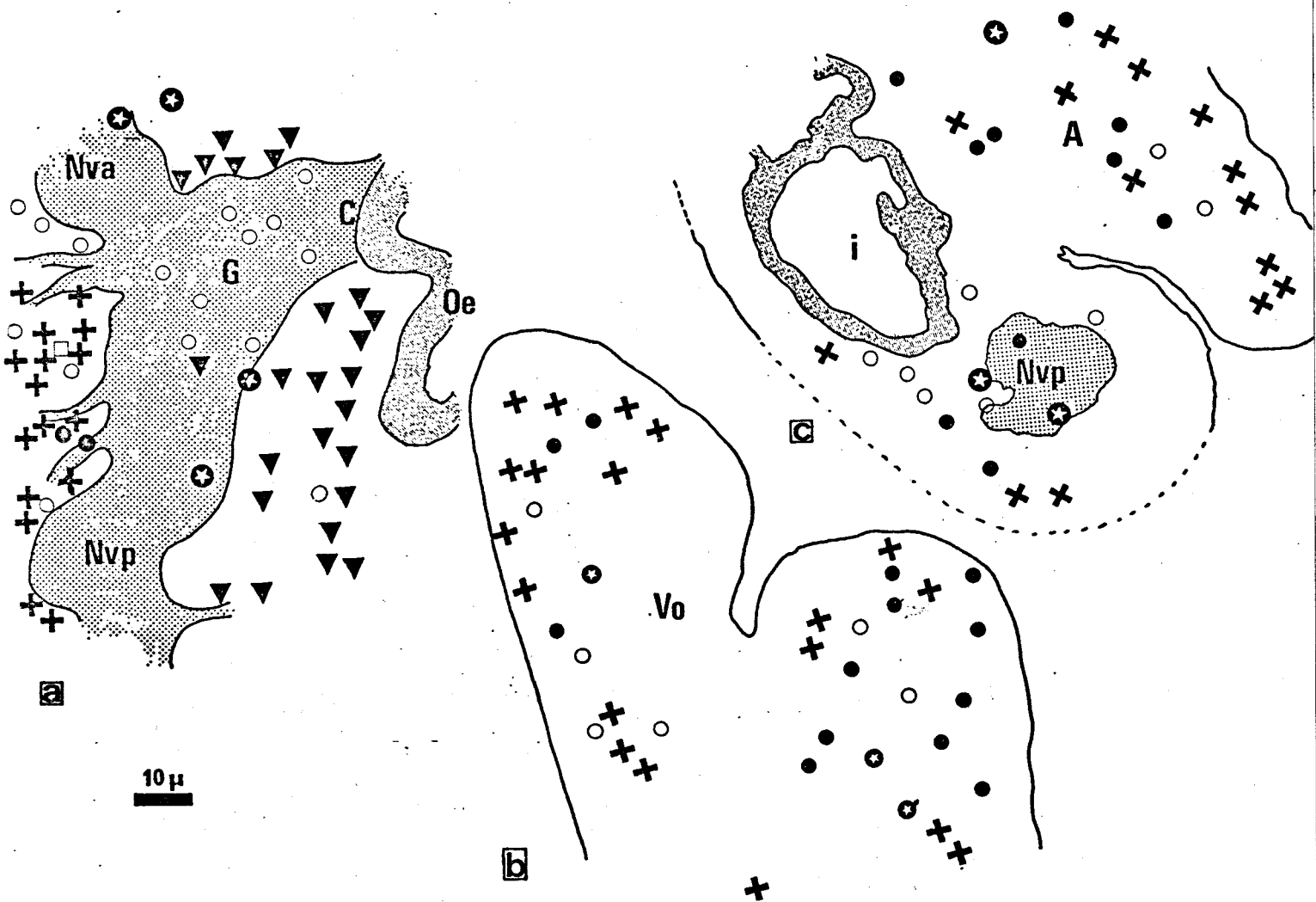


Fig. 8 - Composition cellulaire du parenchyme de *S. mansoni*. Coupes semi-fines (mâle) colorées au Bleu azur (chambre claire).

a : même coupe que celle de la Fig. 7a ; b : coupe sagittale de la ventouse orale ; c : même coupe que celle de la Fig. 7b. Mêmes références que pour la Fig. 7 .

Oe : oesophage ; Vo : ventouse orale ; Neurones (étoiles) ; cellules oesophagiennes (triangles remplis) ; cellules tégumentaires (croix) ; cellules musculaires de type I (cercles vides) ; idem de type II (cercles remplis).

2.3.2. Ultrastructure

Les cellules tégumentaires ont les caractères qui ont été signalés par les nombreux auteurs qui ont étudié le tégument de *S. mansoni*. Il s'agit de cellules à grande activité métabolique possédant des vacuoles et des corps contenant des inclusions diverses que nous n'allons pas redécrire ici. Les photos a et b de la planche XI montrent les traits morphologiques les plus remarquables dans ces cellules.

Il en va de même pour les cellules protonéphridiales (Pl. XI, figs c et d), à noyau dense, avec un grand nucléole et des gros corps de chromatine disposés en plusieurs masses. Ces cellules se prolongent par des cils qui suivent le modèle habituel (9 paires de microtubules périphériques et 1 paire centrale) (Pl. XI, fig. c).

Les neurones (Pl. IV, fig. f) ont déjà été décrits dans le chapitre 1.

Les cellules musculaires de type I sont représentées dans les figures c, d et e de la planche XII, et dans la fig. 7a et b du texte. Elles présentent un noyau arrondi, assez régulier, avec un grand nucléole sphérique très dense. L'enveloppe nucléaire est accentuée par un très fin dépôt chromatinien. Le cytoplasme est reconnaissable par l'abondance relative de mitochondries à crêtes droites, la présence occasionnelle de granules denses (Pl. XII, fig. d) et des vacuoles caractéristiques. Le glycogène est abondant. Les grandes vacuoles se forment à partir de l'élargissement des citernes du système réticulaire endoplasmique granulaire (Pl. XII, flèche dans la fig. d). L'observation dans le cytoplasme de fibres musculaires (Pl. XII, figs d et e), nous permet de confirmer le diagnostic.

Les cellules musculaires de type II, plus petites que les antérieures, ont un aspect assez variable, probablement en rapport avec le stade fonctionnel. La fig. a de la Pl. XII, montre un groupe de cellules musculaires de type II. Les noyaux ovalaires ont de gros nucléoles sphériques et la chromatine, très dense, est disposée très irrégulièrement. La densité des cytoplasmes est variable. Dans une des cellules on observe un appareil de Golgi très remarquable, et un système réticulaire endoplasmique granulaire assez développé en continuité avec l'enveloppe nucléaire. Les mitochondries sont nombreuses. Il y a quelques lysosomes et des granules denses.

Les cellules musculaires de type II, qui ont été décrites par SILK et SPENCE (1969b) peuvent aussi montrer des inclusions lipidiques et des vacuoles claires à contenu finement granuleux.

2.4. Discussion

Le parenchyme de *S. mansoni* a les caractères suivants :

- l'absence de cellules parenchymateuses "pures" ;
- la présence de cellules musculaires à métabolisme très actif, probablement responsables de la synthèse du matériel interstitiel (SILK et SPENCE, 1969b) ;
- l'absence d'une substance "amorphe" ou "fondamentale" décelable au niveau de la microscopie photonique.

Il semble possible que la fonction de stockage du glycogène et des lipides de la cellule parenchymateuse des autres Plathelminthes soit assurée, chez *S. mansoni*, par les cellules musculaires.

Le parenchyme des Plathelminthes est formé par l'ensemble des corps et des prolongements des cellules qui se trouvent dans le parenchyme et des cellules dont les prolongements forment les épithéliums de surface et des organes cavitaires.

La compréhension de cette architecture complexe et des rapports entre les types différents de cellules, pourrait nous aider à expliquer les multiples fonctions du parenchyme, véritable "milieu intérieur" des Acoelomates.

La présente contribution ne prétend qu'à apporter des critères supplémentaires pour aider à reconnaître les différents types cellulaires dans les coupes semi-fines et ultrafines des Schistosomes adultes.

3. CONCLUSIONS GENERALES

Notre travail est une contribution à la connaissance du système nerveux et du parenchyme du Trématode Digénétique le plus important pour l'homme.

Les premières monographies sur le genre *Schistosoma*, faites pendant le XIXème siècle, avaient déjà mis en évidence l'organisation générale du système nerveux et du parenchyme du ver.

Au XXème siècle, les travaux des écoles de MANSOUR, BUEDING, BENNETT et SENFT, ont attiré l'attention des chercheurs médicaux et vétérinaires, des neurophysiologistes et des pharmacologistes, sur l'intérêt de la neurophysiologie des Trématodes. Celle-ci a fourni un modèle nouveau de système nerveux, permis de mieux comprendre la biologie des parasites, et d'étudier les mécanismes d'action de certaines drogues antihelminthiques.

La structure fine du tissu nerveux de *Schistosoma* n'a pas été étudiée jusqu'à 1969. L'organe sensoriel tégumentaire de la forme adulte, bien décrit par plusieurs auteurs, a un rôle totalement inconnu.

Nos recherches, commencées à la fin de l'année 1975, avaient comme but initial de mettre en évidence des phénomènes neurosécrétoires chez *S. mansoni*. Très vite nos efforts se sont orientés vers les problèmes de la transmission nerveuse.

Au cours de notre travail, nous avons ré-étudié l'ultrastructure du tissu nerveux en précisant la cytologie et la nature des structures fines neuroplasmiques. Dans ce domaine, la mise en évidence au niveau ultrastructural de l'activité cholinestérasique est un fait nouveau qui complète notre connaissance du système cholinergique du ver.

Nos études autoradiographiques de l'incorporation de la 5-HT et de la DA fournissent un modèle expérimental susceptible d'être utilisé pour connaître dans quelle mesure l'incorporation de ces substances et leur localisation peuvent être influencées par les modifications du milieu, par exemple, présence de drogues anti-schistosomes. Le modèle permet aussi d'étudier le métabolisme des neurotransmetteurs dans le ver.

La haute concentration de 5-HT chez *Schistosoma*, l'importance de l'activité cholinestérasique par rapport à celle des hôtes, le rôle important de la motilité dans la survie du parasite chez l'hôte définitif, l'existence d'une capture spécifique pour la 5-HT et la DA, indiquent que la biologie de *Schistosoma* est très dépendante des fonctions neuromusculaires du ver.

S. mansoni est un ver Acoelomate. Le parenchyme de la forme adulte montre plusieurs types cellulaires dont tous semblent être spécialisés. Les échanges se feraient de cytoplasme à cytoplasme. La connaissance des mécanismes de ce transfert exige des études supplémentaires.

Notre étude sur l'architecture du parenchyme montre qu'il est formé par l'ensemble des corps cellulaires et des prolongements des cellules tégumentaires, épithéliales, musculaires, nerveuses et protonéphridiales.

Le modèle général de n'importe quelle cellule du parenchyme des Plathelminthes en général, et des Trématodes en particulier, est constitué par un péricaryon situé profondément qui envoie à distance un ou plusieurs prolongements plus ou moins spécialisés.

En résumé, notre contribution :

- complète la connaissance du système nerveux de *Schistosoma* en ce qui concerne les neuromédiateurs et leur métabolisme. Cet aspect présente un double intérêt :
 - a) d'ordre théorique : il ouvre une voie nouvelle pour la connaissance du rôle des neuromédiateurs et de leur localisation dans les tissus des Plathelminthes ;
 - b) d'ordre pratique : il fournit les éléments nécessaires pour pouvoir tester *in vitro* les drogues anti-schistosomes agissant sur le système nerveux du ver.
- complète et précise la connaissance des cellules du parenchyme de *Schistosoma* en apportent les critères pour pouvoir les reconnaître au niveau des microscopies photonique et électronique.

4. RESUME

4.1. Historique des recherches sur le système nerveux et le parenchyme de *Schistosoma*.

Système nerveux

LOOSS (1895) a décrit le système nerveux de *Schistosoma* adulte. FRIPP (1967); BUEDING et Coll. (1967) et DEI-CAS (1976) confirment les résultats de cet auteur : le système nerveux est formé par deux ganglions latéraux symétriques réunis par une commissure sus-oesophagienne. De chaque ganglion se détachent deux groupes de nerfs : un groupe antérieur (*Nervus dorsalis* antérieur, *N. lateralis* antérieur et *N. ventralis* antérieur) ; un groupe postérieur (*N. dorsalis* postérieur et le *N. ventralis* postérieur). Les nerfs longitudinaux sont reliés par des commissures.

La présence de cellules neurosécrétrices chez *S. mansoni* a été suggéré par SILK et SPENCE (1969b), REISSIGG (1970) et DEI-CAS (1976). Il existe des cellules fuchsinophiles hématoxylinophiles et géraninophiles dans le système nerveux et dans des régions non-nerveuses du ver.

SILK et SPENCE (1969b) et DEI-CAS (1976) ont étudié l'ultrastructure du tissu nerveux de l'adulte.

Plusieurs auteurs ont suggéré l'existence d'un système sérotoninergique stimulateur de la motilité et d'un système cholinergique inhibiteur.

Schistosoma contient 10 fois plus de 5-HT* que le cerveau des Mammifères BENNETT et Coll., 1969). Cette amine biogène est incorporée *in vitro* par le ver (CHOU et Coll., 1972 ; BENNETT et BUEDING, 1973 ; BUEDING et Coll., 1974 ; SENFT et Coll., 1976 ; DEI-CAS et Coll., 1977). La 5-HT a été localisée dans le système nerveux du ver. La 5-HTP-décarboxylase (BENNETT et BUEDING, 1974) et la MAO (NIMMO-SMITH et RAISON, 1968), sont présentes dans les homogénats de ver adulte qui semble incapable de synthétiser *de novo* la 5-HT. Lorsque celle-ci est incorporée, elle se localise dans les fibres nerveuses du système nerveux central et périphérique (DEI-CAS et Coll., 1977).

La présence de NE* a été démontrée dans le tissu nerveux du ver adulte (BENNETT et BUEDING, 1971 ; MACHADO et Coll., 1972).

La DA* existe chez *S. japonicum* (CHOU et Coll., 1972) et chez *S. mansoni* (GIANUTSOS et BENNETT, 1977).

Les concentrations de DA et de NE sont 2 à 3 fois plus élevées chez la femelle que chez le mâle. La DOPA-décarboxylase existe chez *S. mansoni* (BENNETT et BUEDING, 1973).

* 5-HT = sérotonine ; NE = norepinephrine ; DA = dopamine.

Des homogénats de *S. mansoni* ont des activités AChE et BChE (BUEDING, 1952 ; BUEDING et Coll., 1972 ; BUEDING et FISHER, 1973 ; GEAR et FRIPP, 1974 ; HILLMAN et SENFT, 1975 ; TOMOSKY-SYKES et BUEDING, 1977).

L'activité cholinestérasique de *Schistosoma* peut être mise en évidence dans plusieurs fractions (FRIPP et MESHEEHG, 1969 ; COLES, 1970) qui permettent d'établir des différences intersexuelles et taxonomiques (FRIPP, 1970).

BOUT et Coll., 1974) ont obtenu un immunsérum anti-AChE de *S. mansoni*. L'activité cholinestérasique a été démontrée par histochimie dans le miracidium (PEPLER, 1958 ; FRIPP, 1967 ; BRUCKNER et VOGEL, 1974), le sporocyste (DI CONZA et BASCH, 1975), la cercaire (LEWERT et HOPKINS, 1965 ; BRUCKNER et VOGEL, 1974) et l'adulte (FRIPP, 1967 ; BUEDING et Coll., 1967 ; DEI-CAS, 1976). Cette activité qui est localisée dans le système nerveux et la paroi oesophagienne est présente autour des neurites de petit diamètre situées à la périphérie des ganglions, dans le parenchyme sous-tégumentaire et occasionnellement autour du péricaryon et des prolongements des cellules musculaires (DEI-CAS, 1976 ; DEI-CAS et DHAINAUT-COURTOIS, 1977).

Parenchyme

CHATIN (1887), LEUCKART (1893), LORTET et VIALLETON (1894) et LOOSS (1895) avaient étudié le parenchyme de *Schistosoma*. LOOSS (1895) a trouvé que le parenchyme du mâle est plus riche en muscles que celui de la femelle. Les cellules parenchymateuses sont semblables dans les deux sexes : étoilées, avec des prolongements qui se confondent avec ceux des cellules musculaires.

REISSIGG (1970) décrit, en ultrastructure, quatre types cellulaires dans le parenchyme de *S. mansoni* dont deux musculaires, un nerveux et un tégumentaire.

4.2. Résultats et discussion

4.2.1. Cellules fuchsinophiles et recherche de la neurosécrétion

Adultes

Nous avons observé des cellules fuchsinophiles à l'origine des gros nerfs postérieurs, dans le parenchyme du corps, des ventouses et dans la région rétroacétabulaire. Les mêmes cellules prennent occasionnellement l'hématoxyline-chromique et émettent une fluorescence rouge lorsqu'elles sont colorées par la géranine G. Un réseau de fibres fuchsinophiles et gérano-philés peut être observé dans la région rétroacétabulaire.

La présence de ces affinités tinctoriales ne semble pas être constante. Les localisations des cellules en question correspondent, en général, à celles signalées chez d'autres Trématodes. L'absence de données physiologiques sur ces cellules ne permet pas d'affirmer leur caractère neurosécréteur.

Stades larvaires

Le seul organe fuchsino-phile que nous ayons trouvé chez les stades larvaires est la glande céphalique de la cercaire intrasporocystique. Cette glande contiendrait des phospholipides (DORSEY, 1976).

4.2.2. Structures subcellulaires des neurites

Les structures subcellulaires neuroplasmiques aux plans morphologique et biométrique, sont les suivantes : granules denses de type 1 ($1750 \text{ \AA} \pm 400$), probablement de nature neurosécrétoire ; granules denses de type 2 ($820 \text{ \AA} \pm 200$), contenant de la 5-HT (résultats autoradiographiques) ; vésicules claires de type 1 ($375 \text{ \AA} \pm 116$), d'aspect synaptoïde ; vésicules claires de type 2 ($1040 \text{ \AA} \pm 340$) (nature inconnue). Le test de "t" (95 %) confirme l'existence des quatre populations de structures différentes.

Les neuroplasmiques renferment aussi des mitochondries, des microtubules et des granules de glycogène.

4.2.3. Etudes autoradiographiques

4.2.3.1. Incorporation de la 5-HT-³H

Adultes

La 5-HT-³H est incorporée *in vitro* par *S. mansoni*. Cette substance se localise dans les tissus nerveux du système nerveux central et périphérique. Les organes sensoriels tégumentaires n'ont pas été marqués. La 5-HT-³H semble se localiser dans les neurites contenant des granules denses de type 2. La préincubation dans la DA "froide" ne change pas significativement les résultats. La correspondance probable entre le contenu des granules denses de type 2 et la 5-HT est la seule indication expérimentale sur la nature chimique du contenu de ces granules dans le tissu nerveux des Trématodes.

L'incubation dans la 5-HT-³H déclenche chez les vers une stimulation très remarquable de la motilité.

Stades larvaires

Les sporocystes n'ont pas incorporé la 5-HT-³H.

Tissus de l'hôte

L'hépatopancréas et certaines zones neuromusculaires du tentacule de *Biomphalaria* ont incorporé la 5-HT-³H.

Rôle de la 5-HT

Il existerait chez *Schistosoma* un système sérotoninergique stimulateur de la motilité. La 5-HT serait donc le neuromédiateur concerné. La 5-HT pourrait aussi avoir un rôle dans le métabolisme énergétique (HILLMAN et SENFT, 1973).

4.2.3.2. Incorporation de la DA-³H

Adultes

La DA-³H est incorporée *in vitro* par les adultes de *Schistosoma*. Le marquage est localisé dans les fibres nerveuses et occasionnellement dans les fibres et cellules musculaires. Le marquage est aussi absent des organes sensoriels tégumentaires. Malheureusement il ne nous a pas été possible d'associer le marquage à une structure subcellulaire donnée.

Stades larvaires

Dans nos conditions de travail, les sporocystes 2 et les miracidiums intraovulaires n'ont pas incorporé la DA-³H.

Tissus des hôtes

Certaines cellules de l'hépatopancréas de *Biomphalaria* et de la couche conjonctive de la paroi intestinale du Hamster ont incorporé la DA-³H.

Rôle de la DA

En plus de son rôle dans la neurotransmission, la DA pourrait aussi avoir un rôle non-nerveux. Elle constitue un bon substrat pour la phenol-oxydase de *Fasciola* (MANSOUR, 1958), enzyme impliquée dans la formation de la coque externe de l'oeuf.

4.2.3.3. Incubation dans l' α -bungarotoxine-I 125

L'incubation de *Schistosoma* adultes dans l' α -bungarotoxine-I 125 n'a pas montré de marquage. Ces résultats devront être confirmés par de nouvelles expériences avant d'être interprétés.

4.2.4. Etude biochimique : détermination de l'activité de la BChE de *Schistosoma*

L'activité de la BChE de *Schistosoma* a été déterminée selon KNEDEL et Coll. (1967). L'activité la plus forte a été enregistrée à pH 7,4 (2430 mU/mgP). L'activité, à pH 7,4 et à 25°C a varié de 890 à 1910 mU/mgP pour les mâles ; elle était de 2540 mU/mgP chez les femelles, et de 1250 à 2540 mU/mgP pour les couples. L'activité la plus faible a été de 240 mU/mgP (couples, pH 7, 25°C). L'activité de la BChE semble être plus forte chez la femelle ; pourtant la différence intersexuelle n'est pas statistiquement significative ($t = 1,53$). L'activité de la BChE schistosomienne serait plus forte que celle de *Fasciola* et que celle de plusieurs tissus du rat.

4.2.5. Etude cytologique du parenchyme

Dans la parenchyme de la partie antérieure de *Schistosoma mansoni* nous avons trouvé les types cellulaires suivants :

. Cellules tégumentaires (3 à 5 u). Bien décrites à haute résolution par d'autres auteurs, elles sont facilement reconnaissables (coupes semi-fines colorées au Bleu azur), par leur cytoplasme bleu très foncé et leur noyau à chromatine disposée en plusieurs masses. A haute résolution ces cellules montrent dans leur cytoplasme des vacuoles et des corps d'inclusion caractéristiques.

. Cellules musculaires de type I (5 à 24 u). Leur cytoplasme est bleu, vacuolisé, avec des inclusions de lipides osmiophiles. Les prolongements donnent naissance à des fibres musculaires. Noyau grand et clair. Nucléole grand, central ou excentré (coupes semi-fines colorées au Bleu azur). En microscopie électronique, le cytoplasme est reconnaissable par : abondance relative de mitochondries à crêtes droites ; présence occasionnelle de granules denses et de vacuoles caractéristiques ; glycogène abondant ; fin dépôt chromatinien sur la face interne de l'enveloppe nucléaire ; fibres musculaires dans le cytoplasme.

. Cellules musculaires de type II (3 à 12 u). Cytoplasme coloré en bleu intense (coupes semi-fines colorées au Bleu azur), pouvant héberger des lipides osmiophiles. Noyau à nucléole excentré et à chromatine en plusieurs corps. Aspect très variable à haute résolution : système réticulaire endoplasmique granulaire assez développé ; appareil de Golgi remarquable ; mitochondries nombreuses ; fibres musculaires dans le cytoplasme.

. Neurones. Ils se présentent sous deux aspects :

- neurones ganglionnaires (25 sur 20 u) : un de chaque côté, situé à l'origine du *nervus ventralis* postérieur. Cytoplasme bleu pâle (coupes semi-fines colorées au Bleu azur) ; noyau grand et clair ; nucléole sphérique remarquable.
- neurones parenchymateux (4 à 7 u) : de forme triangulaire. Mêmes caractères cytologiques que les précédents (sauf la taille).

En microscopie électronique : cytoplasme très peu dense ; système réticulaire endoplasmique granulaire peu développé ; appareil de Golgi remarquable ; granules denses ; mitochondries à crêtes de disposition variée.

. Cellules protonéphridiales. Mêmes caractères que ceux signalés par les autres auteurs. Facilement identifiables.

L'étude quantitative de chacun des types cellulaires considérés dans quatre régions du parenchyme de la région antérieure montre que : les cellules tégumentaires sont les plus nombreuses (39 à 67 %) ; les cellules musculaires de type I et II ont une abondance qui varie avec la zone considérée ; les neurones sont situés dans des régions nerveuses et non-nerveuses et avec des pourcentages semblables. Les affinités tinctoriales de chaque type cellulaire sont aussi étudiées.

BIBLIOGRAPHIE

- ARME, C. - 1966 - Histochemical and biochemical studies on some enzymes of *Ligula intestinalis* (Vestoda Pseudophyllidae). J. Parasit. 52 : 63-68.
- BAER, J., JOYEUX, Ch. - 1961 - Classe des Trématodes (*Trematoda* Rudolphi). In : Grassé, P.P., Traité de Zoologie, Tome IV, Masson, Paris.
- BARKER, L.R., BUEDING, E., TIMMS, A.R. - 1966 - The possible role of acetylcholine in *Schistosoma mansoni*. Br. J. Pharmacol. 26 : 656-665.
- BENNETT, C.E. - 1977 - *Fasciola hepatica* : Development of excretory and parenchymal systems during migration on the mouse. Exp. Parasit. 41 : 43-53.
- BENNETT, J., BUEDING, E. - 1970 - Histochemical localization of the biogenic amines and 5-hydroxytryptamine levels in *Schistosoma mansoni*. J. Parasit. 56 : 28.
- BENNETT, J., BUEDING, E. - 1971 - Localization of biogenic amines in *Schistosoma mansoni*. Comp. Biochem. Physiol. 39 A (4) : 857-867.
- BENNETT, J.L., BUEDING, E. - 1973 - Uptake to 5-hydroxytryptamine by *Schistosoma mansoni*. Molec. Pharmacol. 9 (3) : 311-319.
- BENNETT, J., BUEDING, E., TIMMS, A.R., ENGSTROM, R.G. - 1969 - Occurrence and levels of 5-hydroxytryptamine in *Schistosoma mansoni*. Molec. Pharmacol. 5 (5) : 542-545.
- BERLIND, A. - 1977 - Cellular dynamics in Invertebrate neurosecretory systems. Int. Rev. Cytol. 49 : 171-251.
- BONNER, T.P. - 1968 - Technique for demonstrating neurosecretory cells in parasitic helminths. Trans. Am. microsc. Soc. 87 (1) : 127-128.
- BOUT, D., CAPRON, A., DUPAS, H., CAPRON, M. - 1974 - Characterization of *Schistosoma mansoni* antigens. III. Proc. Int. Congr. Parasit. Munich, 25-31 août. 1 : 1146-1147.
- BRUCKNER, G.H., VOGEL, M. - 1974 - The nervous system of larval *Schistosoma mansoni* as revealed by acetylcholinesterase staining. J. Parasit. 60 (3) : 437-446.
- BUEDING, E. - 1952 - Acetylcholinesterase activity of *Schistosoma mansoni*. Br. J. Pharmac. Chemother. 7 : 563-566.
- BUEDING, E., FISHER, J., BRUCE, J. - 1973 - The antischistosomal activity of a chloroindazole analog of Hycanthous in mice infected with *Schistosoma mansoni*. J. Pharmacol. Exp. Ther. 186 (3) : 402-407.

- BUEDING, E., LIU, C.L., ROGERS, S.H. - 1972 - Inhibition by metrifonate and dichlorvos of cholinesterases in schistosomes. *Br. J. Pharmac.* 46 : 480-487.
- BUEDING, E., BENNETT, J.L., CHOU, T., PERT, C., TOMOSKY, T. - 1974 - Effect of antischistosomal drugs on the uptake of 5-hydroxytryptamine by *Schistosoma mansoni*. *Proc. 3rd Int. Congr. Parasitol.* 3 : 1443-1444.
- BUEDING, E., SCHILLER, E.L., BOURGEOIS, J.G. - 1967 - Some physiological, biochemical and morphological effects of tris(p-aminophenyl) carbonium salts (TAC) on *Schistosoma mansoni*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 16 : 500-515.
- CAMERON, M.L., STEELE, J.E. - 1959 - Simplified aldehyde-fuchsin staining on neurosecretion cells. *Stain Technol.* 34 : 265-266.
- CARPENTER, D.O., GREENE, L.A., SHAIN, W., VOGEL, Z. - 1976 - Effects of eserine and neostigmine on the interaction of α -bungarotoxin with *Aplysia* acetylcholine receptors. *Molec. Pharmac.* 12 : 999-1006.
- 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 Prosobranche). *C. R. Acad. Sc. Paris*, 282, Série D : 73-76.
- CHATIN, E. - 1887 - Sur l'anatomie de la Bilharziose. *C. R. Acad. Sc.* 54 : 596. (Cité par LOOSS, 1895).
- CHOU, T.S., BENNETT, J., BUEDING, E. - 1972 - Occurrence and concentrations of biogenic amines in trematodes. *J. Parasit.* 58 : 1098-1102.
- CHOU, T.C., BENNETT, J., PERT, C., BUEDING, E. - 1973 - Effect of hycanthone and of two of its structural analogs on level and uptake of 5-hydroxytryptamine in *Schistosoma mansoni*. *J. Pharmacol. Exp. Therapeut.* 186 : 408-415.
- CLARK, R.B. - 1955 - The posterior lobes of the brain on *Nephthys* and the mucus gland of the prostomium. *Quart. J. Microscop. Sci.* 96 : 545-565.
- COLES, G.C. - 1970 - A comparison of some isoenzymes of *Schistosoma mansoni* and *Schistosoma haematobium*. *Comp. Biochem. Physiol.* 33 : 549-558.
- DAWES, B. - 1946 - *The Trematodes*. Cambridge Press.
- DEI-CAS, E. - 1976 - Sur le système nerveux de l'adulte *Schistosoma mansoni* Sambon, 1907 (*Trematoda : Digenea*). Univ. Sciences et Techniques, Lille, Diplôme d'Etudes Approfondies.

- DEI-CAS, E., DHAINAUT-COURTOIS, N. - 1977 - Mise en évidence de l'activité cholinestérasique chez l'adulte de *Schistosoma mansoni* par microscopie électronique. Journées de Mycologie et Parasitologie de la France, 11-21 mai, Angers (France).
- DEI-CAS, E., DHAINAUT-COURTOIS, N., DHAINAUT, A. - 1977 - Etude de la localisation de la sérotonine chez l'adulte de *Schistosoma mansoni*. Journées de Mycologie et Parasitologie de la France, 11-21 mai, Angers (France).
- DEI-CAS, E., DHAINAUT-COURTOIS, N., DHAINAUT, A. - 1978 - Etude autoradiographique de l'incorporation de neuromédiateurs chez *Schistosoma mansoni*. Congr. Parasitologie, 2-4 mai, Toulouse (France).
- 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, J., 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 microscopi levels. Eight 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.
- DI CONZA, J.J., BASCH, P.F. - 1975 - Histochemical demonstration of acetylcholinesterase in sporocysts of *Schistosoma mansoni* (Trematoda). Parasitol. 71 : 305-310.
- DIXON, K.E., MERCER, E.H. - 1965 - The fine structure of the nervous system of the cercaria of the liver fluke, *Fasciola hepatica* L. J. Parasit. 51 (6) : 967-976.
- DORSEY, Ch. H. - 1976 - *Schistosoma mansoni* : Description of the head gland of cercarial and schistosomules at the ultrastructural level. Exp. Parasit. 39 : 444-459.
- EBRAHIMZADEH, A. - 1970 - Beiträge zur Entwicklung : Histologie und Histochemie des Drüsensystem der Cercarien von *Schistosoma mansoni* Sambon (1907). Zeitschrift für Parasitenkunde. 34 : 319-342.

- ELLMAN, G.L., COURTNEY, K.D., ANDRES, C. Jr, FEATHERSTONE, R.M. - 1961 - A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem. Pharmac.* 7 : 88-95.
- ENGELHARDT, R.-P. - 1978 - Contribution pour l'étude des phénomènes neuroendocrines chez *Nereis diversicolor*. Thèse de 3ème Cycle, Lille.
- ENGELHARDT, R.-P., DHAINAUT-COURTOIS, N. - 1978 - Communication personnelle.
- EURENIUS, L., JARSKÄR, R. - 1970 - A simple method to demonstrate lipids in epon embedded ultrathin sections. *Stain Technol.* 45 (3) : 129-132.
- FAUST, E.C., JONES, D.A., HOFFMAN, W.A. - 1934 - Studies in *Schistosoma mansoni* in Puerto Rico. III. Biological studies. 2. The mammalian phase of the life cycle. *Puerto Rican Journal of Public Health* 10 : 133-196.
- FRIPP, P.J. - 1967 - Histochemical localization of esterase activity in Schistosomes. *Exp. Parasit.* 21 : 380-390.
- FRIPP, P.J., Mc SHEEHY, M.A.) 1969 - The separation of *Schistosoma mansoni* α -naphthylacetate esterases by thin layer gel electrophoresis. *S. Afr. J. med. Sci.* 34 : 35-37.
- FRITSCH, A. - 1885 - Zur Anatomie der *Bilharzia haematobia* Cobbold. *Zool. Anzeiger* : 199 : 407-411. (Cité par LOOSS, 1895).
- FRITSCH, A. - 1888 - Zur Anatomie der *Bilharzia haematobia* (Cobbold). *Archiv. f. mikroskop. Anatomie* 31 : 1-192. (Cité par LOOSS, 1895).
- GABE, M. - 1968 - Techniques histologiques. Masson, Paris.
- GALLAGHER, S.S.E., THREADGOLD, L.T. - 1967 - Electron-microscope studies of *Fasciola hepatica*. II. The interrelationship of the parenchyma with other organ systems. *Parasitology* 57 : 627-632.
- GEAR, N.R. - 1976 - The effect of inhibitors on the hydrolysis of acetylcholine by four species of *Schistosoma*. *Comp. Biochem. Physiol.* 55 C (1) : 5-10.
- GEAR, N.R., FRIPP, P.J. - 1974 - Comparison of the characteristics of acetylcholinesterase present in four species of *Schistosoma*. *Comp. Biochem. Physiol.* 47 B : 743-752.
- GERSCH, M. - 1965 - Tatsachen und Borstellungen zur Evolution des Hormonsystems im Tierreich. *Naturwissenschaften* 52 : 73-82.
- GIANUTSOS, G., BENNETT, J.L. - 1977 - The regional distribution of dopamine and norepinephrine in *Schistosoma mansoni* and *Fasciola hepatica*. *Comp. Biochem. Physiol.* 58 C : 157-159.
- GILLOTEAUX, J. - 1977 - Innervation du muscle r tracteur antérieur du byssus (ABRM) de *Mytilus edulis* L. III. Localisation histochimique des terminaisons nerveuses   5-HT. *Histochem.* 51 : 343-351.

- GÖNNERT, R. - 1955 - Schistosomiasis-studies. I. Beiträge zur Anatomie und Histologie von *Schistosoma mansoni*. Z. Tropenmed. Parasit. 6 : 18-33.
- GRASSO, M. - 1967a - Prime indagini sulla presenza di cellule neurosecretrici in *Fasciola hepatica*. Atti Accad. naz. Lincei RC (ce. sci. fis. mat. nat.) 42 (1) : 85-87.
- GRASSO, M. - 1967b - Distribuzione e attività delle cellule neurosecretrici in *Fasciola hepatica*. Atti Accad. naz. Lincei RC (Cl. Sci. Fis. mat. nat.) 42 (6) : 903-905.
- GRASSO, M., QUAGLIA, A. - 1974 - Phénomènes de neurosécrétion chez *Fasciola hepatica* au microscope électronique. Parasitol. 16 (1) : 113-115.
- GUSTAFSSON, M.K.S. - 1976 - Basic cell types in *Echinococcus granulosus* (Cestoda, Cyclophyllidea). Acta Zool. Fennica 146 : 1-16.
- GWYN, D.G., HEARDMAN, V. - 1965 - A cholinesterase-Bielchowsky staining method for mammalian motor end plates. Stain Technol. 40 (1) : 15-18.
- HARRIS, K.B., CHENG, T.C.) 1972 - Presumptive neurosecretion in *Leucochloridium morpha constantiae* (Trematoda) and its possible role in governing maturation. Int. J. Parasit. 2 : 361-367.
- HILLMAN, G.R., GIBLER, W.B. - 1975 - Acetylcholine receptors in *S. mansoni*. Visualization and blockade by hycanthone. Biochem. Pharmacol. 24 : 1911-1914.
- HILLMAN, G.R., SENFT, A.W. - 1973 - Schistosome motility measurements : response to drugs. J. Pharmacol. Exp. Ther. 185 : 177-184.
- HILLMAN, G.R., SENFT, A.W. - 1975 - Anticholinergic properties of the antischistosomal drug hycanthone. Am. J. Trop. Med. Hyg. 24 : 827-834.
- HUNTER, W.S., VERNBERG, W.B. - 1955 - Studies on oxygen consumption of digenetic trematodes. II. Effect of two extremes in oxygen tension. Exp. Parasit. 4 : 427-434.
- HYMAN, L.H. - 1951 - The Invertebrates. Vol. II. McGraw-Hill. New-York.
- JORDAN, P. - 1977 - Schistosomiasis. Research to control. Am. J. Trop. Med. Hyg. 26 (5) : 877-886.
- KARNOVSKY, M.J., ROOTS, L. - 1964 - A "direct-coloring" thiocholine method for cholinesterase. J. Histochem. Cytochem. 12 (3) : 219-221.
- 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.
- KOPOWITZ, J., CHIEN, P. - 1975 - Ultrastructure of nerve plexus in flatworms. II. Sites of synaptic interactions. Cell Tiss. Res. 157 : 207-216.
- KUSCHINSKY, G., LÜLLMANN, H. - 1967 - Kurzes Lehrbuch der Pharmakologie. G. Thieme Verlag, Stuttgart.

- LARRA F., DROZ B. - 1970 - Techniques radioautographiques et leurs applications à l'étude du renouvellement des constituants cellulaires. *J. Microsc.* 9 : 845-880.
- LEE, D.L. - 1970 - The fine structure of the excretory system on adult *Nippostrongylus brasiliensis* (Nematoda) and a suggested function for the "excretory glands". *Tissue and Cell* 2 : 225-231.
- LEUCKART, R. - 1893 - Parasiten der Menschen. 2. Anfl. Leipzig und Heidelberg. (Cité par LOOSS, 1895).
- LOOSS, A. - 1895 - Zur Anatomie und Histologie der *Bilharzia haematobia* (Cobbold). *Arch. mikr. Anat.* 46 : 1-108.
- LORTET, F., VIALLETON, L. - 1894 - Etude sur le Bilharzia et la Bilharziose. *Annales de l'Universit  de Lyon* 9 (1). (Cit s par LOOSS, 1895).
- MACHADO, C.R.S., MACHADO, A.B.M., PELLEGRINO, J. - 1972 - Catecholamine-containing neurons in *Schistosoma mansoni*. *Zeitschrift f r Zellforschung und Mikroskopische Anatomie* 124 (2) : 230-237.
- MANSOUR, T.E., SUTHERLAND, E.W., RALL, T.W., BUEDING, E. - 1960 - The effect of serotonin (5-hydroxytryptamine) on the formation of adenosine 3'-5'-phosphate by tissue particles from the liver fluke, *Fasciola hepatica*. *J. Biol. Chem.* 235 : 466-470.
- MATSKASI, L. - 1970 - On the neurosecretory cells of *Opisthodiscus diplodiscoides* Cohn (Trematodes), and their structural changes during the day. *Folia Parasit.* 17 : 25-30.
- MAYOR, D.M., HAMPTON, J.C., ROSARIO, B. - 1961 - A simple method for removing the resin from epoxy-embedded tissue. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 9 : 909-910.
- MICHAL, G. - 1974 - Biochemical Pathways. Boehringer Mannheim. G.M.B.H. W.Germany.
- MORRISS, G.P., THREADGOLD, L.T. - 1967 - A presumed sensory structure associated with the tegument of *Schistosoma mansoni*. *J. Parasit.* 53 : 537-539.
- MORRISS, G.P., THREADGOLD, L.T. - 1968 - Ultrastructure of the integument of adult *Schistosoma mansoni*. *J. Parasit.* 54 : 15-27.
- NIMMO-SMITH, R.H., RAISON; C.G. - 1968 - Mono amine oxidase activity of *Schistosoma mansoni*. *Comp. Biochem. Physiol.* 24 : 403-416.
- NIZAMI, W.A., SIDDIQI, A.H., ISLAM, M.W. - 1977 - Quantitative studies on Acetylcholinesterase in seven species of Digenetic Trematodes. *Z. Parasitenk.* 52 : 275-280.
- OGILVIE, B.M., JONES; V.E. - 1971 - *Nippostrongylus brasiliensis* : a review of immunity and the host/parasite relationship in the rat. *Exp. Parasit.* 29 : 138-177.

- OLIVIER, L., MAO, C.P. - 1949 - The early larval stages of *Schistosoma mansoni* Sambon, 1907 in the snail host *Australorbis glabratus* (Say, 1818). J. Parasit. 35 (3) : 267-275.
- PAGET, G.E. - 1959 - Aldehyde-Thionin : a stain having similar properties to aldehyde-fuchsin. Stain Technol. 34, 223-226.
- PEPLER, W.J. - 1958 - Histochemical demonstration of an acetylcholinesterase in the ova of *Schistosoma mansoni*. J. Histochem. Cytochem. 6 : 139-141.
- PRENANT, M. - 1922 - Recherches sur le parenchyme des Plathelminthes. Arch. Morph. Gen. Exp. 5 : 1-174.
- PROBERT, A.J. - 1966 - Histochemical studies on the redial and cercarial of *Echinoparyphium recurvatum* Linstow. Nature (London) 210 : 550-551.
- PROBERT, A.J., DURRANI, M.S. - 1977 - *Fasciola hepatica* and *Fasciola gigantica* : Total cholinesterase, characteristics, and effects of specific inhibitors. Exp. Parasit. 42 : 203-210.
- RAMISZ, A., SZANKOWSKA, Z. - 1970 - Studies on the nervous system of *Fasciola hepatica* and *Dicrocoelium dendriticum* by means of histochemical method for active acetylcholinesterase. Acta Parasitol. Pol. 17 : 217-223.
- REED, D.J., GOTO, K., WANG, C.H. - 1966 - A direct radioisotopic assay for acetylcholinesterase. Analyt. Biochem. 16 : 59-64.
- REISSIG, M. - 1970 - Characterization of cell types in the parenchyma of *Schistosoma mansoni*. Parasitol. 60 : 273-279.
- 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.
- ROHDE, K. - 1968 - The nervous system of *Multicotyle purvisi* Dawes 1941 (Aspidogastrea) and *Daschistorchis multitesticularis* Rohde, 1963 (Digenea). Implications for the ecology of the parasites. Z. f. Parasitenk. 30 : 78-94.
- SCHWABE, C.W., KOUSSA, M., ACRA, A.N. - 1961 - Host-parasite relationships in Echinococcosis. IV. Acetylcholinesterase and permeability regulation in the hydatid cyst wall. Comp. Biochem. Physiol. 2 : 161-172.
- SENFT, A.W. - 1975 - The design of better drugs for treatment of schistosomiasis. J. Toxicol. Environ. Hlth 1 (2) : 335-337.
- SENFT, A.W., SENFT, G.R., HILLMAN, D.P., KRYGER, S. - 1976 - Influence of hycanthone on morphology and serotonin uptake of *Schistosoma mansoni*. Am. J. Trop. Med. Hyg. 25 (6) : 832-840.
- SILK, M.H., SPENCE, I.M. - 1969a - Ultrastructural studies of the blood fluke *Schistosoma mansoni*. II. The musculature. S.Afr. J. med. Sci. 34 : 11-20.

- SILK, M.H., SPENCE, I.M. - 1969b - Ultrastructural studies of the blood fluke *Schistosoma mansoni*. III. The nerve tissue and sensory structures. S. Afr. J. Med. Sci. 34 (4) : 93-104.
- SILK, M.H., SPENCE, I.M., GEAR, J.H.S. - 1969 - Ultrastructural studies of the blood fluke *Schistosoma mansoni*. I. The integument. S. Afr. J. med. Sci. 34 : 1-10.
- SHYAMASUNDARI, K., RAO, K.H. - 1975 - The structure and cytochemistry of the neurosecretory cells of *Fasciola hepatica* Cobbold and *Fasciola hepatica* L. Z. f. Parasitenk. 47 (2) : 103-109.
- SMYTH, J.D. - 1966 - The physiology of Trematodes. Oliver and Boyd. London.
- SPENCE, I.M., SILK, M.H. - 1970 - Ultrastructural studies of the blood fluke *Schistosoma mansoni*. IV. The digestive system. S. Afr. J. med. Sci. 35 : 93-112.
- SPENCE, I.M., SILK, M.H. - 1971 - Ultrastructural studies of the blood fluke *Schistosoma mansoni*. V. The female reproductive system, a preliminary report. S. Afr. J. med. Sci. 36 : 41-50.
- STEEL, C.G.H., MORRIS, G.P. - 1977 - A simple technique for selective staining of neurosecretion products in epoxy sections with paraldehyde fuchsin. Can. J. Zool. 55 : 1571-1575.
- STOECKEL, M.E., PORTE, A., DELLMANN, W.D. - 1972 - Selective staining of neurosecretory material in semithin epoxy sections by Gomori's aldehyde fuchsin. Stain Technol. 47 (2) : 81-84.
- TAXI, J. - 1976 - General principles of neurotransmitter detection. Problems and application to catecholamines. J. Microsc. Biol. Cell. 27 : 243-248.
- THREADGOLD, L.T., ARME, C. - 1974 - Electron microscope studies of *Fasciola hepatica*. XI. Autophagy and parenchymal cell function. Exp. Parasit. 35 : 389-405.
- THREADGOLD, L.T., GALLAGHER, S.S.E. - 1966 - Electron microscope studies of *Fasciola hepatica*. I. The ultrastructure and interrelationships of the parenchymal cells. Parasitol. 56 (2) : 299-304.
- TOMOSKY-SYKES, T.K., BUEDING, E. - 1977 - Effects of Hycanthon on neuromuscular systems of *Schistosoma mansoni*. J. Parasit. 63 (2) : 259.
- TOMOSKY, T.K., BENNETT, J.L., BUEDING, E. - 1974 - Tryptaminergic and dopaminergic responses of *Schistosoma mansoni*. J. Pharmacol. exp. Ther. 190 (2) : 206-271.
- UDE, J. - 1962 - Neurosekretorische Zellen im Cerebral-ganglion von *Dicrocoelium lanceolatum* (Trematode Digenea). Zool. Anz. 169 : 455-457.

- VARELA, J.M., MANDEL P. - 1976 - The relative distribution of soluble and insoluble cholinesterases in rat excitable tissues. *Exper.* 32 : 977.
- WATSON, M.G. - 1958 - Staining of tissue sections for electronic microscope. *J. Biophys. Cytol.* 4 : 475-727.
- WEBB, R.A., DAVEY G.K. - 1976 - The fine structure of the nervous tissue of the metacestode of *Hymenolepis microstoma*. *Can. J. Zool.* 54 (7) : 1206-1222.
- WILSON, R.A. - 1970 - Fine structure of the nervous system and specialized nerve endings in the miracidium of *Fasciola hepatica*. *Parasit.* 60 : 399-410.
- WOLFE, D.E. - 1961 - Electron microscopic criteria for distinguishing dendrites from preterminal non-myelinated axons in the area postnema of the rat, and characterization of a novel synapse. *Abstr. 1st Ann. Meet. Am. Soc. Cell Biol.* p. 228.
- ZIMMERMANN, H., WHITTAKER, V.P. - 1977 - Morphological and biochemical heterogeneity of cholinergic synaptic vesicles. *Nature* 267 (5612) : 633-635.

ANNEXE PLANCHES

ABREVIATIONS UTILISEES DANS LES PLANCHES I A XII (MICROSCOPIE ELECTRONIQUE)

cf : cellule flamigère

cmv : corps multivésiculaires

E : épines tégumentaires

G : complexe de Golgi

g : granule dense

g 1 : granule dense de type 1

g 2 : granule dense de type 2

gly : glycogène

M : muscle

Mv : microvillosités

m : mitochondrie

Neu : neurone

N : noyau

n : nucléole

r : ribosomes

Sp : sporocyste

v 1 : vésicule de type 1

v 2 : vésicule de type 2

PLANCHE I

Entretien de *Schistosoma mansoni* au laboratoire.

Figs a et b - Inoculation intrapéritonéale de Hamster avec de l'héparine et du Nembutal (fig. a) ; dispositif utilisé pour récolter les vers par perfusion (fig. b).

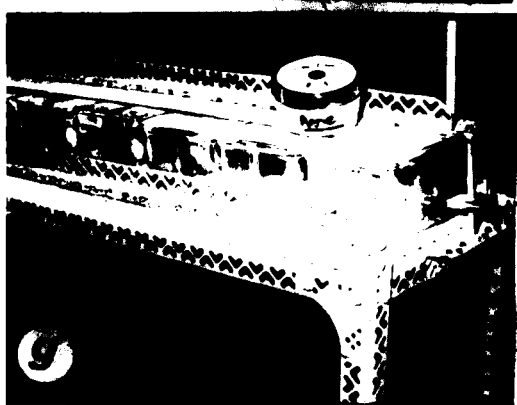
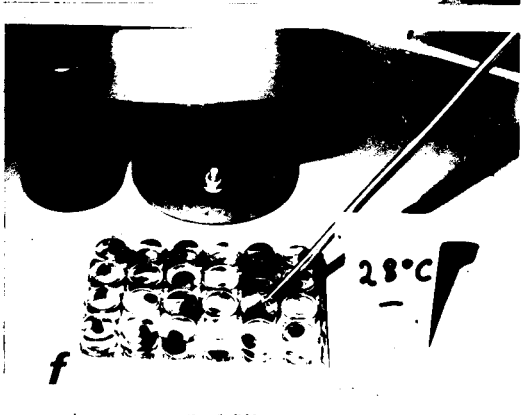
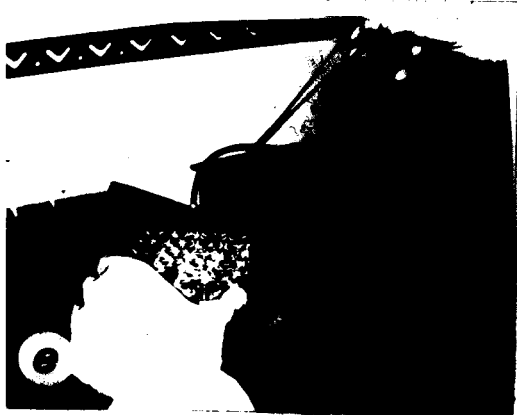
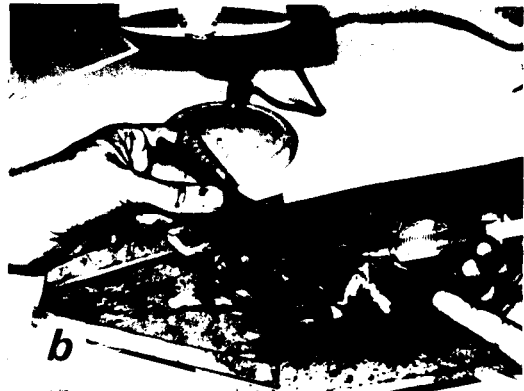
Figs c et d - Ouverture longitudinale de l'intestin du Hamster (fig. c), et grattage de la muqueuse pour libérer les oeufs (fig. d).

fig. e - Aquariums employés pour l'élevage de *Biomphalaria glabrata* ; distribution des mollusques dans les boîtes de Pétri rectangulaires à 24 compartiments (COSTAR).

Fig. f - Infestation de *Biomphalaria glabrata*. Le même dispositif a été employé pour la récolte des cercaires.

Figs g et h - Dispositif employé pour l'infestation des Hamsters.





BY LIFE

PLANCHE II

Neuroanatomie de *S. mansoni* adulte.

Fig. 1 - Vue externe du système nerveux central. Mâle.

Reconstitution à partir de coupes sériées (chambre claire).

G : ganglion ; OE : oesophage ; PP : plexus périoésophagien ;
VO : ventouse orale.

1 : *nervus dorsalis* antérieur ; 2 : *n. lateralis* antérieur ;
3 : *n. ventralis* antérieur ; 4 : *n. oesophagealis* ; 5 : *n.*
ventralis postérieur ; 6 : *n. dorsalis* postérieur.

Fig. 2 - Vue interne du système nerveux central. Mâle.

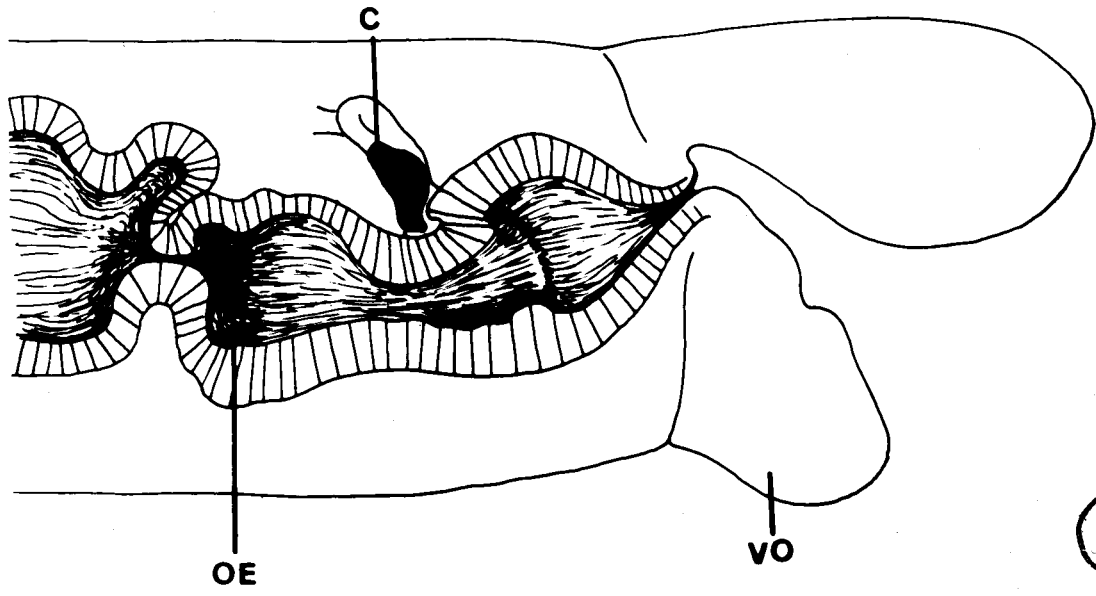
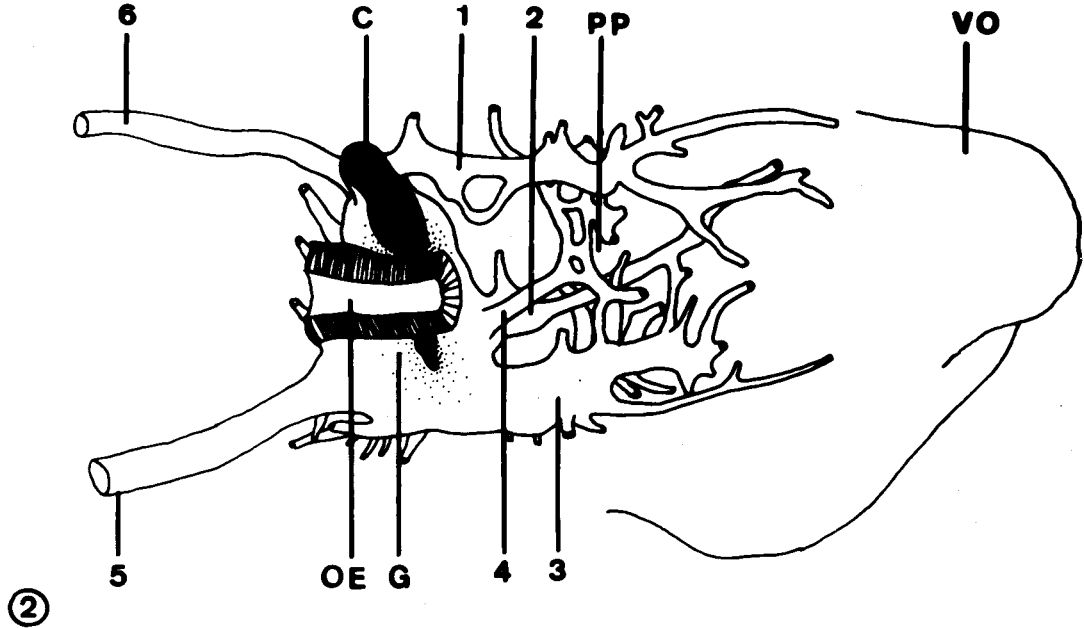
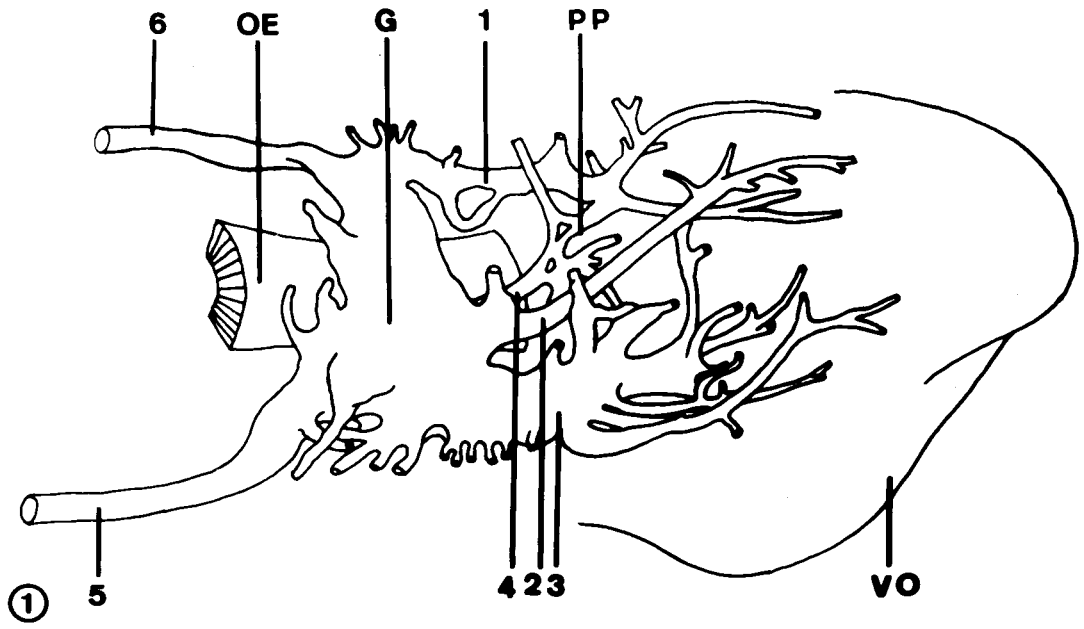
Reconstitution à partir de coupes sériées (chambre claire).

Mêmes références que pour la fig. a.

C : commissure sus-oesophagienne.

Fig. 3 - Rapports anatomiques entre la commissure oesophagienne et
l'oesophage (chambre claire).





0.1 mm



PLANCHE III

Recherche de phénomènes neurosécrétoires chez *S. mansoni*.

- Fig. a - Coupe sagittale. Mâle. Cellules fuchsinophiles (flèches).
Coloration de CLARK.
- Fig. b - Coupe sagittale. Cellule fuchsinophile (flèche) au niveau du milieu du corps. Coloration de CLARK.
- Fig. c - Coupe semi-fine transversale (mâle), qui montre des éléments fuchsinophiles au niveau de la région acétabulaire et rétro-acétabulaire. Coloration de CLARK adaptée pour les coupes semi-fines, selon ENGELHARDT et DHAINAUT-COURTOIS (1978).
- Fig. d - Coupe sagittale (mâle). Cellule fuchsinophile (flèche) dans le *nervus ventralis* postérieur. Coloration de CLARK
- Fig. e - Cellule fuchsinophile (flèche) dans le parenchyme du mâle. Coloration de CLARK.
- Fig. f - Coupe horizontale (mâle). Cellules fuchsinophiles (flèche) au niveau des testicules. Coloration de CLARK.
- Figs g et h - Cellules fuchsinophiles (flèches), au niveau de l'acétabulum (fig. g) et de la ventouse orale (fig. h). Coloration de CLARK.
- Fig. i - Éléments cellulaires et fibres à fluorescence rouge, au niveau de la région acétabulaire. Mâle. Coloration par la géranine G.
- Fig. j - Cellule à fluorescence rouge (flèche), entre deux coupes de l'intestin, près d'un testicule. Coloration par la géranine G.



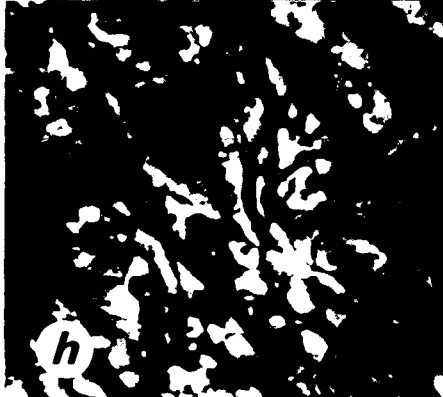
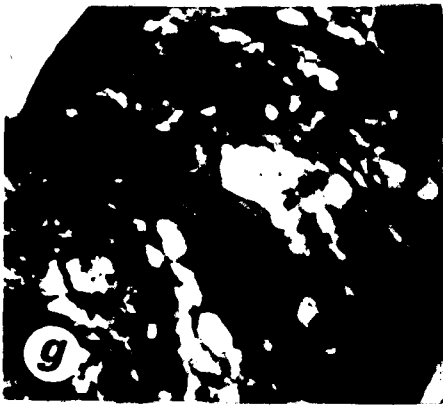
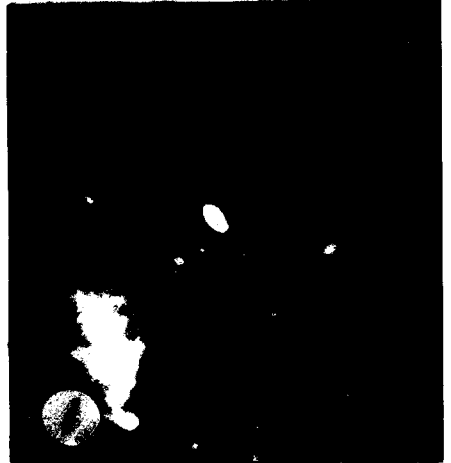
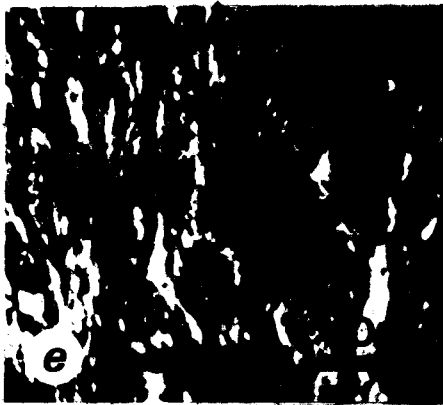


PLANCHE IV

Ultrastructure du système nerveux de *S. mansoni* adulte.

Fig. a - Coupe semi-fine sagittale de la partie antérieure (mâle). La flèche longue signale le ganglion nerveux. La flèche courte indique un neurone volumineux. Coloration par le Bleu Azur.

Fig. b - Coupe semi-fine sagittale de la région du ganglion nerveux (mâle). La flèche indique un organe sensoriel tégumentaire. Coloration par le Bleu Azur.

Fig. c - Organe sensoriel tégumentaire. X 26 000.

Fig. d - Coupe transversale de fibres nerveuses. Granules de type 2 et particules β de glycogène. X 24 000.

Fig. e - Synapse (flèche). X 64 000.

Fig. f - Neurone du ganglion. X 40 000.



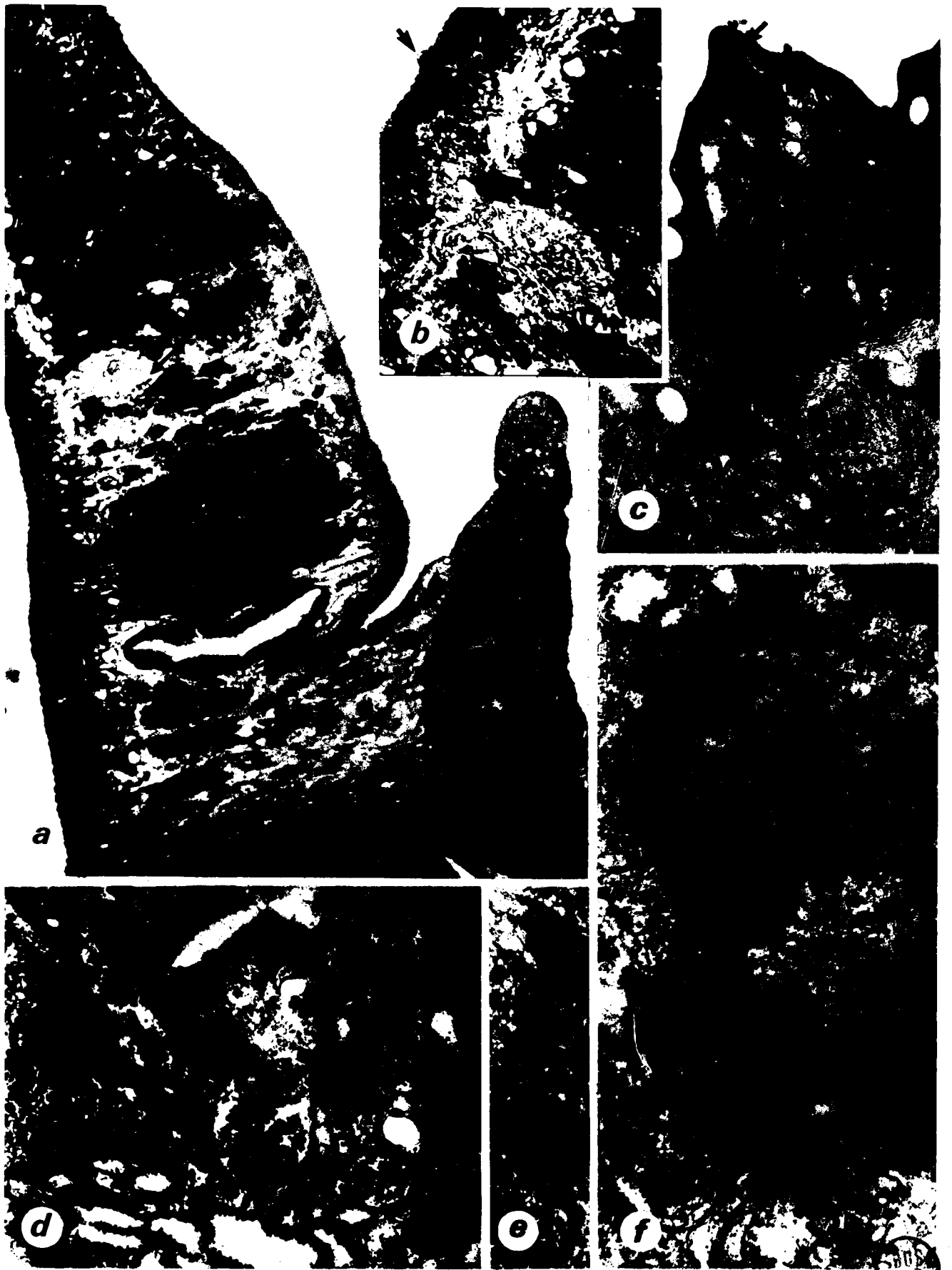
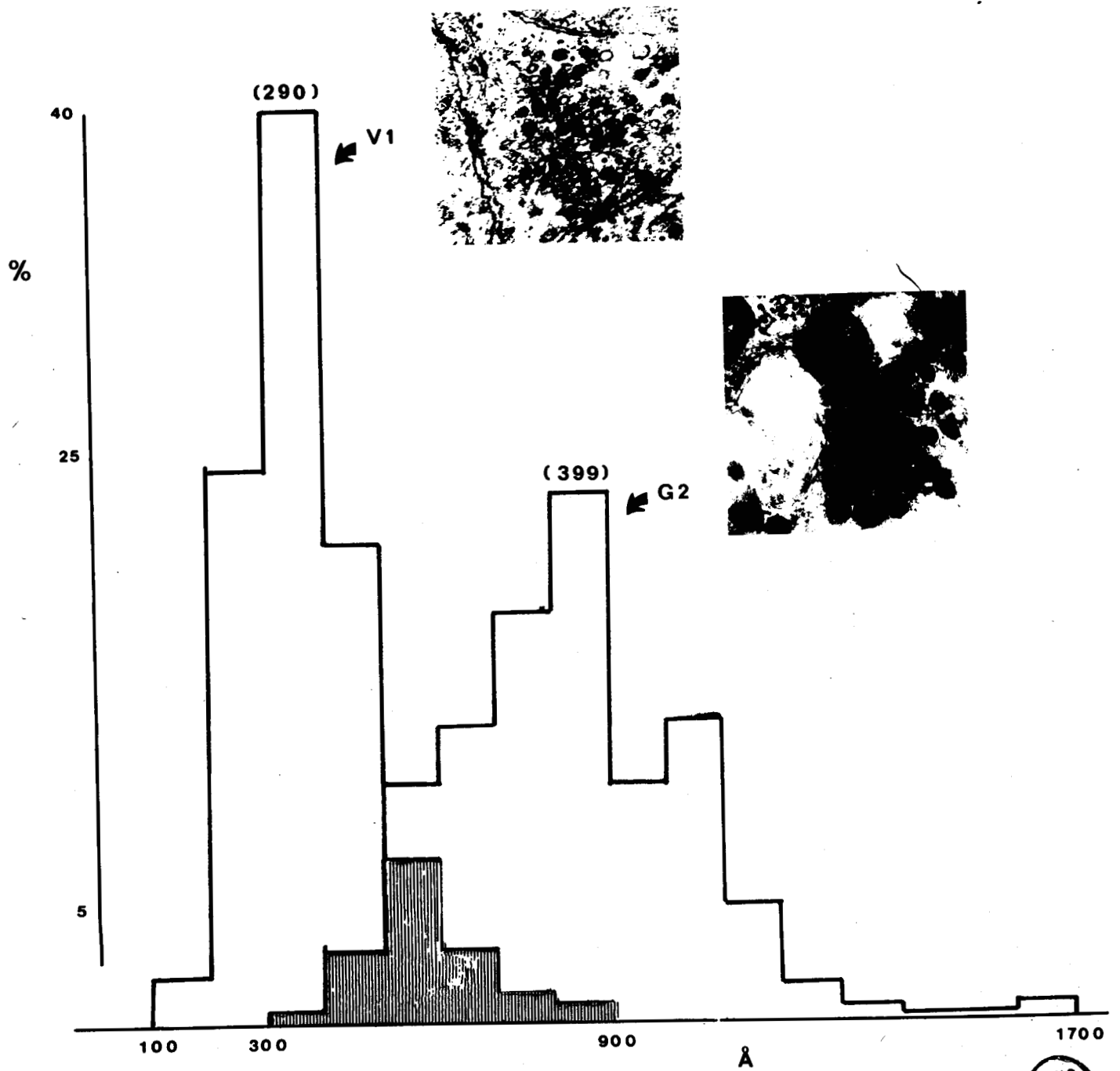


PLANCHE V

Distribution des diamètres des substructures neuroplasmiques (voir texte).

v 1 : x 52 000. Granules de type 2 (G 2) : X 30 000.





BIS
LILLE

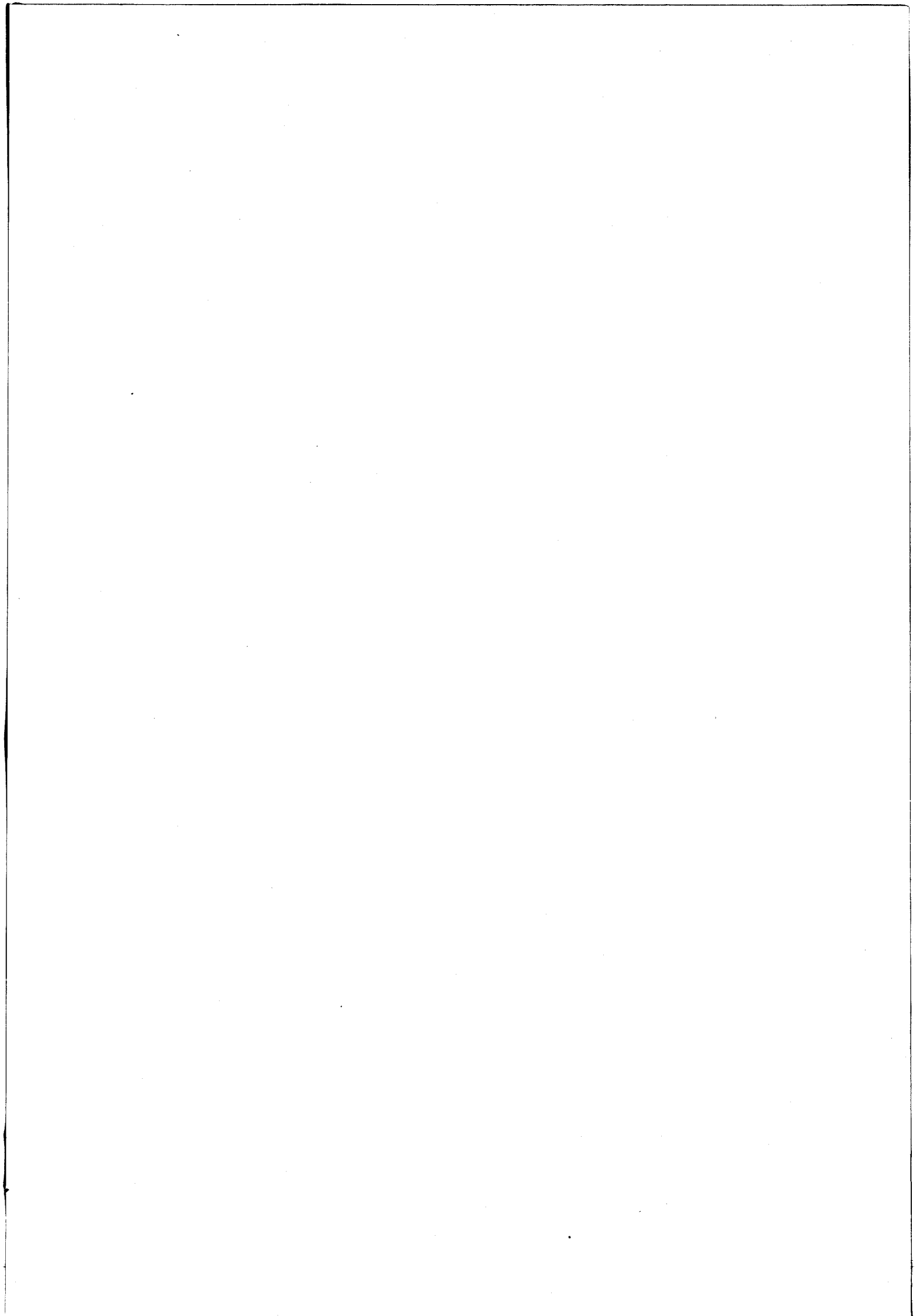
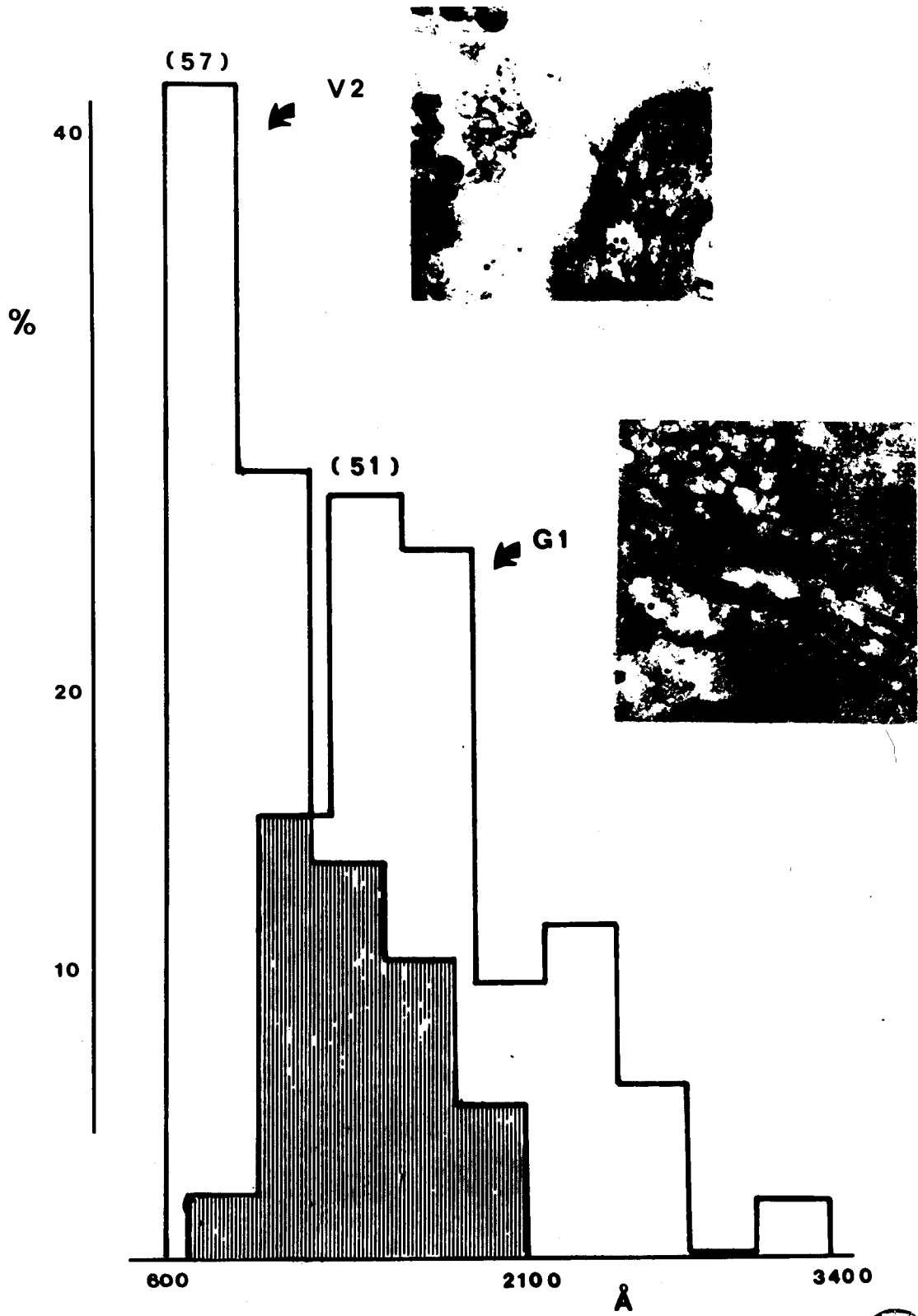


PLANCHE VI

Distribution des diamètres des substructures neuroplasmiques (suite)
(voir texte).

v 2 : X 30 000. Granules de type 1 (G 1) : X 36 000.





BUS
LIFE

PLANCHE VII

Localisation de l'activité cholinestérasique chez *S. mansoni* adulte :
microscopie photonique et électronique.

Fig. a - Neurone et fibres nerveuses. Mise en évidence d'activité cholinestérasique (zones noires). Incubation pendant 4 heures dans une solution de AcThChI, 4°C, pH 6. X 32 000.

Fig. b - Mise en évidence d'activité cholinestérasique autour d'une cellule musculaire. Incubation pendant 4 heures dans une solution de AcThChI, 37°C, pH 6. X 56 000.

Figs c et d - Mise en évidence (au niveau photonique) d'activité cholinestérasique (zones noires) chez le mâle (fig. c) et la femelle (fig. d). Incubation pendant 3 heures dans une solution de AcThChI, 37°C, pH 5,57.

Figs e et f - Mise en évidence d'activité cholinestérasique.

e - détail de la fig. a. X 38 000.

f - fibres nerveuses autour desquelles on observe les zones positives. Substrat AcThChI, 4°C, pH 6. X 61760.



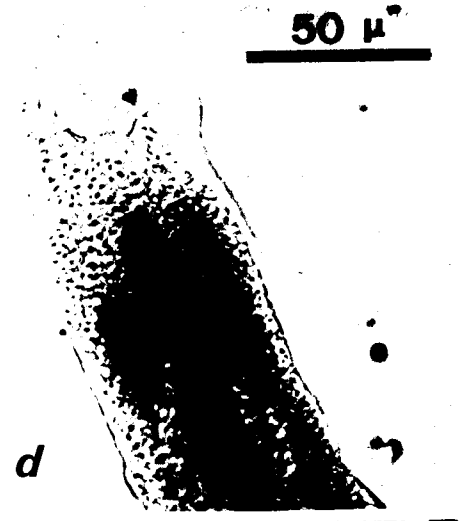
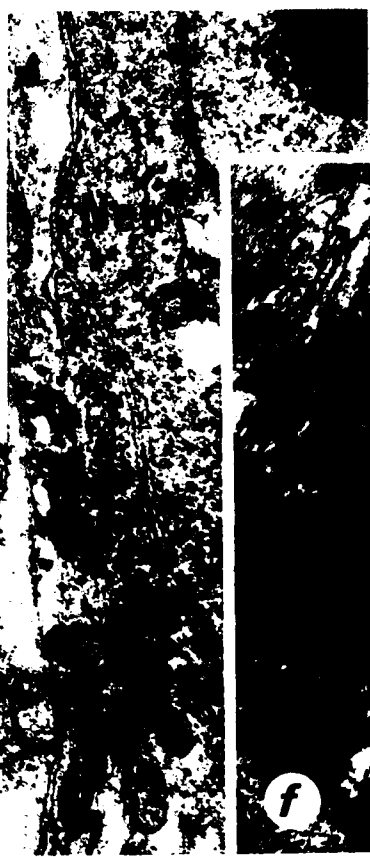
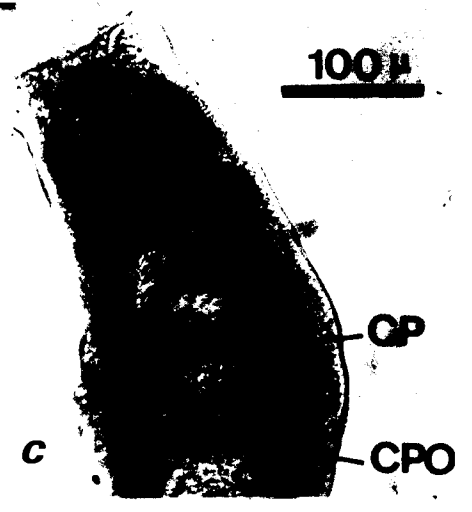
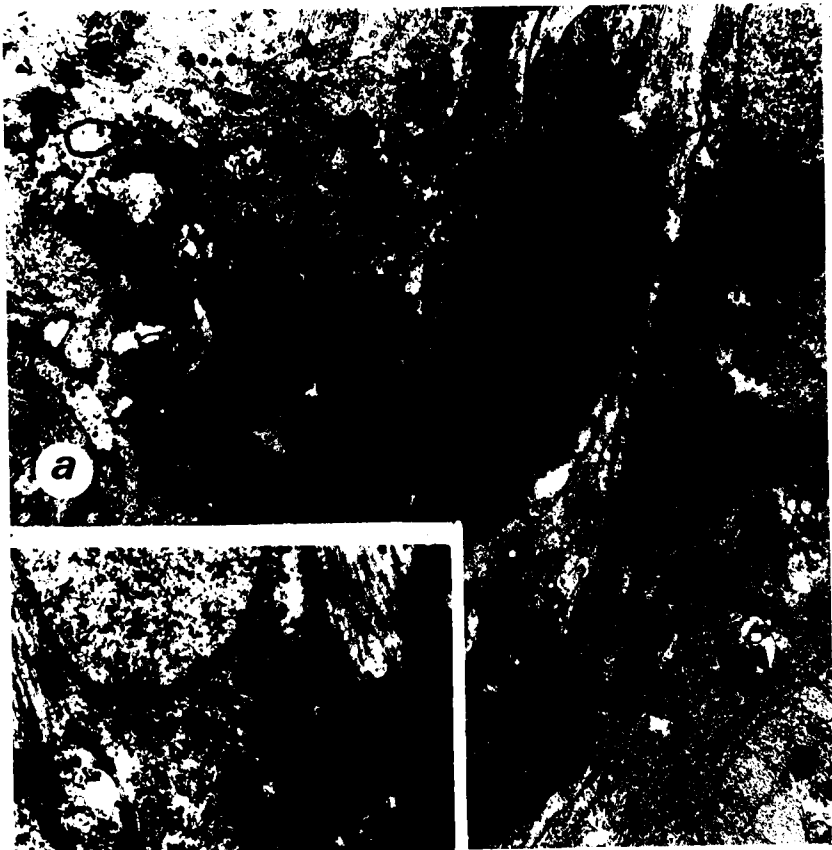


PLANCHE VIII

Localisation de la capture de la 5-HT-³H par *S. mansoni* adulte :
microscopie photonique et électronique.

Fig. a, b et c - Coupes semi-fines longitudinales d'un mâle.

AS, ventouse orale ; CG : ganglion ; PS acétabulum.

a - Capture de 5-HT-³H (100 µC/ml). Zones noires. X 250.

b - Exemple coloré par le Bleu azur : la flèche indique un
organe sensoriel tégumentaire. X 1 000.

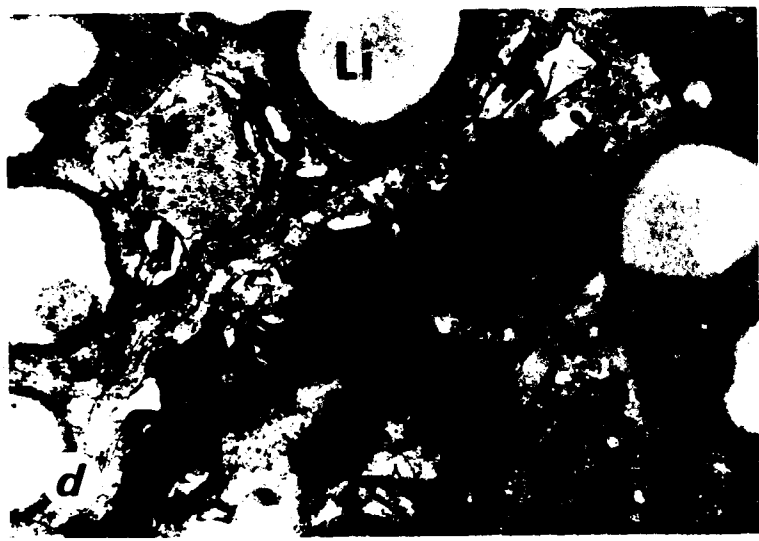
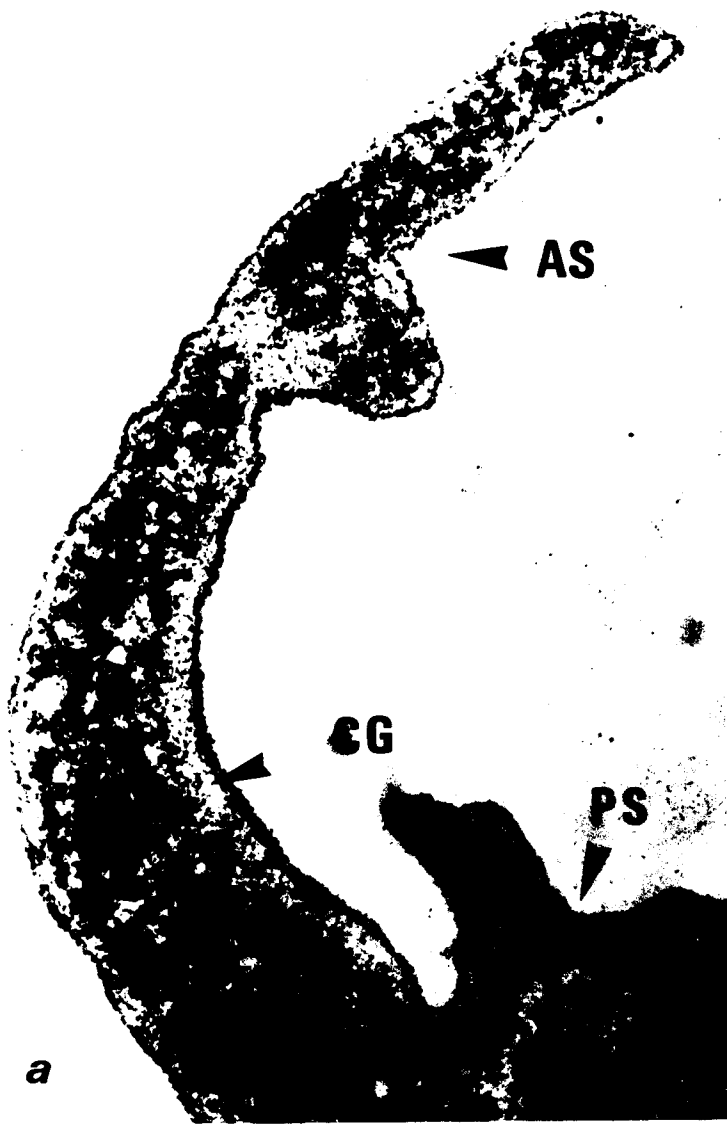
c - Détail de la fig. a : région du ganglion. X 1 000.

Figs d et e - Coupes ultrafines d'un mâle.

d - Capture par les fibres nerveuses contenant des granules de
type 2 (40 µC/ml). X 28 000.

e - Capture par les fibres nerveuses contenant des granules
de type 2 (40 µC/ml). Absence de marquage au niveau des
granules de type 1. X 25 400.





SIAS
LILLER

PLANCHE IX

Localisation de la capture de la 5-HT-³H et de la DA-³H par *S. mansoni* adulte.

Figs a, b et c - Capture de la 5-HT-³H.

- a - Coupe longitudinale d'un mâle : les flèches montrent la localisation très sélective de la 5-HT-³H incorporée. Observer l'absence de marquage au niveau des cellules tégumentaires, des fibres musculaires et des cellules flamigères. X 8 000.
- b - Fibres nerveuses coupées transversalement : capture de la 5-HT-³H après préincubation dans la DA "froide". X 22 000.
- c - Capture de la 5-HT-³H par une fibre nerveuse contenant des granules de type 2. X 43 200.

Figs d et e - Capture de la DA-³H par les fibres nerveuses. La flèche, dans la fig. e, signale une jonction intercellulaire de type gap.
fig. d : X 37 900 ; fig. e : X 36 720.



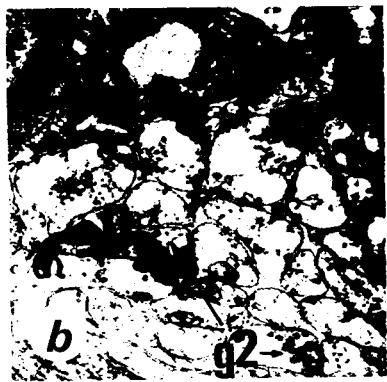


PLANCHE X

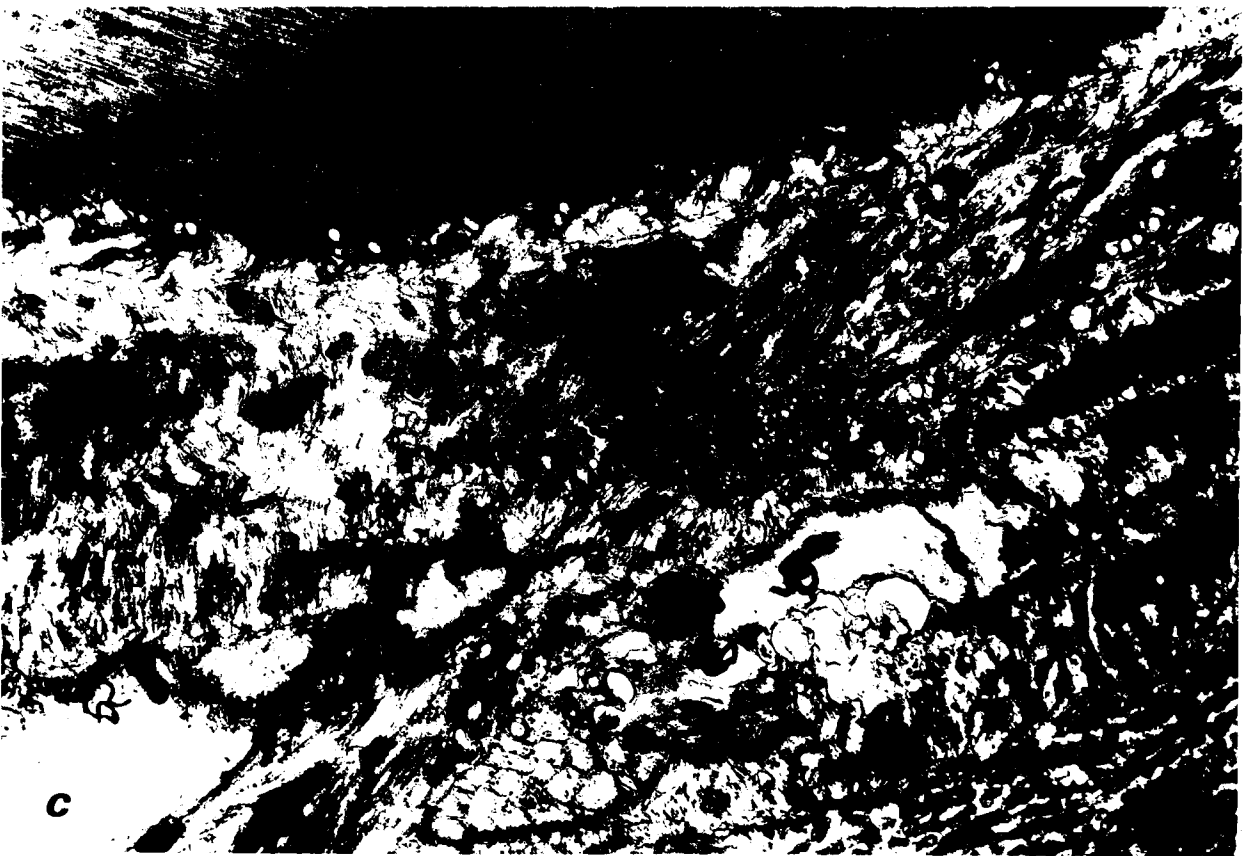
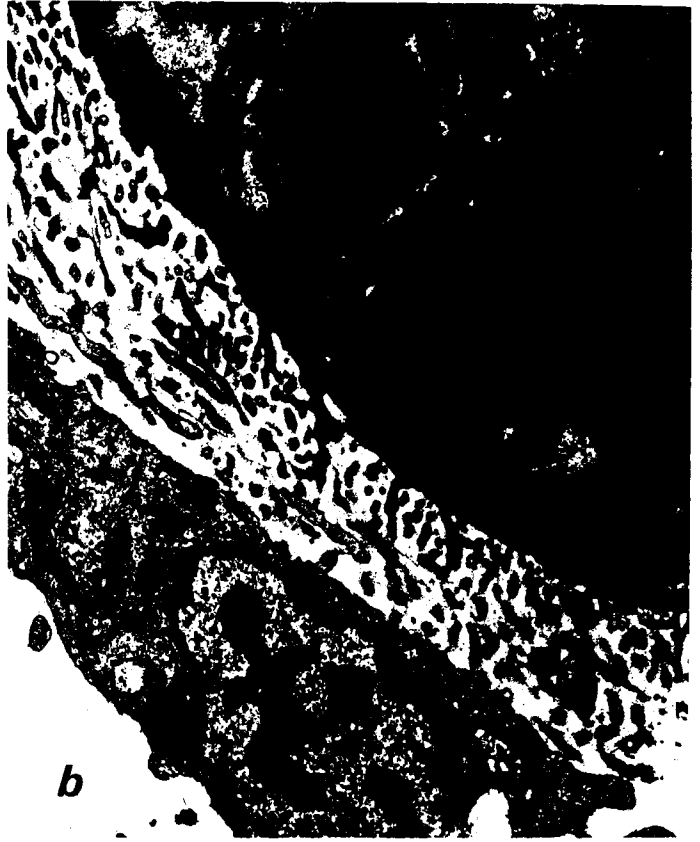
Localisation de la capture de la 5-HT-³H par *Biomphalaria glabrata* parasité par *S. mansoni*.

Fig. a - Sporocystes de première génération dans les tissus du tentacule de *Biomphalaria*. Les microvillosités disposées irrégulièrement séparent les sporocystes des tissus du mollusque qui sont marqués (flèche). X 4 000.

Fig. b - Vue de l'interphase hôte-parasite. Absence de marquage. X 16 000.

Fig. c - Détail de la fig. a : capture au niveau d'une zone musculaire du tentacule de *Biomphalaria glabrata*. X 16 000.





UNIVERSITY OF TORONTO LIBRARY

PLANCHE XI

Le parenchyme de *S. mansoni* : cellules tégumentaires et protonéphridiales.

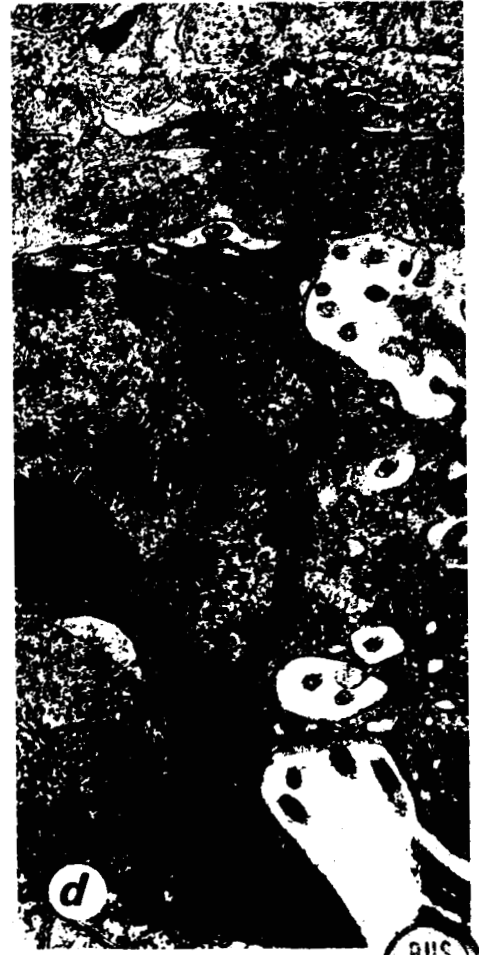
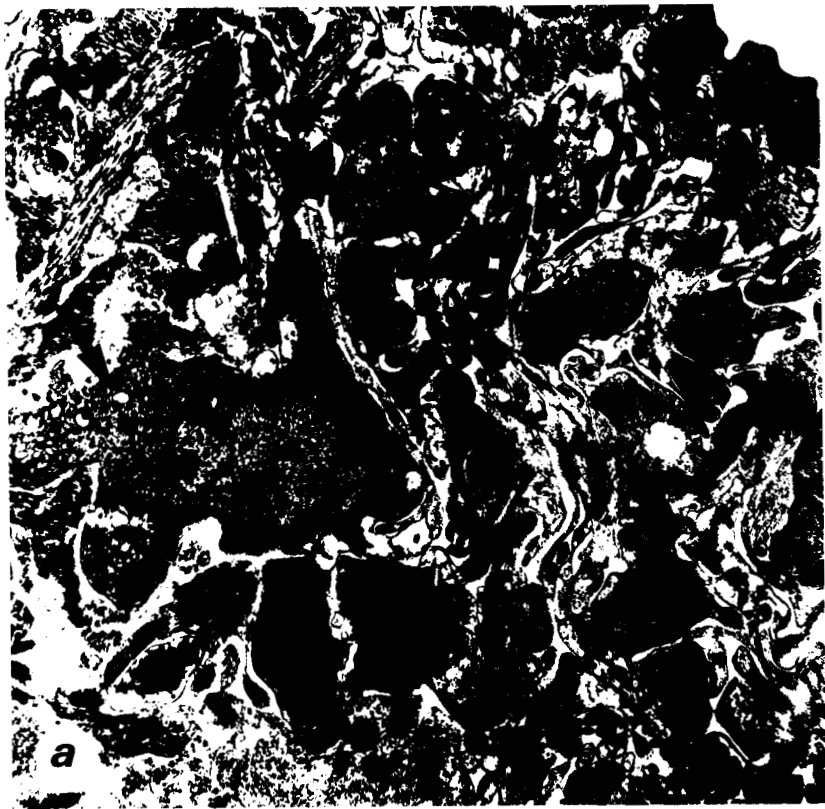
Fig. a - Vue d'ensemble du parenchyme de la ventouse orale. La flèche signale une cellule tégumentaire. X 14 000.

Fig. b - Cellule tégumentaire. Le cytoplasme montre les corps denses d'inclusion et les vacuoles caractéristiques décrites par plusieurs auteurs. X 28 000.

Fig. c - Cytoplasme et cils (flèche) d'une cellule flamigère. X 56 000.

Fig. d - Cellule flamigère : observer la zone de naissance des cils.
X 28 000.





BUS
LILLE

PLANCHE XII

Le parenchyme de *S. mansoni* : cellules musculaires.

Fig. a - Cellules musculaires de type II. Observer les variations de taille et de morphologie. X 20 000.

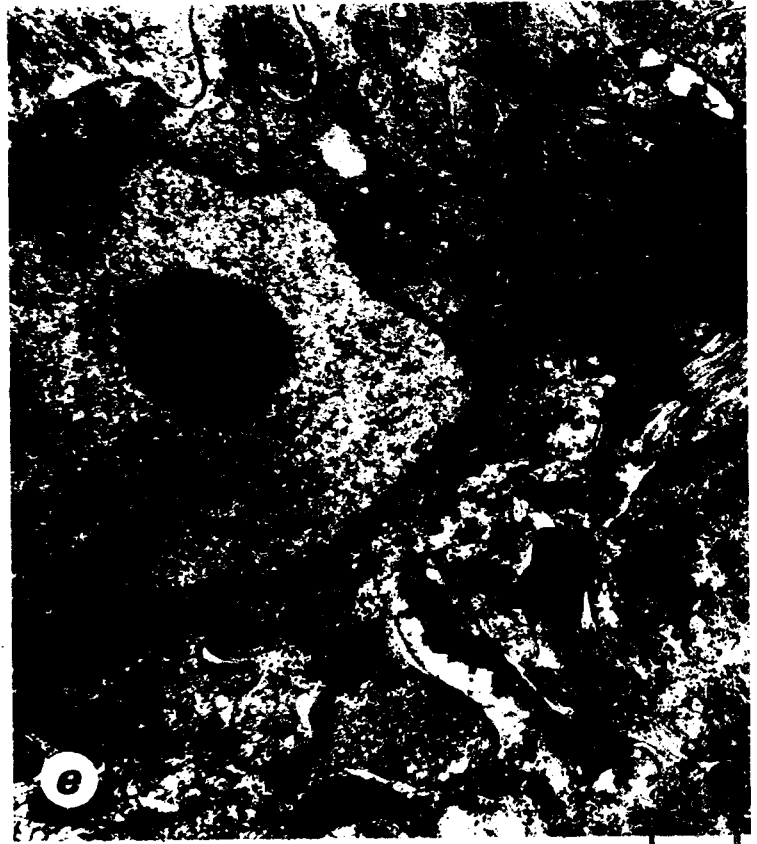
Fig. b - Jonctions intercellulaires de type gap présentes entre les fibres musculaires. X 83 600.

Fig. c - Parenchyme de l'acétabulum : cellules musculaires de type I. X 4 000.

Fig. d - Cellule musculaire de type I, située près du cerveau. X 24 000.

Fig. e - Détail de la fig. c, qui montre les vacuoles claires, à contenu finement granuleux, souvent observées dans les cellules musculaires. X 20 000.





11111