

50376
1983
255

UNIVERSITÉ DES SCIENCES ET TECHNIQUES DE LILLE

50376
1983
255

N° d'ordre 1070

THÈSE

Présentée à l'Université des Sciences et Techniques de Lille
pour obtenir le grade de Docteur de 3ème Cycle
en Biologie et Physiologie Animales



AZZEDINE DAKHAMA

CONTRIBUTION À L'ÉTUDE CYTOPHYSIOLOGIQUE
DE L'INTESTIN DES NÉRÉIDIENS (ANNÉLIDES POLYCHÈTES)

Soutenue le 6 juillet 1983 devant la Commission d'Examen

Président et Rapporteur : A. DHAINAUT

Examineurs : C. MICHEL

B. BOILLY

M. PORCHET

J.-C. ANDRIES

SOMMAIRE

	Pages
INTRODUCTION	1
DONNEES RECENTES SUR LE TUBE DIGESTIF DES POLYCHETES	2
MATERIEL ET METHODES	4
1 - Le matériel biologique	4
2 - Isolement de l'intestin	4
3 - Techniques de microscopie électronique	4
a - Cytologie	4
b - Cryofracture	5
c - Détection des polysaccharides	5
d - Détection de la phosphatase acide	5
e - La peroxydase	5
4 - Détection histoenzymologique de protéases	6
5 - Autoradiographie	6
a - Autoradiographie photonique	6
b - Autoradiographie à haute résolution	7
6 - Techniques biochimiques	7
a - Dosage des protéines	7
b - Dosage d'ADN	7
c - Phosphatase acide	8
7 - Détermination de la radioactivité	8
CHAPITRE I - ÉTUDE MORPHOLOGIQUE DU TUBE DIGESTIF	
I - L'ESTOMAC	9
II - L'INTESTIN	10
1 - Les entérocytes	10
2 - Les cellules ciliées	12
3 - Les cellules glandulaires muqueuses	12
4 - Les formations nerveuses	13
a - Type I	13
b - Type II	13

	Pages
5 - Les cellules basales à granules	14
6 - Les jonctions cellulaires	14
DISCUSSION	15
1 - L'estomac	15
2 - L'intestin	16
3 - Système jonctionnel	18
CHAPITRE II - ÉTUDE CYTOPHYSIOLOGIQUE DU TUBE DIGESTIF	20
I - SYNTHÈSES DE GLYCOPROTEINES ET ELABORATION DU "CELL-COAT"	20
1 - Le fucose	20
2 - La leucine	20
II - DETECTION HISTOENZYMOLOGIQUE D'ENZYMES PROTEOLYTIQUES	21
III - ABSORPTION DE MACROMOLECULES	22
1 - Absorption de la peroxydase	22
2 - La ferritine	22
DISCUSSION	24
1 - Synthèse de glycoprotéines et élaboration du "cell-coat"	24
2 - Sécrétion d'enzymes protéolytiques	25
3 - Absorption de macromolécules et digestion intracellulaire	25
CHAPITRE III - TRANSFORMATIONS MORPHOLOGIQUES ET BIOCHIMIQUES DE L'INTESTIN AU COURS DE L'ÉPITOQUIE	27
I - ASPECTS MORPHOLOGIQUES	28
1 - Epitoquie naturelle	28
a - Modifications cytologiques	28
b - Localisation de la phosphatase acide	29
2 - Epitoquie expérimentale	29
II - ASPECTS BIOCHIMIQUES	
1 - Evolution des teneurs en enzymes hydrolytiques de l'intestin en fonction de la chute de l'hormone cérébrale	30

	Pages
2 - Evolution des synthèses d'ADN en fonction de la chute de l'hormone cérébrale	31
a - Données autoradiographiques	31
b - Données biochimiques	32
DISCUSSION	32
CHAPITRE IV - DIGESTION ET ASSIMILATION DES PRODUITS DE LA DIGESTION	
1 - Préparation des protéines radioactives	34
2 - Administration dans la cavité du tube digestif	35
3 - Cinétique de l'assimilation	35
4 - Bilan de distribution de la radioactivité	36
5 - Comportement des cellules coelomiques vis-à-vis de la leucine	37
6 - Evolution de la leucine dans les compartiments voisins	37
Conclusion	38
CONCLUSION GÉNÉRALE	39
BIBLIOGRAPHIE	

INTRODUCTION

Les Néréidiens constituent un modèle biologique relativement simple, ce qui explique leur choix comme matériel d'étude pour les recherches effectuées sur l'endocrinologie des Invertébrés. La plus grande partie du corps est constituée par la cavité cœlomique remplie d'un liquide dans lequel baignent les ovocytes ou spermatozoïdes et les cœlomocytes. Il a été démontré récemment (DHAINAUT *et al.*, 1980) que le liquide cœlomique renfermait une macromolécule qui intervient dans la biosynthèse du matériel oocytaire. Cette macromolécule semble être élaborée par les cœlomocytes. Ces derniers pourraient réaliser leur synthèse à partir de petites molécules présentes dans le liquide cœlomique. De même les ovocytes sont capables d'utiliser des précurseurs simples, présents dans le liquide cœlomique, pour réaliser à la fois leur synthèse de vitellus et d'alvéoles corticales (DHAINAUT et PORCHET, 1977a, 1977 b).

De ce point de vue, le tube digestif et l'intestin en particulier semble constituer l'étape initiale de ces processus métaboliques. Or à l'heure actuelle, malgré les nombreux travaux réalisés sur le tube digestif des Annélides Polychètes, la structure et la physiologie de l'intestin restent ignorées en grande partie. Les études effectuées dans ce domaine ont porté en majorité sur la partie antérieure du tube digestif (trompe, pharynx, œsophage, estomac...), dans le but d'établir les mécanismes de digestion et de nutrition qui sont souvent liés au mode de vie et d'alimentation de ce groupe.

Notre travail s'est donc orienté vers la connaissance cytophysiologique de l'intestin, d'une part afin de préciser la structure fonctionnelle et d'autre part de comprendre les modalités d'assimilation et d'établir une relation entre les produits de l'assimilation intestinale et les synthèses du milieu cœlomique.

DONNÉES RÉCENTES SUR LE TUBE DIGESTIF DES POLYCHÊTES

A - DIGESTION

Chez la plupart des Polychètes les processus de digestion se localisent principalement au niveau de la région antérieure du tube digestif, impliquant différentes régions plus ou moins différenciées (pharynx, œsophage, estomac), et s'étendent parfois à la région intestinale antérieure.

Ainsi, chez *Nereis virens*, l'œsophage et l'intestin antérieur constituent les principaux sites de production d'enzymes digestives extracellulaires (KAY, 1974). Les enzymes (amylases, protéases, lipases) sont probablement responsables de l'apport de la majeure partie des éléments nutritifs.

Chez cette même espèce, LEWIS et WHITNEY (1968) ont démontré l'existence de cellulase sécrétée par le tube digestif.

Chez *Arenicola marina*, la production de protéases et de carbohydrates a été localisée au niveau de l'estomac et des caeca. Ces activités sont absentes dans l'œsophage et l'intestin (LONGBOTTOM, 1970).

Chez *Glycera convoluta* et *Eulalia viridis*, la part dominante de la digestion s'opère dans l'intestin où sont sécrétées des protéases, des amylases et des lipases (MICHEL, 1969a), cependant la dégradation principale des aliments revient aux protéases, et ceci est lié au régime carnivore de ces espèces. Chez ces deux Annélides la sécrétion de protéases dans le pharynx résulte de la présence des cellules glandulaires séreuses particulièrement abondantes dans cette région (MICHEL, 1972b; MICHEL et IMHOFF, 1975).

De même, les cellules glandulaires séreuses dans l'œsophage de *Nereis virens* sont responsables de la sécrétion de protéases et en particulier de trypsine (MICHEL et DE VILLEZ, 1979). C'est le cas également chez *Sabellaria alveolata* où les sécrétions de protéases dans la région intestinale antérieure sont très probablement produites par les cellules glandulaires séreuses (MICHEL, 1977). Chez *Nereis brandti*, la trypsine a été identifiée et caractérisée parmi d'autres protéases présentes dans le fluide digestif, par DE VILLEZ et REID (1971).

B - ABSORPTION

1 - Absorption intestinale

L'absorption des produits de la digestion est considérée depuis longtemps comme survenant dans la partie postérieure du tube digestif et en particulier au niveau de l'intestin (BRASIL, 1904). Chez *Arenicola marina* l'intestin représente le principal site d'absorption de la L-alanine. Les acides aminés neutres sont absorbés selon un processus actif par l'intestin (BAMFORD et STEWART, 1973a). Les études des cinétiques de transport de la L-lysine et de l'acide L-aspartique suggèrent la présence de deux sites de transport pour les acides aminés acides et basiques (BAMFORD et STEWART, 1973b). Chez *Hermodice carunculata*, les produits de digestion des lipides sont absorbés par l'épithélium de l'intestin antérieur. Le transport vers le tissu péritonéal est réalisé par le sang ou directement par les cœlomocytes ou le liquide cœlomique (MARSDEN, 1968).

2 - Absorption par les téguments

Les Annélides Polychètes, comme de nombreux autres Invertébrés marins, sont capables d'accumuler des molécules organiques, dissoutes dans le milieu environnant, après passage à travers les téguments (cf : TAYLOR, 1969 ; BASS *et al.*, 1969 ; AHEARN et GOMME, 1975 ; JØRGENSEN, 1979 ; TEMPEL et WESTEIDE, 1980 ; GOMME, 1981a et b).

L'importance de ce processus dans la nutrition de ces animaux est jusqu'à présent loin d'être complètement élucidé ; cependant ce phénomène est surtout marqué chez les jeunes et davantage chez les larves. Pour la plupart des espèces étudiées, il peut être considéré comme une source supplémentaire de nutrition.

C - ABSORPTION DE MACROMOLECULES ET DIGESTION INTRACELLULAIRE

Chez les Annélides, la digestion a été généralement considérée comme exclusivement extracellulaire (SCHEER, 1948 ; YONGE, 1937). Depuis la possibilité de l'existence d'une digestion intracellulaire a été abordée partiellement par KERMACK (1955) chez *Arenicola marina* et MARSDEN (1963, 1966) chez *Hermodice carunculata*.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

1 - Le matériel biologique

Perinereis cultrifera (Grübe) est une Annélide Polychète (*Nereidae*) vivant dans les rochers de la zone intertidale. La récolte a été effectuée à Luc-sur-Mer (Calvados) en période de grande marée.

Au laboratoire, les vers sont isolés dans des pots contenant de l'eau de mer renouvelée tous les jours. Ils sont maintenus à l'obscurité et à une température d'environ 13°C.

2 - Isolement de l'intestin

Cette opération est réalisée, sous la loupe binoculaire, sur des vers préalablement anesthésiés par une solution de MS 222 à 2 ‰ dans l'eau de mer. Une incision, pratiquée au niveau de la région dorso-médiane, permet de dégager la paroi du corps. L'intestin est alors prélevé après élimination des dissépiments qui le rattachent au reste du corps.

3 - Techniques de microscopie électronique

a - Cytologie

Des petits fragments d'intestin sont prélevés, lavés dans de l'eau de mer et fixés dans une solution de glutaraldéhyde à 3 % dans du tampon phosphate de Sodium 0,1 M additionné de 2,5 % de chlorure de Sodium, pendant 3 heures à 4°C. Après lavage d'une nuit dans la même solution tampon contenant du sucrose 0,33 M, les pièces sont post-fixées au tétroxyde d'Osmium pendant 1 heure à 4°C.

La déshydratation est effectuée par les acétones progressifs, l'inclusion dans l'araldite et les coupes sont réalisées à l'Ultrotome "Porter-Blum" ou au L.K.B. Les coupes semi-fines sont colorées au bleu Azur B. Les coupes fines sont contrastées en deux temps : à l'acétate d'uranyle et au citrate de plomb selon REYNOLDS (1963).

Les observations ont été faites aux microscopes électroniques Siemens ou au Jéol 120 CX.

b - Cryofracture

Cette technique a été réalisée sur des segments d'intestin préalablement fixés au glutaraldéhyde (3 % dans du tampon phosphate 0,1 M contenant 2,5 % de chlorure de Sodium).

Les échantillons sont lavés dans le même tampon, immergés dans du glycérol 30 % puis congelés dans l'Azote liquide. La fracture est effectuée sous vide dans l'appareil Balzers BAF 38.

Les répliques "platine-Carbone" obtenues après ombrage unidirectionnel (30°) et après lavage dans une solution d'hypochloride de Na, sont montées sur des grilles en cuivre. L'observation a été effectuée au Jéol 120 CX.

c - Détection de Polysaccharides

La mise en évidence des polysaccharides sur coupes fines a été menée par la technique de SELIGMANN et Coll (1965) modifiée par THIERY (1967). Après oxydation (20 minutes) à l'acide périodique, les coupes sont lavées et incubées dans une solution de TCH (Thio-carbohydrazide) pendant 24 heures. Après un deuxième lavage, les coupes sont ensuite placées dans une solution de Protéinate d'Argent, pendant 20 minutes, à l'obscurité et à température du laboratoire. L'observation est effectuée au microscope électronique sans coloration.

d - Détection de la phosphatase acide

L'activité phosphatasique acide a été mise en évidence, sur notre matériel, d'après la méthode décrite par BERTOUT (1976) dérivant de celle de MILLER et PALADE (1964).

e - La peroxydase (HRP)

La peroxydase (HRP) a été utilisée, selon la technique de GRAHAM et KARNOVSKY (1966), dans le but de suivre l'absorption de protéines exogènes au niveau de l'intestin.

Des segments d'intestin d'environ 2 mm ont été incubés dans une solution de peroxydase (8 mg/ml d'eau de mer) pendant 4 heures. Après une courte fixation (10 minutes) ; les pièces sont sectionnées (sous la loupe binoculaire), lavées dans du tampon phosphate (3 x 15 minutes) et incubées dans une solution de DAB pendant 30 minutes (5 mg Diaminobenzidine dans 10 ml de tampon Tris-HCl 0,1 M, pH 7,4 contenant 0,1 % de H₂O₂). Après un lavage rapide

(3 à 5 minutes) à l'eau distillée suivi d'un lavage au tampon phosphate (10 à 15 minutes), on procède à une seconde fixation au glutaraldéhyde (1 heure, 30 minutes à 2 heures), un lavage prolongé (une nuit) dans du tampon phosphate puis une postfixation à l'Osmium (1 heure).

La déshydratation est faite aux acétones progressifs et l'inclusion dans l'araldite.

4 - Détection histoenzymologique de protéases

Cette technique a été réalisée selon la méthode de CUNNINGHAM (1967), qui consiste en une digestion d'un substrat de gélatine par des coupes à congélation de 50 μ d'épaisseur.

Des lames portant un film de gélatine sont colorées par diazotisation au FBB (Fast-Blue B salt) et placées, au moment de l'emploi, dans du tampon phosphate 0,05 M à pH 7,0. Les lames sont ensuite séchées, à l'aide d'un papier filtre, et les coupes sont montées sur la face portant le film de gélatine.

Après incubation (environ 15 minutes à 20°C), les préparations sont fixées au formol salé et les coupes colorées au rouge nucléaire. L'observation au microscope photonique permet alors de détecter les zones de digestion (visualisées en blanc par le départ du substrat) correspondant à l'activité du tissu.

5 - Autoradiographie (d'après la technique de LARA et DROZ, 1970).

a - Autoradiographie photonique

Des coupes de 6 μ d'épaisseur, montées sur des lames gélatinées, sont déparaffinées et plongées dans une émulsion photographique ILFORD K 5 (V/V dans l'eau distillée) à 40°C. Les lames, séchées en position verticale, sont rangées dans une boîte noire à l'abri de la lumière.

A des intervalles de temps réguliers, des lames-test sont révélées, afin de déterminer la durée d'exposition.

La révélation est suivie d'une déshydratation et d'une coloration des coupes au rouge nucléaire - picroindigocarmin.

Dans le cas de coupes semi-fines, la coloration est effectuée au Bleu Azur B. Les opérations d'émulsion et de révélation sont réalisées en chambre noire.

b - Autoradiographie à haute résolution

Des coupes de couleur d'interférence "or", déposées sur des lames recouvertes d'un film de celloïdine, sont colorées à l'acétate d'uranyle (2,5 % dans l'alcool 50°) pendant 15 minutes et au citrate de plomb (pendant 9 minutes), rincées, séchées et vaporisées de Carbone.

Cette opération est suivie de l'émulsion des lames dans une solution d'ILFORD L 4 (1 volume pour 4 volumes d'eau distillée, à 40°C).

Après séchage en position verticale, les lames sont placées dans une boîte opaque et étanche, en vue d'une exposition à l'obscurité et en atmosphère sèche. Le développement est ensuite effectué par étapes :

révélateur : 2 minutes 45
Rinçage : eau distillée
fixateur : 5 minutes
rinçages : eau distillée, 3 x 5 minutes

Le film de celloïdine est alors décollé par trempage progressif des lames dans un cristallisateur rempli d'eau distillée. Des grilles 200 mesh sont déposées sur les coupes et l'ensemble "film-coupes-grilles" est recueilli à la surface de l'eau à l'aide d'un papier filtre ; le tout séché à 37°C et placé dans une solution d'actéate d'isoamyle pendant 3 minutes afin d'amincir le film de celloïdine.

Les radioautographies ainsi prêtes peuvent être examinées au microscope électronique.

6 - Techniques biochimiques

a - Dosage de protéines

Dans tous les cas il a été réalisé selon la méthode de GEIGER et BASSMAN (1972).

b - Dosage d'ADN

La méthode utilisée est celle de GILES et MYERS (1965).

Des fractions aliquotes contenant au maximum 1 mg d'ARN sont additionnées d'un volume de PCA 1 N (acide perchlorique) stabilisé à 0°C. Les tubes sont centrifugés à 3 000 g pendant 10 minutes à 4°C. Les sédiments sont lavés 2 fois dans du PCA 0,5 N puis dissous dans 2,5 ml de KOH 0,5 N. L'ARN est hydrolysé pendant 1 heure à 37°C, la réaction est arrêtée par addition de 0,5 ml d'HCl 4 N.

Après centrifugation à 3 000 g pendant 10 minutes à 4°C, le surnageant (hydrolysate d'ARN) est écarté et les sédiments sont hydrolysés 2

fois par 1 ml de PCA 10 % pendant 20 minutes à 70°C. Un ml d'hydrolysate est mélangé à 2 ml de réactif à la DPA (Diphéylamine 1 g, 40 ml d'acide acétique glacial, 1 ml d'H₂SO₄ concentré, H₂O q.s.p. 50 ml). On ajoute ensuite 0,1 ml d'une solution de paraldéhyde (0,156 ml de paraldéhyde, H₂O q.s.p. 100 ml). Les tubes sont bouchés et après 24 heures à température ambiante, la densité optique est mesurée à 600 nm.

Du DNA de thymus de veau (dans lequel la quantité de protéines a été contrôlée préalablement) est utilisé comme référence.

c - Phosphatase acide

Selon la technique de WATTIAUX et DE DUVE (1956), 0,1 ml de fraction cellulaire sont incubés pendant 30 minutes à 37°C en présence de 0,9 ml de β-glycérophosphateNa 50 mM dans le tampon acétate de Sodium 50 mM contenant 0,07 % de Triton X-100.

La réaction est arrêtée par addition de 1 ml de TCA 10 %. Les tubes sont centrifugés à basse vitesse et la quantité de phosphate inorganique est déterminée dans le surnageant selon la technique de FISKE et SUBBAROW (1925).

L'activité enzymatique est exprimée en μmoles de phosphate inorganique libérées par minutes et par mg de protéines.

7 - Détermination de la radioactivité

La radioactivité est déterminée dans un compteur à scintillation liquide L.K.B. Deux types de liquides scintillants sont utilisés selon qu'on effectue un comptage de radioactivité soluble ou insoluble.

Dans le premier cas, une fraction aliquote de 50 μl de l'échantillon est additionnée de 6 ml d'Aqualuma (Lumac).

La radioactivité acido-précipitable (fractions de protéines précipitées à l'ATCA) est mesurée après filtration des échantillons sur filtre GF/F. Les filtres sont ensuite lavés à l'ATCA 8 % et à l'eau distillée. Après séchage, les filtres sont introduits dans des fioles contenant du liquide scintillant Lipoluma.

Dans le cas particulier où la quantité de matériel précipité est importante les filtres sont solubilisés pendant une nuit dans le mélange (H₂O₂ 0,2 ml ; Lumasolve 1 ml), puis additionnés de 9 ml de Lipoluma.

CHAPITRE I

ÉTUDE MORPHOLOGIQUE DU TUBE DIGESTIF

Anatomie du tube digestif

Le tube digestif de *Perinereis cultrifera* occupe toute la longueur du corps. Il comprend différentes régions anatomiquement plus ou moins différenciées. Dans la région antérieure, la cavité buccale est constituée d'une trompe dévaginable munie d'une paire de mâchoires. A la trompe fait suite un court œsophage portant à sa base une paire de caeca au contact de l'estomac qui s'étend du 6ème au 10ème segment. Ce dernier est suivi de l'intestin qui occupe à lui seul environ les trois-quarts postérieurs du corps et se termine par un court rectum s'ouvrant par un anus subdorsal.

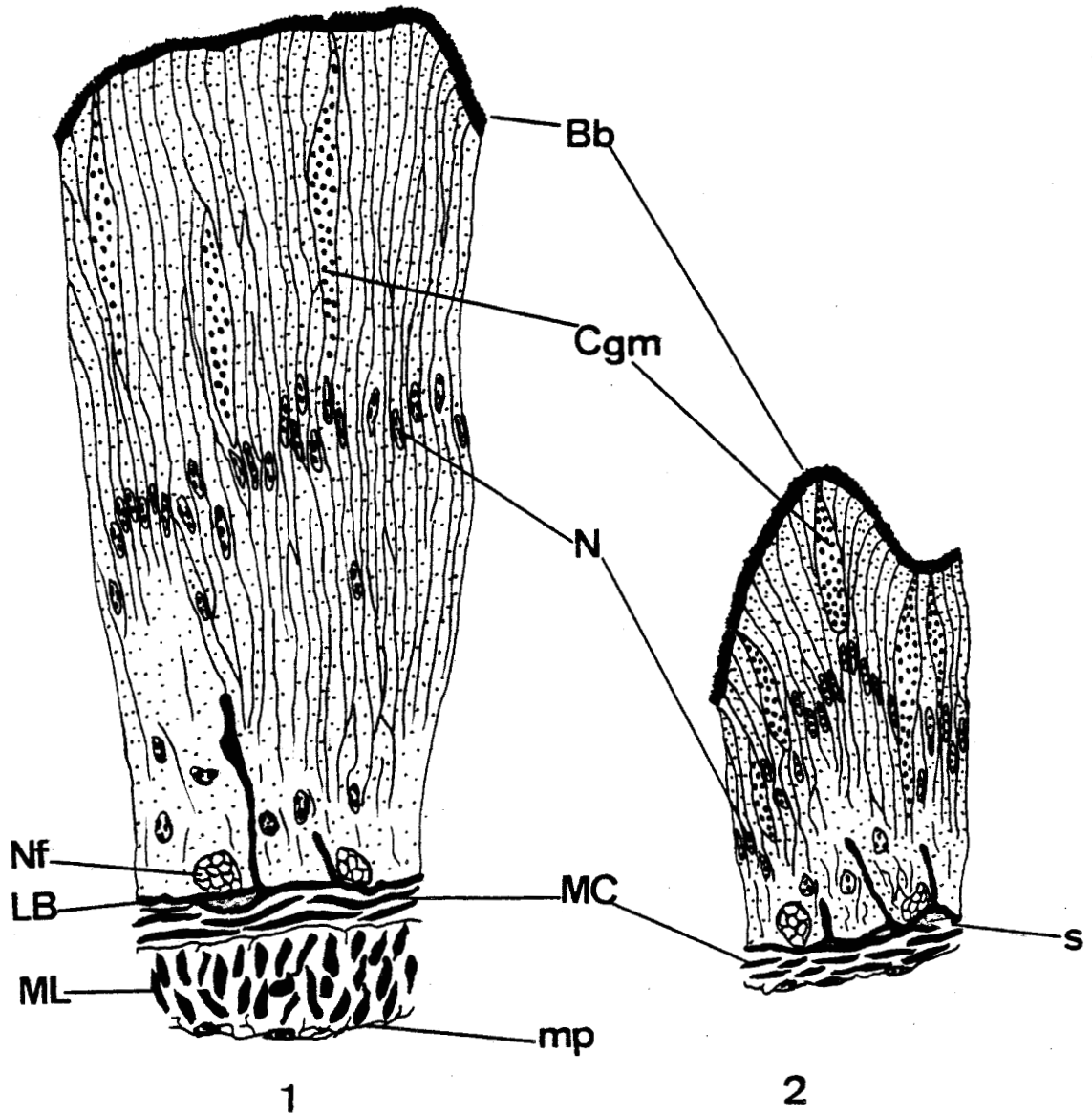
I - L'ESTOMAC

Il présente une structure épithéliale recouverte, du côté basal, par une épaisse couche de fibres musculaires (circulaires et longitudinales) et du côté apical par une cuticule épaisse, dans la région antérieure et mince, dans la région postérieure de l'estomac.

La cuticule est constituée d'un réseau de fibres, d'épaisseur moyenne de 50 nm, orientées selon deux directions perpendiculaires et parallèles à la surface apicale de l'épithélium. Elle est traversée par les microvillosités issues des cellules sous-jacentes (fig. 1). Deux types cellulaires sont observés dans l'épithélium :

- des cellules glandulaires muqueuses à grains de sécrétion sub-sphériques,
- et des cellules glandulaires séreuses (figs 1, 2).

A la base de l'épithélium et au contact de la lame basale, des formations nerveuses sont fréquemment observables. Elles sont constituées



Histologie de l'intestin, coupes transversales.

Fig. 1 - Zone antérieure.

Fig. 2 - Zone postérieure.

B.b : bordure en brosse ; C.g.m : cellules glandulaires muqueuses ;
 L.B : lame basale ; M.C. : muscles circulaires ; M.L. : muscles
 longitudinaux ; m.p : membrane péritonéale ; N : noyau ; N.f :
 fibres nerveuses ; S : vaisseaux sanguins.



d'un ensemble d'axones orientés dans le sens longitudinal du tube digestif. Des figures synaptiques sont observées parfois au contact de certains axones et de la lame basale (fig. 3).

II - L'INTESTIN

L'intestin de *Perinereis cultrifera* se présente sous forme d'un tube rectiligne resserré au niveau des septa. L'épithélium intestinal est constitué d'une couche de cellules, reposant sur une lame basale recouverte du côté cœlomique par deux couches de fibres musculaires (circulaires et longitudinales). Du côté apical, les cellules sont caractérisées par une bordure en brosse constituée de microvillosités.

Les observations effectuées au microscope photonique montrent que l'épithélium intestinal est constitué de deux types cellulaires: des entérocytes et des cellules glandulaires muqueuses colorées en violet par le Bleu Alcian. Des fibres nerveuses sont présentes sur toute la longueur de l'intestin et sont localisées au contact de la lame basale.

Anatomiquement l'intestin ne présente pas de divisions morphologiques nettes mais des variations graduelles peuvent être distinguées histologiquement. La région intestinale postérieure se différencie de la région antérieure par, son épithélium moins élevé, sa musculature réduite, constituée essentiellement de fibres circulaires, et sa richesse en cellules muqueuses. L'ultrastructure de l'épithélium intestinal montre que celui-ci est formé d'une seule couche de cellules, adhérant à la lame basale et se prolongeant jusqu'à la lumière intestinale.

Les cellules glandulaires séreuses observées dans l'estomac sont absentes au niveau de l'intestin.

Au sein de l'épithélium, différentes catégories de cellules sont observées.

1 - Les entérocytes

Ces cellules sont caractérisées par une bordure en brosse constituée de microvillosités et présentent un cytoplasme de densité électronique constante (fig. 4). Elles sont adhérentes à la lame basale et se prolongent jusqu'à la lumière intestinale.

Les microvillosités sont hautes de 1μ environ et présentent un diamètre moyen de $0,1$ à $0,15 \mu$. Leur axe est constitué de fibrilles qui se prolongent dans le cytoplasme apical. La membrane apicale est double et caractérisée par un feuillet externe plus dense que le feuillet interne (fig. 10). Des vésicules de pinocytose originaires de la membrane apicale sont fréquemment observées dans le cytoplasme apical, ainsi que des formations tubulaires de réticulum endoplasmique lisse. Les mitochondries sont particulièrement abondantes dans cette région et sont généralement orientées selon le grand axe de la cellule.

Le noyau occupe la région moyenne de la cellule. Il est également orienté dans le sens de prolongement de la cellule. Il présente une forme allongée et se caractérise par une chromatine périphérique et des nucléoles parfois bien développés (fig. 11).

L'appareil de Golgi est localisé dans la région supranucléaire et compte de 6 à 10 saccules généralement orientés dans le même sens que les noyaux.

Le réticulum granulaire est présent dans toute la cellule ainsi que des ribosomes libres.

Le glycogène est sous la forme de rosettes réparties dans la cellule. Des inclusions lipidiques sous forme de globules de taille variable sont souvent accumulées dans la région basale de l'épithélium (fig. 6).

Enfin, l'une des principales particularités de ces cellules est la présence, dans la zone sous-jacente aux microvillosités, de structures denses, de forme allongée, régulièrement disposées au contact de la membrane apicale (fig. 4).

Ces structures, que nous appellerons "formations apicales denses", du fait de leur localisation exclusivement dans le cytoplasme apical d'une part, et de leur densité électronique d'autre part, présentent de nombreuses caractéristiques cytochimiques et ultrastructurales. Elles peuvent atteindre des dimensions de 1 à $1,2 \mu$ de long sur $0,1$ à $0,15 \mu$ de large.

Ces formations ne sont présentes que dans les entérocytes où elles sont localisées entre les racines ciliaires des microvillosités et ne sont pas en continuité avec celles-ci (figs 10 et 17). Elles sont limitées par une membrane double et sont orientées dans le sens du grand axe cellulaire. Les observations de leur membrane, en cryofracture, montrent que celle-ci est très pauvre en particules intramembranaires (figs 16, 17, 18). Au sein du matériel dense qu'elles renferment, une structure tubulaire

apparaît sous forme de tubules de 7 à 10 nm orientés longitudinalement (figs 15, 16, 18). De plus leur réaction aux polysaccharides est faible (fig. 19) et la phosphatase acide y est absente.

Enfin ces formations ne montrent pas d'ouverture en direction de la lumière intestinale.

2 - Les cellules ciliées

Ces cellules sont observables au niveau de la région antérieure de l'intestin où elles sont localisées entre les entérocytes.

Elles sont très rares à l'observation.

Nous n'avons pu observer que la région apicale de ce type cellulaire et de ce fait nous nous limiterons à le signaler dans cette étude. A l'apex, ces cellules sont liées aux cellules voisines par une *zonula adherens* suivie d'une jonction septée particulièrement bien développée (figs 13, 14). La surface apicale porte un cil, dont la membrane externe est en continuité avec la membrane plasmique apicale. La membrane du cil présente un aspect hérissé et se rétrécit au niveau de la plaque basale (fig. 13). L'axe filamentaire du cil est constitué de 9 doublets de fibres périphériques et de 2 doublets de fibres centrales (fig. 12). Ces fibres présentent un prolongement dans le cytoplasme apical où elles paraissent plus denses au niveau du corpuscule basal (fig. 14).

La membrane apicale peut différencier des microvillosités autour du cil.

3 - Les cellules glandulaires muqueuses

Elles se distinguent facilement des cellules voisines par leur forme, rétrécie à l'apex et renflée à la base. Elles présentent un cytoplasme moins dense et renferment un matériel plus ou moins fibrillaire dont l'opacité aux électrons est faible (figs 4, 7). Ces vésicules sont formées à partir de l'appareil de Golgi dont les saccules dilatés renferment le même matériel (figs 8, 9). Le réticulum granulaire est abondant et souvent disposé en lamelles concentriques (fig. 8).

Les microvillosités diffèrent de celles des entérocytes par leur nombre restreint et leur taille réduite (en moyenne 3 fois plus courtes). Leur "cell-coat" est très bien développé.

Le cytoplasme apical montre un faisceau de microtubules parallèles entre eux et au grand axe de la cellule.

Ces cellules sont dépourvues de formations apicales denses et ne renferment pas d'inclusions lipidiques.

Enfin, elles se différencient nettement des cellules muqueuses de l'estomac par la nature du matériel qu'elles sécrètent (comparer avec la figure 1).

4 - Les formations nerveuses

Elles se localisent généralement à la base des villosités au contact de la lame basale. Elles sont présentes aussi bien au niveau de l'estomac qu'au niveau de l'intestin et se prolongent sur toute la longueur du tube digestif (figs 3, 5, 6). Ces formations sont constituées d'un ensemble d'axones, de diamètres variés, et contiennent des grains de sécrétion de tailles et d'opacités variables. A la périphérie, elles sont limitées par un système de gliofilaments et de gliosomes (fig. 3). Nous n'avons pas pu observer de contacts ou de jonctions particulières entre ces fibres et les cellules épithéliales voisines. Cependant des figures synaptiques sont souvent observables au contact de certains axones avec la lame basale (fig. 3). Ces figures se caractérisent par des dépôts présynaptiques constitués de vésicules d'environ $0,1 \mu$ de diamètre, disposées en amas contre la membrane basale.

Deux types de fibres au moins peuvent être facilement distinguées par leurs grains de sécrétion :

a - Type I

Ce sont des fibres nerveuses caractérisées par des granules, de forme sphérique, d'un diamètre allant de 100 à 150 Å. Ces granules offrent un aspect particulier, avec une zone corticale claire et une zone centrale opaque constituée d'un matériel osmiophile plus ou moins granulaire. Le corps cellulaire est localisé au contact des fibres (fig. 20). Les grains de sécrétion prennent naissance au niveau des dictyosomes à l'extrémité des saccules golgiens (fig. 22). Le noyau de forme allongée se caractérise par un nucléoplasme clair, une chromatine périphérique et un nucléole peu développé. L'enveloppe nucléaire présente un aspect hérissé et porte des ribosomes sur sa face externe.

b - Type II

Il diffère du premier type essentiellement par la taille et la forme des granules et par le produit qu'ils contiennent.

Les granules ont une forme variable et peuvent atteindre un diamètre de 2000 Å en moyenne. Ils renferment un matériel moins dense, de nature fibrillo-granulaire (figs 21, 23), et proviennent de l'appareil de Golgi qui compte un nombre restreint en saccules et présente une face de formation dilatée. Le réticulum granulaire est moins abondant que dans le premier type et se limite à quelques saccules de taille réduite. Le noyau présente un aspect identique au précédent avec une forme allongée, un nucléoplasme fibrillaire clair et une chromatine périphérique.

Ces deux types de fibres sont très souvent observés sur toutes les sections et montrent fréquemment des figures synaptiques à leur contact (figs 24, 25).

5 - Les cellules basales à granules

Ces cellules sont situées à la base de l'épithélium, très souvent au contact des fibres nerveuses, et ne présentent pas de prolongement en direction de la lumière intestinale (figs 6, 27). Le noyau volumineux, de forme allongée, présente une chromatine dense à structure granulaire et une enveloppe hérissée portant des ribosomes sur sa face externe. Le réticulum endoplasmique granulaire, très peu développé, est présent sous forme de vésicules réparties dans le cytoplasme. Les ribosomes libres sont relativement abondants. L'appareil de Golgi donne naissance à des granules renfermant un matériel granulaire assez homogène. Les grains de sécrétion matures proviennent probablement de la fusion des granules issus de l'appareil de Golgi (fig. 26). Leur forme et leur taille sont très variables. Une autre caractéristique de ces cellules, est leur richesse extraordinaire en microtubules généralement orientés dans le sens du prolongement de la cellule (fig. 27).

6 - Les jonctions cellulaires

Les membranes latérales des cellules épithéliales voisines sont liées entre elles par un système de jonctions à la fois complexe et diversifié.

Les jonctions entre les cellules glandulaires muqueuses et les cellules voisines ne diffèrent pas de celles qui existent entre les entérocytes. Dans la zone apicale, les membranes latérales sont liées entre elles par une *zonula adhaerens* suivie par une alternance de *macula adhaerens* et de jonctions septées (figs 28, 29).

Dans la zone moyenne de l'épithélium la jonction intercellulaire est essentiellement assurée par des jonctions septées et quelques jonctions de type "gap" (fig. 33). Dans cette région les desmosomes sont très peu fréquents.

Le lanthane, comme traceur préférentiel pour l'étude des jonctions cellulaires, pénètre dans l'espace intercellulaire et permet de visualiser la structure du complexe jonctionnel et plus particulièrement de mettre en évidence un certain nombre de particularités morphologiques et ultrastructurales des jonctions septées dans le cas de notre matériel.

Au niveau de ces jonctions septées, l'espace intercellulaire présente une largeur moyenne de 15 à 18 nm avec un espace interseptal quelquefois variable de 9 à 15 nm.

En coupe tangentielle, la jonction septée apparaît sous forme de "nid d'abeilles" avec des particules alignées en rangées dessinant un parcours sinueux en majeure partie (fig. 30, 31).

Cette disposition est confirmée par les observations effectuées sur des répliques de cryofractures, réalisées sur des fragments d'intestin préalablement fixé.

Les particules intramembranaires sont observées sur la face protoplasmique des membranes plasmiques et possèdent un diamètre de 6 à 8 nm.

La jonction septée est caractérisée par un alignement de particules intramembranaires disposées en rangées parfois parallèles entre elles et à la surface apicale (figs 32, 33).

DISCUSSION

La majorité des travaux réalisés sur le tube digestif des Annélides Polychètes ont porté surtout sur la structure et la physiologie de la région antérieure.

1 - L'estomac

Chez *Perinereis cultrifera*, l'estomac est unistratifié et constitué essentiellement de deux types de cellules glandulaires, recouvertes du côté apical par une épaisse cuticule traversée perpendiculairement par les microvillosités des cellules sous-jacentes. L'épithélium est limité du côté basal par une lame basale sur laquelle reposent les cellules. La musculature, très développée, est double et constituée de fibres circulaires et de fibres

longitudinales. La cuticule montre un aspect semblable à celui qui a été décrit chez d'autres Annélides Polychètes (BOILLY, 1967, 1970 ; MICHEL, 1969b, 1972a ; BANTZ et MICHEL, 1971 ; MICHEL et DE VILLEZ, 1980). Selon ces auteurs les fibres cuticulaires sont de nature collagénique. La composition chimique du collagène de la cuticule de *Nereis* a été déterminée par KIMURA et TANZER (1977).

Les cellules glandulaires muqueuses, que nous avons observées, se distinguent nettement de celles de l'intestin par leurs granules muqueux torsadés et présentent un aspect semblable à celui des glandes muqueuses décrites par MICHEL (1978) dans l'épithélium du diverticule pharyngien d'*Audouinia tentaculata*.

Les cellules glandulaires séreuses, que nous avons observées, sont spécifiques à l'estomac et sont absentes au niveau de l'intestin. Ce deuxième type cellulaire a été précédemment décrit et caractérisé histochemiquement par MICHEL (1968, 1970b, 1972b) qui le qualifie de cellules séreuses. Selon cet auteur, ces cellules présentent les caractéristiques histo-chimiques et ultrastructurales des cellules acineuses du pancréas exocrine des Mammifères.

Ces cellules élaborent une sécrétion protéique, riche en groupements indol et disulfure, et présentent un cycle parallèle au cycle digestif (MICHEL, 1968, 1979 ; MICHEL et DE VILLEZ, 1979).

2 - L'intestin

L'épithélium intestinal de *Perinereis cultrifera* est constitué d'une seule couche de cellules adhérentes à la lame basale. Deux types cellulaires sont observés à ce niveau : des entérocytes et des cellules glandulaires muqueuses.

- Les entérocytes s'étendent sur toute la hauteur de l'épithélium et se caractérisent par des microvillosités assez développées. Ces cellules présentent de nombreuses mitochondries dans le cytoplasme apical ainsi que des vésicules et des formations tubulaires de réticulum lisse. Quelques corps multivésiculaires sont également présents dans cette région. L'une des caractéristiques principales de ces cellules est la présence, dans la région sous-jacente aux microvillosités, de formations apicales denses, de forme allongée, disposées régulièrement au contact de la membrane apicale et orientées dans le sens du prolongement cellulaire. Ces formations présentent une structure tubulaire interne et semblent renfermer du matériel dense très osmiophile. Il est certain qu'elles ne constituent pas un prolongement des racines ciliaires des microvillosités dont elles sont bien distinctes. De plus, elles

ne montrent pas d'ouverture en direction de la lumière intestinale et présentent une membrane très pauvre en particules intramembranaires ce qui rend difficile le rapprochement de leur membrane avec la membrane plasmique. Dans l'état actuel de nos connaissances, ces formations n'ont pas été décrites dans l'intestin des Polychètes et il est très difficile de leur attribuer un rôle physiologique précis. Des structures semblables ont été signalées chez *Tetrahymena* (TOKUYASU et SCHERBAUM, 1965 ; WUNDERLICH et SPETH, 1972) et sont qualifiées de mucocytes. Chez les Insectes, des granules denses et sphériques sont couramment observables dans le cytoplasme apical des cellules intestinales (ANDRIES, 1976a). Ces granules denses déchargent leur matériel au moment de la prise de nourriture et semblent, de ce fait, constituer des réservoirs enzymatiques.

Chez *P. cultrifera* il serait probable que des phases d'exocytoses puissent avoir lieu au moment de la prise de nourriture.

- Les cellules glandulaires muqueuses de l'intestin diffèrent de celles de l'estomac. Elles sont différentes des entérocytes par leur forme et leur densité cytoplasmique. Ces cellules sont dépourvues de formations apicales denses et de granules lipidiques. Elles présentent, dans leur cytoplasme apical, un faisceau de microtubules orientés parallèlement à l'axe cellulaire. L'une des fonctions principales et la mieux établie de ces microtubules est le maintien de la forme cellulaire (TILNEY, 1971 ; FULLIVOLE et JACOBSON, 1971 ; DUSTIN, 1972). Cependant, leur disposition et leur abondance dans ces cellules semblent être en relation avec le transit des grains de sécrétion. Une telle fonction a été attribuée aux microtubules observés dans les cellules en "bouteille" décrites par ANDRIES (1976b) dans l'intestin de la larve d'*Aeshna cyanea*.

Au sujet des cellules ciliées, observées dans l'épithélium intestinal, nous ne disposons que de quelques éléments untrastructuraux caractéristiques de leur région apicale. Signalons toutefois que de telles cellules ont été décrites par MICHEL (1972a) dans les papilles de la gaine de la trompe de *Notomastus latericeus*. Cependant leur rôle est largement discuté et il semble, selon cet auteur, qu'elles aient un rôle dans la chémoréception. Par ailleurs il semble selon certains auteurs que les cellules monociliées sont considérées comme mécanoréceptrices (HORRIDGE, 1969 ; NØRREVANG et WINGSTRAND, 1970).

Dans le cas de notre matériel, ces cellules monociliées sont localisées au niveau de la région antérieure de l'intestin avec une fréquence

très faible. Nous n'en avons pas rencontré au niveau de l'estomac. Cette localisation semble difficile à interpréter dans le cadre de l'hypothèse précédemment citée.

Les fibres nerveuses, par contre, sont présentes dans l'estomac et dans tout l'intestin. Elles sont constituées d'un ensemble d'axones situés à la base de l'épithélium et disposés parallèlement à l'axe du tube digestif. Nous avons décrit deux types de cellules neurosécrétrices.

Chez les *Aphroditidae*, WELSCH et STORCH (1970) ont signalé la présence de fibres nerveuses intraépithéliales sans donner d'interprétation sur leur rôle physiologique. De même chez les *Lobatocerebridae*, RIEGER (1981) a récemment décrit une innervation à la base de l'épithélium pharyngien.

Chez *P. cultrifera*, les figures synaptiques observées entre les deux types d'axones d'une part et au niveau de la membrane basale semblent témoigner d'une interaction physiologique certaine, soit dans la motricité intestinale, soit dans les activités absorbantes et sécrétrices de l'épithélium.

Quant à l'origine topographique de ces fibres, il semblerait que celles-ci proviennent des nerfs somatogastriques issus du système nerveux central.

A proximité des fibres nerveuses, des cellules basales à granules sont souvent observables. Ces cellules sont localisées à la base de l'épithélium et présentent des analogies avec les cellules basales à granules décrites par RIEGER (1981) chez les *Lobatocerebridae* et qui font partie du système gliointerstitiel. BASKIN (1971) décrit deux types de cellules gliales dans le système nerveux des Polychètes dont un type qu'il qualifie de granulocyte et qui est semblable aux cellules basales à granules de *P. cultrifera*

3- Système jonctionnel

Les membranes latérales des cellules épithéliales intestinales sont reliées entre elles par un système jonctionnel complexe.

A l'apex, les cellules voisines sont liées par une *Zonula adhaerens* suivie d'une jonction septée en alternance avec quelques desmosomes. Dans la région moyenne de l'épithélium quelques jonctions de type "gap" sont observées.

Les jonctions septées sont considérées comme spécifiques aux Invertébrés (VERNET *et al.*, 1979 ; NOIROT-TIMOTHEE et NOIROT, 1980). Elles ont été décrites pour la première fois par WOOD (1959) sous le terme de "desmosomes septés".

Elles sont classées en trois types (STAEHELIN, 1974) :

- type Hydre (observé chez l'Hydre) où les membranes latérales des cellules voisines sont reliées par des lames parallèles rectilignes et disposées perpendiculairement à la surface des membranes.
- type plissé : en coupe tangentielle ces jonctions apparaissent sous forme de lignes régulièrement plissées ou présentant la structure d'un "nid d'abeilles" (WIENER *et al.*, 1964 ; LOCKE, 1965).
- type continu : ces jonctions se caractérisent par le parallélisme des membranes adjacentes. L'intervalle entre les membranes est rempli de matériel dense (NOIROT et NOIROT-TIMOTHEE, 1967, 1972 ; DALLAI, 1970).

Un seul type de jonction septée existe au niveau de l'épithélium intestinal de *Perinereis cultrifera*. Il présente une structure similaire à celle des jonctions septées plissées des Insectes (cf. NOIROT-TIMOTHEE et NOIROT, 1973). Ce type de jonction a également été observé chez d'autres Annélides (WHITE et WALTHER, 1969 ; BASKIN, 1976).

Les jonctions septées sont généralement interprétées comme une barrière à la perméabilité intercellulaire dans le cas des structures épithéliales d'Invertébrés où les jonctions serrées (ou "tight-junctions") sont pratiquement absentes (NOIROT-TIMOTHEE et NOIROT, 1980).

CHAPITRE II

ÉTUDE CYTOPHYSIOLOGIQUE DU TUBE DIGESTIF

I - SYNTHÈSE DE GLYCOPROTEINES ET ELABORATION DU "CELL-COAT"

Cette étude a été réalisée par autoradiographie à haute résolution. Deux précurseurs ont été utilisés : le fucose et la leucine.

1 - Le Fucose

L'injection a été réalisée dans la cavité coelomique pour des temps d'incorporation variables de 5 heures, 24 heures et 5 jours.

A des temps d'incorporation courts, de 5 heures, les grains d'argent sont localisés préférentiellement au niveau de l'appareil de Golgi et plus particulièrement au niveau des faces de maturation des dictyosomes et sur les vésicules golgiennes. Le marquage est plus intense au niveau des cellules glandulaires muqueuses (figs 49, 50), qu'au niveau des entérocytes (figs 51, 52).

Après 24 heures d'incorporation, les grains d'argent se localisent dans le cytoplasme. Les cellules glandulaires muqueuses montrent un marquage en général trois à quatre fois plus intense que celui des entérocytes (fig. 59).

Pour des temps longs de 5 jours, la majorité des grains d'argent se situe au niveau de la bordure en brosse (figs 58, 60). Un faible marquage persiste au niveau du cytoplasme apical des deux types cellulaires.

2 - La Leucine

Le marquage se localise initialement, pour un temps de 4 heures, dans les deux types cellulaires, au niveau des dictyosomes et du réticulum

granulaire (figs 53, 54). A des temps de 24 heures, les grains d'argent sont disséminés dans le cytoplasme.

Quelques grains d'argent sont visibles au niveau des mitochondries. Un marquage plus net est observé sur les grains de sécrétion des cellules glandulaires muqueuses (figs 55, 56). Après 3 jours d'incorporation, la plupart des grains d'argent se situe au niveau de la membrane apicale et sur les microvillosités (fig. 57).

Les cinétiques d'incorporation de ces deux précurseurs sont complémentaires et permettent d'établir la voie de cheminement du matériel destiné au "cell-coat" cellulaire. Dans les deux types cellulaires, la synthèse débute dans un premier temps au niveau du réticulum endoplasmique granulaire qui élabore la portion protéique et se termine au niveau de l'appareil de Golgi où se produit la fucosylation des glycoprotéines. Le matériel ainsi élaboré migre dans les vésicules à travers le cytoplasme, pour être déversé finalement à l'apex cellulaire et participer au "cell-coat".

Les résultats montrent également que les cellules glandulaires muqueuses possèdent un métabolisme de synthèse plus rapide que celui des entérocytes.

II - DETECTION HISTOENZYMOLOGIQUE D'ENZYMES PROTEOLYTIQUES

La localisation d'enzymes protéolytiques a été réalisée sur des coupes à congélation de 50 μ d'épaisseur. Cette expérience a été effectuée sur des tranches d'intestin et d'estomac incubées avec un substrat de gélatine selon la technique de CUNNINGHAM (1967). L'incubation a été faite à 20°C et à pH 7,0 pendant 15 minutes.

Les résultats montrent une digestion de la gélatine (visualisée en blanc) dans toute la lumière de l'estomac (fig. 60). Cette activité protéolytique est absente au niveau de l'intestin (fig. 61).

Les observations cytologiques ont montré au niveau de l'estomac, l'existence essentiellement de deux types de cellules glandulaires : des cellules glandulaires muqueuses sécrétant du mucus et des cellules glandulaires que nous avons qualifiées de séreuses par analogie à celles décrites chez d'autres Polychètes. Ce deuxième type cellulaire est absent au niveau de l'intestin. De plus, leur localisation exclusive au niveau de l'estomac semble indiquer qu'elles sont responsables de la sécrétion d'enzymes protéolytiques détectées à ce niveau.

III - ABSORPTION DE MACROMOLECULES

Pour illustrer ce phénomène particulier au niveau de l'intestin, nous avons utilisé deux types de traceurs (peroxydase (HRP) et ferritine) dans le but de suivre la voie d'absorption des protéines exogènes.

Les observations ultrastructurales effectuées au niveau de l'épithélium intestinal montrent un certain nombre de structures qui pourraient être impliquées dans des processus physiologiques particuliers.

Au niveau de la membrane apicale, quelques invaginations sont observables à la base des microvillosités, et des vésicules apparaissent dans le cytoplasme apical. Les mitochondries sont également présentes ainsi que des formations tubulaires de réticulum endoplasmique lisse et quelques corps multivésiculaires.

1 - Absorption de la peroxydase

Après une période d'incubation de 4 heures, les produits de la réaction sont observés au niveau de la membrane plasmique et dans le cytoplasme (fig. 63). Dans le cytoplasme apical, la peroxydase est localisée dans des vésicules pinocytiques et au niveau des formations tubulaires du réticulum endoplasmique (figs 64, 65, 67). Elle est également présente au niveau de quelques corps multivésiculaires et apparaît finalement accumulée dans des vacuoles et à l'intérieur de certaines formations de structure lysosomiale (figs 66, 68). L'absorption de la peroxydase a lieu au niveau des entérocytes alors que les cellules glandulaires muqueuses ne semblent pas intervenir dans ce processus puisqu'elles ne présentent aucune réaction. Les entérocytes semblent en plus absorber la peroxydase par le moyen d'un flux continu de vésicules pinocytiques originaires de la membrane plasmique apicale.

2 - La ferritine

Après injection d'une solution de ferritine dans la lumière du tube digestif et après une période de 4 heures, celle-ci est recherchée au niveau des entérocytes où elle se trouve localisée dans différentes structures cytoplasmiques.

La ferritine est présente par endroit au niveau de la membrane apicale et dans le cytoplasme (fig. 69), où elle est prise en charge par des vésicules pinocytiques qui peuvent présenter parfois des formes variables (figs 70, 71, 72). Certaines vésicules, renfermant de la ferritine, semblent fusionner entre elles (fig. 73).

Les structures tubulaires ne renferment pas de ferritine et ne semblent pas participer dans ce système de transport particulier. Enfin, une accumulation de particules de ferritine est observée au niveau des corps multivésiculaires et de certaines vacuoles cytoplasmiques (fig. 74, 75, 76).

D'après ces résultats, il apparaît donc que les entérocytes sont capables d'absorber des macromolécules qui se trouvent naturellement dans le tube digestif ou provenant d'une digestion extracellulaire incomplète. Les macromolécules sont absorbées par pinocytose et sont transportées dans le cytoplasme vers des vacuoles cytoplasmiques et au niveau de certaines structures lysosomiales où elles sont accumulées. Cette accumulation à ce niveau précis semble indiquer que ces structures pourraient être impliquées dans un processus de digestion intracellulaire.

Pour éclaircir ce phénomène, nous avons entrepris une recherche de la phosphatase acide au niveau des entérocytes. Cette activité est bien localisée au niveau de l'appareil de Golgi (fig. 77) où elle est accumulée surtout à la périphérie des saccules et au niveau des vésicules golgiennes. Elle est également présente dans certaines vacuoles cytoplasmiques de la zone supranucléaire et dans le cytoplasme apical (fig. 78). Certains saccules isolés, évoluant vers une forme annulaire, montrent une activité phosphatase acide intense et semblent constituer un système particulier (fig. 79).

Une méthode plus directe, consistant en une recherche de la phosphatase acide après 5 heures d'incubation de fragments d'intestin avec une solution de ferritine, permet de mieux déterminer le rôle physiologique des structures cytoplasmiques décrites précédemment et montre que celles-ci représentent effectivement un site de dégradation des macromolécules absorbées par les entérocytes (figs 80, 81, 82).

DISCUSSION

1 - Synthèse de glycoprotéines et élaboration du "cell-coat"

Les résultats obtenus, avec la leucine et le fucose comme précurseurs des synthèses protéiques et glycoprotéiques, sont complémentaires et indiquent que les cellules épithéliales de l'intestin de *P. cultrifera* sont capables de synthétiser à la fois des protéines et des glycoprotéines. Ces dernières ont retenu notre attention puisqu'elles entrent dans la constitution et le renouvellement du matériel de revêtement cellulaire ou "cell-coat". Le fucose est bien connu pour sa spécificité pour les études des synthèses de glycoprotéines, puisque celui-ci se localise à l'extrémité des chaînes polysaccharidiques et glycoprotéiques (COFFEY *et al.*, 1964 ; BEKESI et WINZLER, 1967).

L'incorporation du fucose, dans tous les types cellulaires, est réalisée au niveau des dictyosomes. Ces organites représentent le site de fucosylation des glycoprotéines (PELLETIER et PUVIANI, 1973). Il est généralement admis aussi que l'incorporation de sucres simples dans les glycoprotéines se produit au niveau de l'appareil de Golgi par le concours de transférases spécifiques (FLEISCHER *et al.*, 1969).

Les études réalisées sur l'élaboration et le renouvellement du matériel de revêtement cellulaire sont comparables et montrent que la fraction carbohydratée des glycoprotéines, destinées au "cell-coat", est synthétisée au niveau de l'appareil de Golgi où elle est combinée à la fraction protéique. Le matériel élaboré migre ensuite dans le cytoplasme, dans des vésicules, vers la surface apicale où il est déversé (BENNET, 1970 ; BENNET et LEBLOND, 1970, 1971 ; MICHAELS et LEBLOND, 1976).

Ces résultats sont comparables aux nôtres, et il semble bien que la fraction protéique des glycoprotéines soit synthétisée au niveau du réticulum granulaire avant son passage dans l'appareil de Golgi. A ce niveau elle se combine à la fraction carbohydratée pour constituer enfin le matériel du "cell-coat". Ce matériel est ensuite véhiculé dans des vésicules vers la membrane apicale où il sera déversé.

Dans le cas de la leucine, la présence de quelques grains d'argent au niveau des mitochondries ne constitue pas un fait isolé puisque celles-ci possèdent des mécanismes reconnus dans la production des protéines (WHEELDON et LEHNINGER, 1966). De même, dans le cas du fucose, la présence de grains d'argent sur les membranes latérales suggère que celles-ci reçoivent une partie du matériel glycoprotéique pour leur revêtement membranaire.

2 - Sécrétion d'enzymes protéolytiques

Dans l'estomac de *P. cultrifera* nous avons décrit précédemment des cellules glandulaires muqueuses et des cellules glandulaires séreuses. Ces dernières présentent des caractéristiques ultrastructurales comparables à celles décrites chez de nombreuses Annélides Polychètes.

Nous avons également démontré l'existence d'une sécrétion d'enzymes digestives protéolytiques dans l'estomac. Cette activité est absente au niveau de l'intestin où les cellules glandulaires séreuses sont catégoriquement absentes.

Chez les Annélides Polychètes, la revue sur la digestion a été récemment détaillée par MICHEL et DE VILLEZ (1978) et il paraît généralement admis, que la sécrétion d'enzymes protéolytiques dans le tube digestif des Polychètes est liée à la présence de cellules glandulaires séreuses (MICHEL, 1970a, 1977 ; MICHEL et IMHOFF, 1975). Chez *P. cultrifera*, il semble donc très probable que les cellules glandulaires séreuses de l'estomac soient responsables de la sécrétion de protéases à ce niveau.

3 - Absorption de macromolécules et digestion intracellulaire

Chez les Annélides, la digestion des aliments a été généralement considérée comme exclusivement extracellulaire (YONGE, 1937 ; SCHEER, 1948). La digestion intracellulaire a été ensuite signalée par KERMACK (1955) chez *Arenicola marina* et MARSDEN (1963, 1966) chez *Hermodice carunculata*.

Chez *P. cultrifera*, nous avons démontré l'existence de cette forme de digestion sous son aspect ultrastructural et cytochimique. Nos observations ont montré que les entérocytes sont capables d'absorber des macromolécules (peroxydase et ferritine) par pinocytose et les accumuler dans des sites de digestion intracellulaire où elles sont ensuite soumises à une dégradation sous l'effet d'enzymes hydrolytiques.

Ce phénomène de digestion intracellulaire a été étudié et signalé à différentes reprises chez de nombreux organismes appartenant à différents groupes zoologiques, et apparaît comme un critère évolutif très important.

Ainsi, chez les organismes unicellulaires, la digestion intracellulaire des macromolécules est largement admise comme un mécanisme de nutrition primitif (MÜLLER, 1967) selon lequel les particules sont introduites dans la cellule avant d'être soumises à une dégradation sous l'action d'enzymes hydrolytiques. Chez les Métazoaires, l'évolution du système alimentaire est caractérisée par le passage de la forme de digestion intracellulaire à la forme de digestion extracellulaire. Dans cette dernière, les fonctions de sécrétion d'enzymes digestives et d'absorption sont accomplies par des cellules spécialisées.

Chez quelques Métazoaires inférieurs tels que les éponges et les Coelentérés, l'existence de la digestion intracellulaire est incontestable (AFZELIUS et ROSEN, 1965 ; LENTZ et BARNNETT, 1965 ; SCHMIDT, 1970). Chez les Ascidiens, les cellules épithéliales vacuolées de l'intestin sont capables d'absorber des macromolécules qui se trouvent naturellement dans le tube digestif ou qui proviennent d'une digestion extracellulaire incomplète (BURIGHEL, 1979).

Les deux types de digestion extra- et intracellulaire coexistent chez la plupart des Mollusques à l'exception de quelques Céphalopodes et quelques Bivalves *Muculidae* (*in* PURCHON, 1968). Chez les Poissons Cyprinidés, les entérocytes du second segment moyen de l'intestin sont capables d'absorber des macromolécules, par pinocytose, destinées à être hydrolysées dans la vacuole supranucléaire sous l'effet d'enzymes hydrolytiques identifiées à ce niveau (NOAILLAC-DEPEYRE et GAS, 1973).

Chez certains Invertébrés inférieurs, les molécules de protéine absorbées, par les entérocytes de l'intestin, sont accumulées dans des vacuoles jouant très probablement un rôle dans la digestion intracellulaire (SUGIMOTO *et al.*, 1981).

Enfin, de tels processus d'absorption de macromolécules ont été décrits chez quelques Mammifères durant la période néonatale (KRAEHENBUHL *et al.*, 1967 ; HUGON, 1970).

En conclusion, les Néréidiens présentent par leur processus d'assimilation une place phylogénique intéressante. Leur processus dominant de digestion extracellulaire les rapproche des Arthropodes les plus évolués; à l'opposé leur processus de digestion intracellulaire apparaît comme un caractère primitif, mais cependant persistant puisqu'il existe encore chez les Vertébrés inférieurs et ne disparaît que chez les Amphibiens.

CHAPITRE III

TRANSFORMATIONS MORPHOLOGIQUES ET BIOCHIMIQUES

DE L'INTESTIN AU COURS DE L'ÉPITOQUIE

Il est bien connu qu'au cours de l'épitoquie naturelle chez certains Néréidiens et en particulier chez *Perinereis cultrifera*, le taux de l'hormone cérébrale diminue et tend vers une valeur nulle. Ce processus détermine une levée de l'inhibition exercée sur la maturation génitale. Les individus épitoques présentent des yeux hypertrophiés et des parapodes transformés en palettes natatoires qui leur facilitent ainsi la danse nuptiale. Les cirres parapodiaux de certains segments du corps subissent des transformations hétéronéréidiennes, caractéristiques du sexe et se traduisant par l'apparition de renflements (chez les mâles et les femelles) et de crânelures (chez les mâles).

Pendant cette période, l'intestin entre en régression et subit d'importantes transformations. Nous avons étudié cette évolution et l'avons comparée à celle résultant d'une épitoquie expérimentale, provoquée par l'ablation du cerveau.

Dans cette étude, nous avons abordé essentiellement deux aspects :

- des aspects morphologiques et
- des aspects biochimiques.

I - ASPECTS MORPHOLOGIQUES

1 - Épitoquie naturelle

a - Modifications cytologiques

Chez *P. cultrifera*, lors de l'épitoquie, l'intestin entre en régression naturelle. Les cellules épithéliales sont affectées par des phénomènes de dégénérescence qui se manifestent par la diminution du nombre de microvillosités et des formations apicales denses. En même temps le réticulum endoplasmique, particulièrement abondant dans le pôle apical de la cellule, se présente sous forme de citernes dilatées donnant naissance à de nombreuses vésicules (figs 34, 38). Le glycogène est disposé en plages distinctes, souvent entourées d'une membrane (fig. 38). Les dictyosomes différencient des vésicules à matériel de structure plus ou moins fibrillaire, qui évoluent en corps denses présentant un aspect identique à celui des peroxysomes, avec une matrice homogène et un noyau excentré très dense (fig. 37). Ces corps denses sont souvent observés à proximité des structures lysosomiales auxquelles ils s'intègrent parfois.

Ces phénomènes de dégénérescence affectent toutes les cellules de l'épithélium et se traduisent par l'abondance de formations intracellulaires généralement observées dans le cytoplasme apical. Ces formations sont caractérisées par leur grande taille (2 à 3 μ de diamètre), et par l'hétérogénéité du matériel cytoplasmique qu'elles renferment. Ces caractéristiques font de ces formations des structures semblables à des vacuoles autophagiques. Leur formation résulte de la séquestration, sous une enveloppe plus ou moins complexe, d'une portion de cytoplasme. Le matériel séquestré est diversifié et constitué de mitochondries, de ribosomes et de différentes inclusions cytoplasmiques. De plus, l'enveloppe de ces vacuoles autophagiques semble provenir du système de réticulum endoplasmique (figs 35, 36). Les vacuoles se transforment finalement en une structure dense ressemblant à un corps résiduel.

Dans les cellules dégénérescentes, les noyaux prennent un aspect pycnotique et présentent une enveloppe nucléaire dilatée (fig. 39).

Les cellules affectées par une dégénérescence plus poussée, font hernie dans la lumière intestinale où elles seront rejetées (figs 34, 38). Les microvillosités et les formations apicales denses, dans ces cellules, ont pratiquement disparu. Le noyau est localisé dans la région apicale. L'enveloppe nucléaire se présente sous une forme hérissée ; en même temps la chromatine tend à disparaître, laissant place à des mottes chromatiniennes dispersées dans le nucléoplasme.

Ces processus de dégénérescence s'étendent également à la partie basale de l'épithélium et affectent aussi bien les formations nerveuses que les cellules basales à granules (figs 40, 41). Au sein de ces structures, l'évolution des formations lytiques se traduit par la séquestration des granules de sécrétion dans une portion de cytoplasme, sous une ou plusieurs membranes constituant un système lytique, où ils subissent ensuite une dégradation dans la vacuole qui évolue vers des aspects denses ou lamellaires.

b - Localisation de la phosphatase acide

Ces phénomènes dégénératifs sont accompagnés d'importantes activités hydrolytiques, localisées à différents niveaux de l'épithélium. La distribution et la localisation de la phosphatase acide est en étroite liaison avec les structures lytiques précédemment décrites. La localisation cytoenzymologique de la phosphatase acide au niveau des cellules en dégénérescence montre que celle-ci présente une distribution bien précise au niveau des différents compartiments cytoplasmiques. Cette activité hydrolytique se localise au niveau des saccules golgiens et des vésicules golgiennes (figs 42, 44) et s'étend à de nombreuses vacuoles cytoplasmiques, où les produits de la réaction sont situés à la périphérie, au contact de la membrane interne des vacuoles (fig. 43).

Les cytolysosomes présentent également une réaction, ainsi que des saccules unitaires sous forme de "coupe" (figs 42, 43). Enfin la réaction est beaucoup plus intense au niveau de certaines vésicules (de 0,2 μ de diamètre), probablement issues de l'appareil de Golgi et constituant des lysosomes primaires, ainsi qu'au niveau de certaines vacuoles (de 0,6 à 2 μ de diamètre) renfermant du matériel dense ou lamellaire semblable à celui des vacuoles autophagiques (fig. 45).

2 - Épitoquie expérimentale

Elle a été induite chez des jeunes *P. cultrifera* par ablation du prostomium. Après une période de 20 jours sans cerveau, les vers sont disséqués et leur intestin observé au microscope électronique.

Les modifications de l'épithélium sont comparables, dans l'ensemble, à celles décrites chez les épitoques naturels.

Les phénomènes de dégénérescence dans ce cas se traduisent par l'apparition de nombreuses structures lysosomiales (fig. 47) et d'importantes enclaves lipidiques (fig. 48), tandis que les microvillosités tendent à

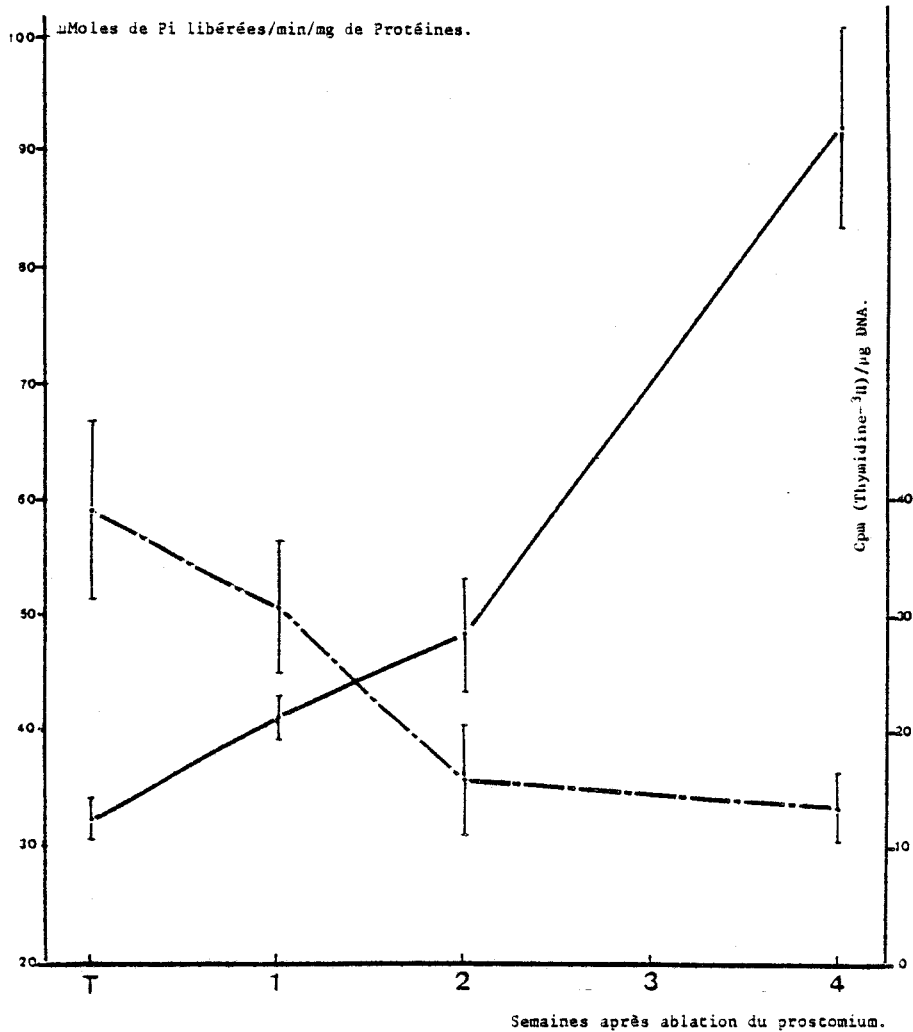


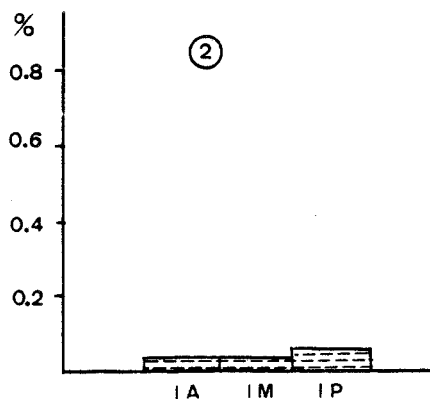
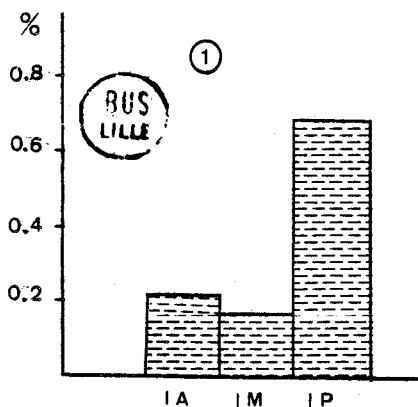
Figure a - Evolution de l'activité phosphatasique-acide et des synthèses d'ADN dans l'intestin de *P. cultrifera* en fonction de la suppression de l'hormone cérébrale.

----- Synthèse d'ADN
 ——— Phosphatase acide

T : témoin. Nombre d'échantillons : 5.

Figure b - Mitoses de l'épithélium intestinal.

Noyaux marqués à la thymidine-³H par rapport au nombre total des noyaux par section de 6 μ (en pour cent).
 1 - atouques ; 2 - épitoques expérimentaux.
 IA, intestin antérieur ; IM, intestin moyen ; IP, intestin postérieur.



disparaître dans certaines cellules (fig. 46). Les formations apicales denses sont atteintes dans leur organisation et dans leur nombre qui tend à se réduire.

Les mitochondries sont généralement réduites en taille et présentent une matrice opaque avec des crêtes plus ou moins dilatées. Les rejets cellulaires dans ces conditions sont quasiment absents, sinon très rares à l'observation.

L'évolution des formations lytiques se déroule de la même façon que chez les épitoques naturels. Les organites ainsi que des portions cytoplasmiques, destinés à être dégradés sous l'effet d'enzymes hydrolytiques, sont séquestrés à l'intérieur d'un système membranaire provenant très probablement du réticulum endoplasmique (figs 47, 48).

Ces phénomènes, n'étant pas aussi marqués que chez les épitoques naturels, nous incitent à interpréter ces résultats comme une phase précoce de régression de l'épithélium intestinal qui se manifeste au cours de l'épitoquie.

II - ASPECTS BIOCHIMIQUES

1 - Evolution des teneurs en enzymes hydrolytiques de l'intestin en fonction de la chute de l'hormone cérébrale

Cette activité a été localisée au niveau ultrastructural et a été reliée aux différentes structures intervenant dans les processus dégénératifs de l'épithélium intestinal au cours de l'épitoquie. Afin de suivre son évolution, en fonction de la chute du taux de l'hormone cérébrale, nous avons procédé à une étude quantitative par voie biochimique.

Pour cette étude nous avons utilisé quatre lots d'animaux :

- lot T : représentant le lot témoin constitué d'animaux non décérébrés,
- lots I, II et IV : représentant les animaux ayant vécu sans cerveau pendant des périodes d'une semaine, deux semaines et quatre semaines respectivement.

Les animaux ont été maintenus à une température de 13°C avec un renouvellement quotidien d'eau de mer. Le taux de mortalité dans ces conditions a été très réduit. Au bout de chaque période les animaux sont opérés, l'intestin est prélevé et le dosage de la phosphatase acide est effectué selon la technique décrite dans le chapitre "Matériel et Méthodes".

Les résultats sont représentés dans la figure (a) et sont exprimés en fonction de l'activité spécifique, en μ moles de phosphate inorganique libérées par minute et par mg de protéines. Les valeurs représentées correspondent à une moyenne effectuée sur cinq échantillons (cinq animaux) et les barres verticales, à l'écart-type.

Les témoins ont été dosés au bout de la quatrième semaine.

L'allure de la courbe montre que les activités hydrolytiques au niveau de l'intestin deviennent de plus en plus importantes au fur et à mesure de la chute de l'hormone cérébrale dans le milieu cœlomique.

L'activité phosphatasique acide augmente rapidement au bout de la deuxième semaine, après ablation du cerveau, et atteint une valeur presque double de celle des témoins.

Au bout de quatre semaines, après ablation du cerveau, cette activité atteint une très forte valeur représentant environ six fois la valeur des témoins.

Cette évolution des activités hydrolytiques est en parfaite corrélation avec les phénomènes de dégénérescence qui se manifestent au niveau de l'épithélium intestinal au moment de l'épitoquie.

2 - Evolution des synthèses d'ADN en fonction de la chute de l'hormone cérébrale

a - Données autoradiographiques

Cette étude a été réalisée sur des vers ayant subi une injection de thymidine tritiée dans la cavité cœlomique, pour une durée d'incubation de 24 heures.

Les observations effectuées sur des vers atoniques sont comparées à celles des épitoques expérimentaux ayant subi une ablation du cerveau pour une période de 20 jours.

Les résultats sont exprimés en pourcentage de noyaux marqués à la thymidine. Le marquage a été également étudié à différents niveaux de l'intestin correspondant aux régions antérieure, moyenne et postérieure.

Les résultats obtenus (fig. b) montrent que, chez les vers atoniques, les synthèses d'ADN varient selon les régions de l'intestin. Le maximum de noyaux marqués est observé dans la région postérieure de l'intestin. Les noyaux marqués sont localisés dans la zone basale de l'épithélium.

Chez les épitoques expérimentaux étudiés, le taux de marquage baisse nettement dans les trois régions de l'intestin.

Les observations montrent également qu'au niveau des téguments et plus précisément au niveau des parapodes, une importante prolifération est observée chez les épitoques, alors que les atokes présentent un nombre de noyaux marqués très restreint.

Ceci est probablement lié au développement important des parapodes au moment de l'épitoquie.

En ce qui concerne l'intestin, il semble donc que l'hormone cérébrale soit nécessaire pour assurer les mitoses de l'intestin et le remplacement des cellules épithéliales usées.

b - Données biochimiques

Sur les mêmes lots d'animaux précédents, une injection de thymidine tritiée (0,05 μ Ci/mg de ver) est effectuée, vingt heures avant l'isolement de l'intestin. Les dosages d'ADN sont effectués sur une fraction aliquote de l'homogénat. La radioactivité est déterminée au niveau de l'hydrolysate d'ADN (cf. le chapitre "Matériel et Méthodes"). Les résultats (moyennes et écarts-types) sont exprimés en cpm/ μ g d'ADN (fig. a).

Chez les témoins les synthèses d'ADN sont nettement plus importantes que chez les animaux privés d'hormone cérébrale. Ces synthèses diminuent légèrement au bout de la première semaine après suppression du cerveau et sont nettement plus faibles au bout de la deuxième semaine.

Au bout de quatre semaines après ablation du cerveau, les synthèses d'ADN chutent, de manière significative, vers un niveau trois fois plus faible que celui des témoins.

Cette chute progressive des synthèses d'ADN au niveau de l'intestin serait directement conditionnée par le niveau de l'hormone cérébrale présente dans le milieu cœlomique ou, indirectement, sous l'effet d'une perturbation du métabolisme cellulaire due à la régression du tissu intestinal.

DISCUSSION

Au cours de l'épitoquie, l'épithélium intestinal subit d'importants remaniements. De nombreuses structures lysosomiales, riches en phosphatase acide, apparaissent dans les cellules en dégénérescence. Des organites cytoplasmiques sont séquestrés dans une portion de cytoplasme à l'intérieur de vacuoles autolytiques qui évoluent vers des aspects denses ou lamellaires. Certaines cellules dégénérantes sont rejetées dans la lumière intestinale.

Chez les épitoques expérimentaux, des phénomènes dégénératifs d'une telle ampleur ne sont pas observés. Ces phénomènes de lyse se limitent en général à la présence de quelques vacuoles autolytiques. Cependant la régression de l'intestin (au moment de la chute de l'hormone cérébrale) se traduit également par une augmentation considérable des teneurs de l'intestin en enzymes hydrolytiques.

Un autre point intéressant porte sur l'arrêt des synthèses d'ADN enregistré à la fois en autoradiographie et en biochimie. Ceci signifie que la dégénérescence cellulaire s'accompagne d'un arrêt du renouvellement des cellules de l'épithélium.

Il est à noter que ce processus est complètement étranger à l'action du jeûne et qu'il est déclenché par suppression du facteur endocrine cérébral. Ces résultats suggèrent une action hormonale sur la structure et la physiologie de l'intestin dans les conditions normales.

Vu l'intrication des processus de dégénérescence et l'arrêt du renouvellement cellulaire, il est difficile de préciser si ce contrôle hormonal s'exerce de façon directe sur les cellules intestinales. Toutefois des conditionnements endocrines comparables ont été signalés chez d'autres animaux.

Ainsi chez les Insectes, l'intestin entre en dégénérescence au moment de la métamorphose (SEHNAL, 1968 ; SOCHA et SEHNAL, 1972 ; RIDDIFORD, 1972 ; ANDRIES, 1975, 1977).

De même chez les Batraciens Anoures, les phénomènes de dégénérescence au moment de la métamorphose sont sous la dépendance du taux d'hormones thyroïdiennes présentes dans le milieu intérieur (HOURDRY et DAUCA, 1977).

PREPARATION DE PROTEINES RADIOACTIVES

Incubation des moules (24 heures)
AA-¹⁴C (5 µCi/ml d'eau de mer)

Homogénéisation/NaCl 9 ‰

Homogénat

6 000 t/min.
20 min.

(F.S)

C

①

Contrôle : répartition de la radioactivité dans les différentes fractions

S

ATCA 10%

F.A.S	F.A.P	C
43 %	54 %	3 %

précurseurs solubles

Dialyse/NaCl 9 ‰
48 heures

②

Contrôle : répartition de la radioactivité après dialyse

S dialysé

ATCA 10%

F.A.S	F.A.P
4 %	96 %

précurseurs libres précurseurs liés

BUS
LILLE

Protéines solubles radioactives

S : surnageant ; C : culot ;
(F.S) : fraction soluble (surnageant issu de la centrifugation)
F.A.S : fraction acido-soluble
F.A.P : fraction acido-précipitable

CHAPITRE IV

DIGESTION ET ASSIMILATION DES PRODUITS DE LA DIGESTION

Cette étude a été menée dans le but de connaître la durée de digestion de protéines et de savoir sous quelle forme s'effectue le passage des produits de cette digestion.

Pour cela, nous avons rendu radioactives, les protéines de moules, à partir d'un mélange d'acides aminés marqués au ^{14}C .

1 - Préparation des protéines radioactives

Les moules sont incubées, pendant 24 heures, avec une solution d'AA- ^{14}C (5 $\mu\text{Ci/ml}$ d'eau de mer), lavées ensuite et homogénéisées dans du NaCl 9 ‰. L'homogénat est alors centrifugé à 6 000 t/min, pendant 20 minutes.

Après centrifugation de l'homogénat, nous avons étudié la répartition de la radioactivité dans le culot et dans les fractions acido-solubles et acido-précipitables du surnageant après précipitation de celui-ci à l'ATCA 10 %.

Dans ce cas la radioactivité acido-soluble du surnageant représente environ 43 % de la radioactivité totale. 3 % de la radioactivité totale se localise au niveau du culot, le reste (environ 54 %) de la radioactivité est lié à la fraction acido-précipitable (protéines). Ceci nous indique que notre préparation contient beaucoup de précurseurs solubles (43 %).

Nous avons eu donc recours à une dialyse de la fraction soluble (surnageant issu de la centrifugation) pendant 48 heures, contre du NaCl 9 ‰. afin d'éliminer ces précurseurs.

Après la dialyse, la majorité du précurseur (acides aminés libres) est éliminée et ne représente que 4 % de la radioactivité totale de la fraction soluble, le reste (96 %) de la radioactivité est lié aux protéines (fraction acido-précipitable).

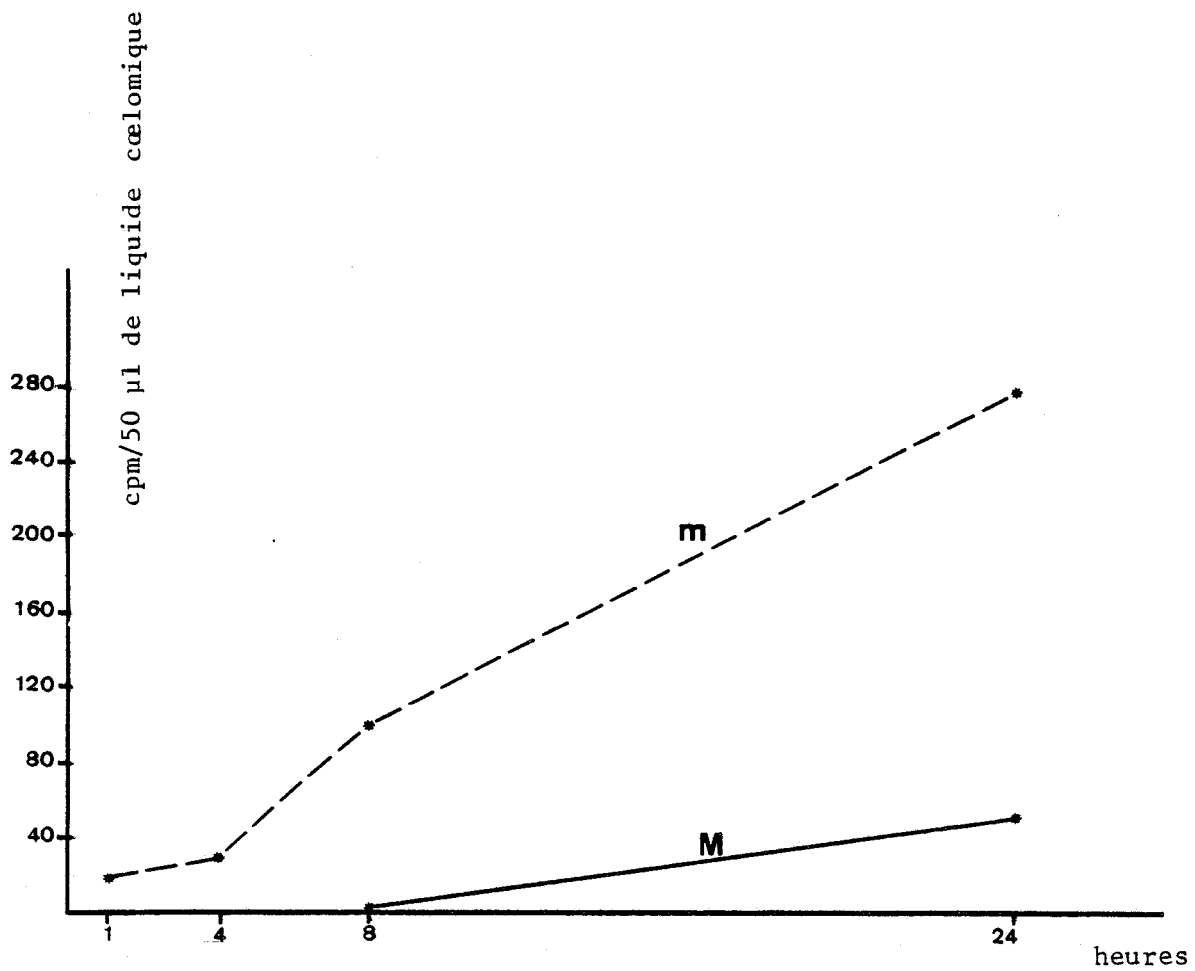


Figure c - Cinétique de l'assimilation.

Apparition de la radioactivité dans le liquide cœlomique, en fonction du temps, après injection de protéines radioactives.

m, fraction TCA-soluble du liquide cœlomique.

M, fraction TCA-insoluble du liquide cœlomique.



Après dialyse la quantité de précurseurs libres peut donc être négligée et la fraction soluble à ce moment apparaît constituée de protéines solubles radioactives.

2 - Administration dans la cavité du tube digestif

Une aliquote de 40 μ l de notre solution de protéines radioactives est alors administrée dans la cavité du tube digestif des Vers mâles. Pour cela, un fin catether (3 cm) est raccordé à une microseringue (Hamilton) contenant la solution à administrer. Après anesthésie au MS 222, les Vers sont placés sur leur face dorsale. Le catether est alors introduit par voie buccale lentement et avec le maximum de précautions afin d'éviter toute lésion de la paroi du tube digestif. Enfin l'injection est réalisée très lentement pour permettre la progression du produit dans la lumière du tube digestif.

3 - Cinétique de l'assimilation

Après administration des protéines radioactives (40 μ l de solution) dans la cavité du tube digestif, nous avons étudié l'apparition de la radioactivité dans le liquide cœlomique, en fonction du temps.

Les résultats de cette expérience sont représentés dans la figure (c), et montrent que la radioactivité apparaît dans le liquide cœlomique entre 4 heures et 8 heures et devient importante au bout de 24 heures. De plus, la radioactivité de la fraction TCA-insoluble du liquide cœlomique reste négligeable (presque nulle) initialement, sur un intervalle de temps de 8 heures et n'apparaît qu'au bout de 24 heures. Ceci veut dire que la radioactivité apparaît sous forme libre dans le liquide cœlomique.

Ces résultats montrent clairement que la digestion s'opère dans le tube digestif et que les produits de cette digestion apparaissent sous forme de molécules simples, probablement sous forme d'acides aminés, au niveau du liquide cœlomique. Cependant, il est très difficile de préciser, dans ces conditions, la nature de cette digestion et de savoir si elle est intra- ou extracellulaire ; mais il est probable que les deux processus aient lieu en même temps, vue la lenteur de ce phénomène. Quant à la présence de la radioactivité dans la fraction TCA-insoluble du liquide cœlomique au bout de 24 heures, il semble que ces protéines nouvellement synthétisées proviennent des cœlomocytes qui les élaborent à partir des précurseurs simples issus de la digestion.

Pour essayer de préciser ce processus de passage des acides aminés nous avons utilisé la leucine tritiée afin de suivre sa répartition et son évolution en fonction du temps dans les différents compartiments.

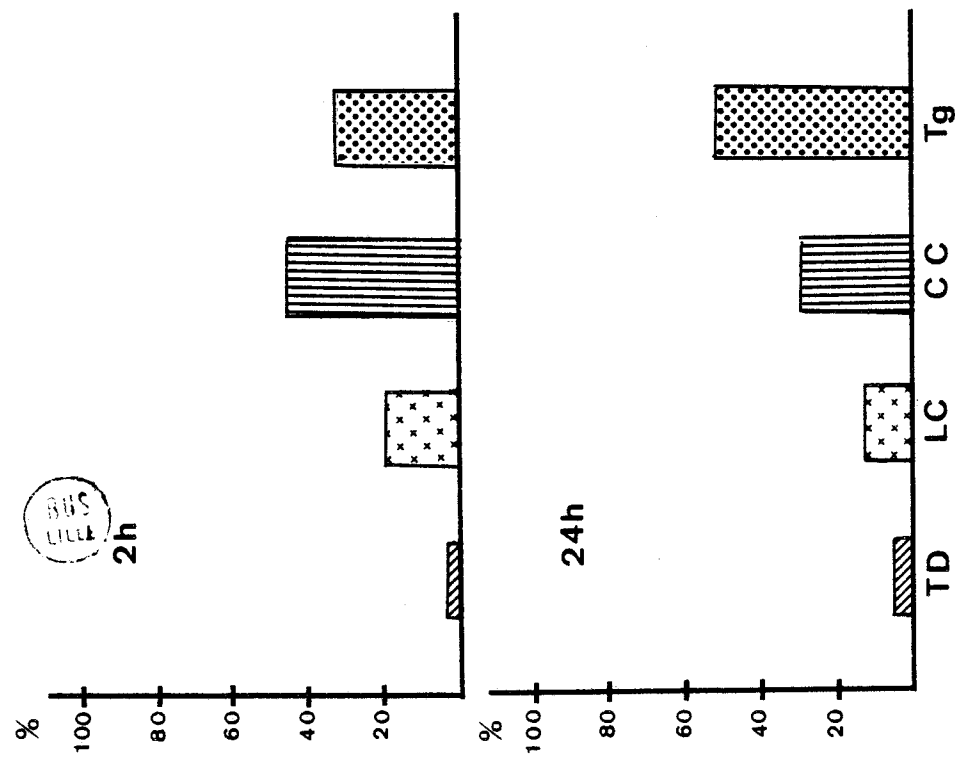


Figure d - Bilan de distribution de la radioactivité de la Leucine-³H, chez les Vers mâles, en fonction du temps. TD, tube digestif ; LC, liquide cœlomique ; CC, cellules cœlomiques ; Tg, reste du corps (téguments et muscles)

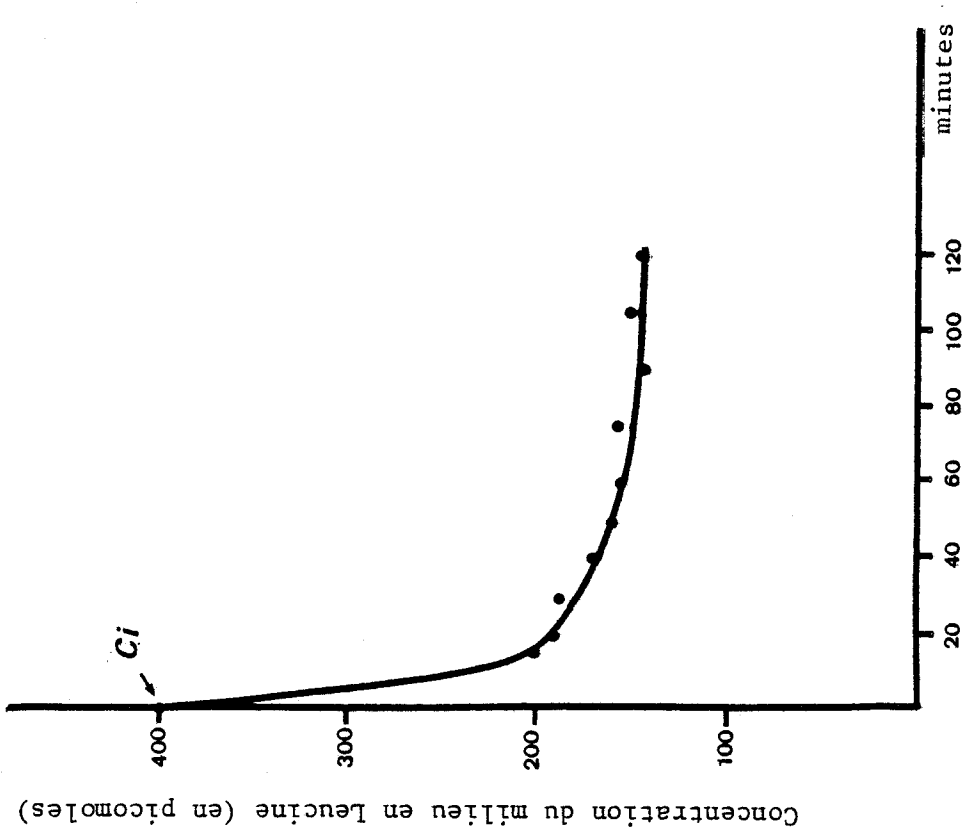


Figure e - Comportement *in vitro* des cellules cœlomiques mâles vis-à-vis de la leucine. Variations, en présence de cellules cœlomiques mâles, de la concentration en leucine-³H dans l'eau de mer, en fonction du temps. *Ci*, concentration initiale du milieu.

4 - Bilan de distribution de la radioactivité

Pour cette étude nous avons utilisé une solution de leucine-³H (40 µCi/ml d'eau de mer). La dose administrée est fonction du poids du Ver (1,6 µCi/g de Ver).

Des individus mâles ont été utilisés. La solution de leucine est administrée dans la cavité du tube digestif comme précédemment décrit. Au bout de 2 heures et de 24 heures, les animaux sont disséqués dans une boîte de Pétri contenant un peu d'eau de mer. Le tube digestif est isolé en entier, lavé et placé dans un tube. Le reste du corps (téguments, muscles...) est bien lavé également et placé dans un tube. Le milieu de lavage du tube digestif et de la paroi du corps contient une fraction de liquide cœlomique et de cellules cœlomiques. Il est ajouté au milieu de dissection et le tout est centrifugé à 3 000 t/min pendant 10 minutes. Ainsi on procède à la séparation des cellules cœlomiques et du liquide cœlomique qui se retrouve dans le surnageant avec l'eau de mer.

Les différents compartiments séparés sont homogénéisés et leur radioactivité totale déterminée.

Les résultats (fig. d) montrent qu'au bout de 2 heures, 45 % de la radioactivité apparaît au niveau des cellules cœlomiques alors que le liquide cœlomique ne contient que 19 % de la radioactivité totale, le reste étant localisé essentiellement au niveau des téguments (épiderme, muscles...).

Après 24 heures cette répartition est modifiée. Une chute très nette est observée dans les compartiments cœlomiques (cellules cœlomiques et liquide cœlomique). En même temps une augmentation importante apparaît dans les téguments alors que le tube digestif montre une valeur faible et se maintient à un niveau assez bas.

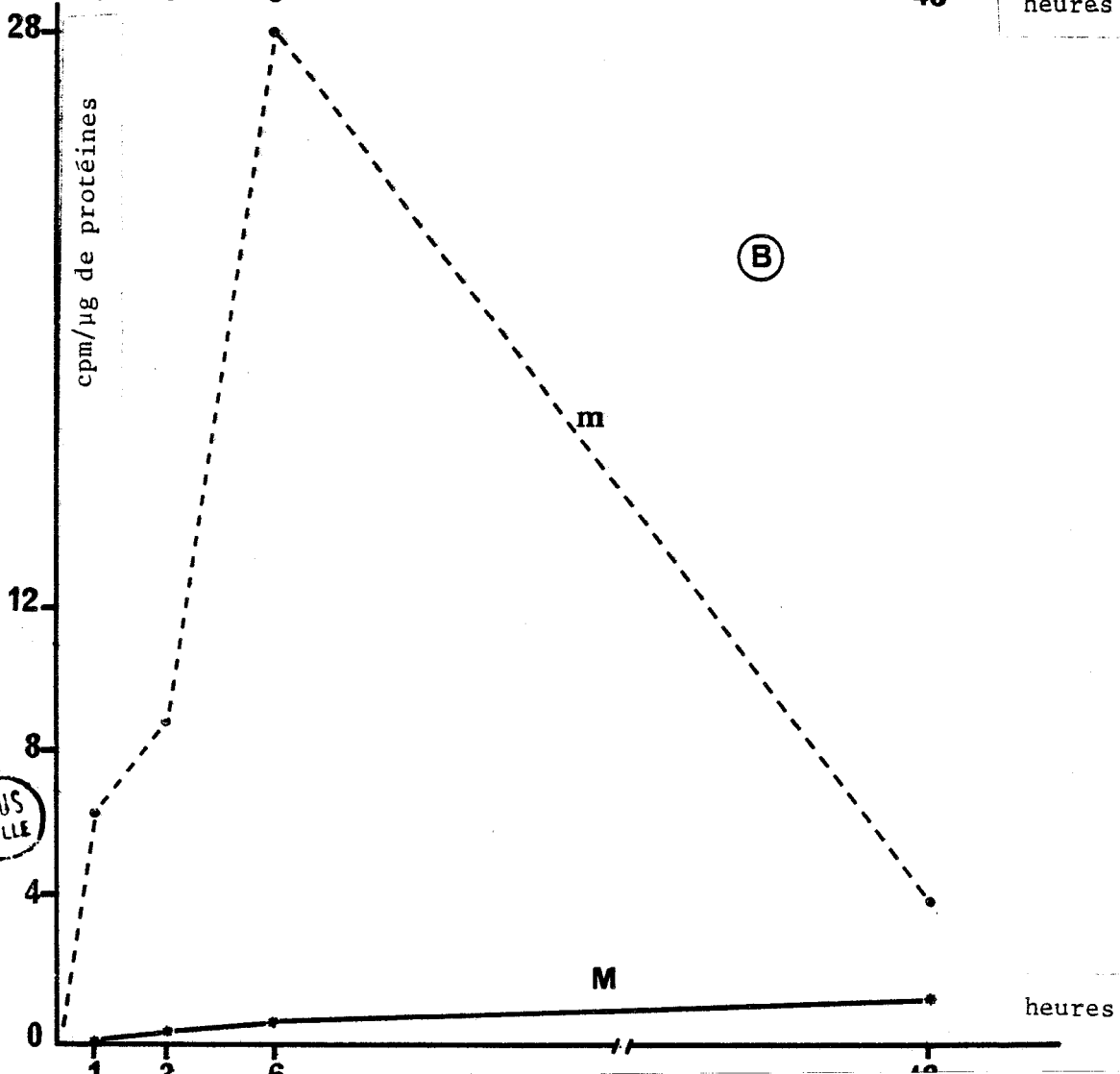
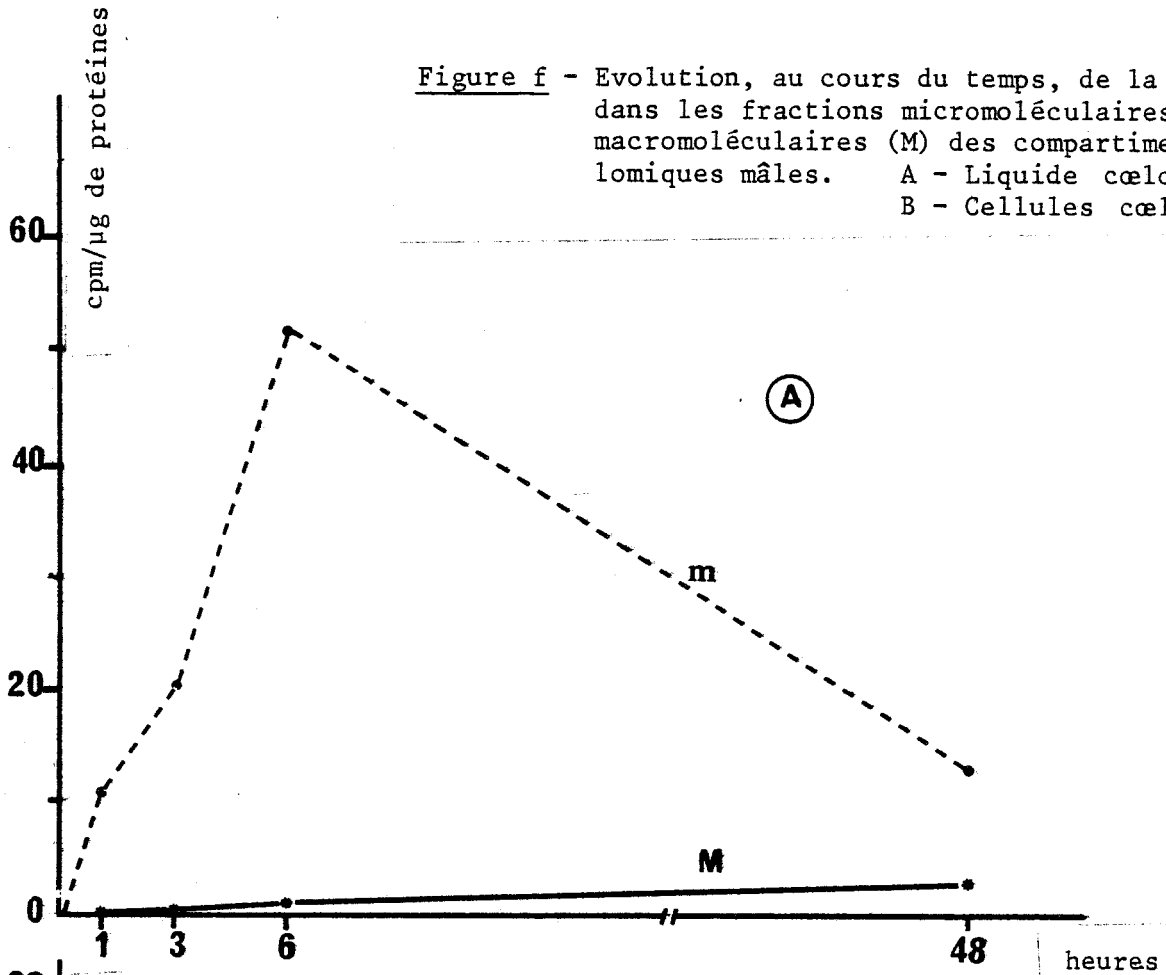
Ces résultats peuvent s'interpréter de la façon suivante, si l'on tient compte uniquement de la radioactivité totale répartie au niveau des différents compartiments:

Les cellules cœlomiques semblent capter rapidement et massivement la leucine provenant du tube digestif qu'elles redistribueraient secondairement aux autres compartiments pour leurs synthèses. Le liquide cœlomique, dans ce système, se comporterait comme un milieu de transit.

Il semblerait également que la répartition de la radioactivité initialement (2 heures) soit proportionnelle au volume relatif des différents compartiments.

Le comportement particulier des cellules cœlomiques a été étudié ensuite *in vitro*, afin de vérifier les résultats précédents.

Figure f - Evolution, au cours du temps, de la leucine dans les fractions micromoléculaires (m) et macromoléculaires (M) des compartiments cœlomiques mâles. A - Liquide cœlomique B - Cellules cœlomiques



BUS LILLE

5 - Comportement des cellules cœlomiques (cœlomocytes o) vis-à-vis de la leucine

Des cellules cœlomiques d'individus mâles, sont placées dans une solution de leucine-³H à 20 µCi/ml d'eau de mer filtrée sur "millipore". La disparition de la radioactivité dans l'eau de mer est déterminée en fonction du temps.

Les résultats sont représentés sur la figure (e). La concentration du milieu est exprimée en pico-moles de leucine, déduite à partir de l'activité spécifique de la leucine-³H (50 Ci/mM) et de la radioactivité du milieu. La concentration initiale du milieu est de 400 picomoles/ml d'eau de mer.

Les résultats montrent que la concentration du milieu en leucine diminue rapidement au bout de 15 minutes et se stabilise à environ 140 p-moles au bout de 2 heures.

Cette distribution de la leucine entre les cellules cœlomiques et le milieu externe n'obéit pas à un équilibre de diffusion, puisque ces cellules maintiennent leur concentration à un niveau plus élevé que celui du milieu externe.

Les résultats indiquent également que les cellules cœlomiques se comportent de la même façon *in vitro* qu'*in vivo*, et semblent, de ce fait, constituer un site de stockage et de distribution d'éléments essentiels et ceci en fonction de l'appel des compartiments voisins.

6 - Evolution de la leucine dans les compartiments voisins

Cette expérience a été réalisée dans le but de suivre la destinée de la leucine dans les compartiments cœlomiques, après son passage à travers la paroi intestinale.

Pour cela nous avons utilisé une solution de leucine-³H (40 µCi/ml d'eau de mer). La quantité administrée dans la cavité du tube digestif est fonction du poids des vers (1,6 µCi/mg de ver).

A des intervalles de temps variables de 1, 3, 6 et 48 heures, une ponction du milieu cœlomique est effectuée. Les cellules cœlomiques sont séparées du liquide cœlomique par centrifugation (3 000 t/min pendant 10 minutes). Les cellules sont ensuite homogénéisées dans l'eau distillée. L'homogénat des cellules cœlomiques et le liquide cœlomique sont précipités à l'ATCA 10 % en volume final. La radioactivité est alors dosée dans les fractions micro- et macromoléculaires, correspondant aux fractions acido-solubles et acido-précipitables respectivement. Les résultats sont reportés sur les courbes de la figure (f), et sont exprimés en cpm/µg de protéines totales de chaque compartiment.

Dans ces deux compartiments, l'évolution de la radioactivité montre sensiblement le même profil.

L'élévation des courbes des fractions micromoléculaires entre 0 et 6 h traduit la sortie du précurseur vers le milieu cœlomique. Au delà de 6 heures la diminution de la radioactivité dans les fractions micromoléculaires est accompagnée de son apparition progressive au niveau des fractions macromoléculaires. Cette diminution correspond, en grande partie, à l'utilisation du précurseur par les cellules cœlomiques pour leurs synthèses protéiques, d'une part, et au transfert d'une partie du précurseur aux autres compartiments d'autre part.

En général, il est très difficile d'envisager des synthèses dans un milieu acellulaire et il semble donc que les protéines du liquide cœlomique, nouvellement synthétisées, soient probablement élaborées par les cellules cœlomiques.

Il semble donc que les cellules cœlomiques, et probablement les cœlomocytes, soient impliquées dans les synthèses de certaines protéines du liquide cœlomique. Ces protéines se localisent dans la fraction I du liquide cœlomique (DHAINAUT *et al.*, 1980 ; PORCHET, 1983).

CONCLUSION

Les produits de la digestion des protéines sont assimilés par l'intestin et sont libérés dans le milieu cœlomique sous forme d'acides aminés. Le liquide cœlomique sert de milieu d'échange par lequel transitent les acides aminés vers les autres compartiments.

Dans ce processus les cœlomocytes jouent un double rôle : ils semblent capables d'accumuler les acides aminés et de les transférer vers les autres compartiments.

D'autre part, ils possèdent un métabolisme protéique propre qui apparaît plus tardivement que la charge en acides aminés. Une partie des protéines synthétisées est alors transférée dans le liquide cœlomique.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Le tube digestif de *Perinereis cultrifera* se différencie en plusieurs régions, anatomiquement bien individualisées. Il comprend, une trompe munie de mâchoires, suivie d'un court oesophage portant une paire de *caeca*, auquel fait suite un estomac glandulaire et musculéux. Ce dernier est suivi de l'intestin qui se termine par un court rectum ouvert par un anus.

L'estomac présente deux types cellulaires : des cellules glandulaires muqueuses et des cellules glandulaires séreuses. Ces dernières semblent être responsables de la production des enzymes protéolytiques.

Cette activité protéolytique est absente au niveau de l'intestin qui est totalement dépourvu de cellules glandulaires séreuses.

L'ultrastructure de l'épithélium intestinal montre que celui-ci est constitué d'une seule couche de cellules, reposant sur une lame basale. Cet épithélium apparaît constitué essentiellement de deux types cellulaires :

- Les cellules glandulaires muqueuses :

elles sont plus fréquentes dans la région intestinale postérieure et diffèrent de celles de l'estomac par la structure fibrillaire de leur produit de sécrétion. Leur forme, rétrécies à l'apex et renflées à la base, et leurs microvillosités, peu nombreuses et de taille réduite, les différencient nettement des cellules intestinales voisines.

- Les entérocytes :

ce sont des cellules de forme régulière adhérentes à la lame basale et s'étendant jusqu'à la lumière intestinale. Leur apex est constitué de nombreuses microvillosités.

Ces cellules se caractérisent par la présence, dans leur cytoplasme apical, de formations apicales denses, disposées régulièrement au contact de la membrane apicale. Ces organites ne constituent pas un prolongement des racines ciliaires des microvillosités et leur rôle physiologique n'est pas encore déterminé.

L'intestin, comme l'estomac, présente une innervation intraépithéliale constituée d'un ensemble d'axones issus de cellules neurosécrétrices localisées à la base de l'épithélium. Ces cellules neurosécrétrices sont de deux types et diffèrent essentiellement par la taille et la structure des granules de sécrétion qu'elles renferment.

La présence de contacts synaptiques, au niveau de la lame basale et entre les deux types d'axones, montre l'importance d'une innervation susceptible d'intervenir sur le tube digestif selon plusieurs modalités physiologiques.

Les cellules voisines de l'épithélium intestinal sont liées entre elles par un système de jonctions diversifiées.

A l'apex, les membranes latérales sont liées par une *zonula adherens* suivie d'une jonction septée plissée interrompue, par endroit, par des desmosomes. Dans la zone moyenne de l'épithélium, quelques jonctions "gap" sont observées au contact des membranes latérales de cellules voisines. Les jonctions de type "serré" ou "tight-junction" sont absentes.

Dans ce système jonctionnel, les jonctions septées semblent jouer le rôle des "tight-junctions" des Vertébrés et constitueraient ainsi une barrière de perméabilité intercellulaire. Les jonctions "gap" pourraient jouer un rôle dans les échanges ioniques entre les cellules.

Les cellules intestinales de *Perinereis cultrifera* synthétisent des glycoprotéines et des protéines. Le matériel glycoprotéique élaboré par les entérocytes est destiné à la formation du "cell-coat". Les cellules glandulaires muqueuses possèdent un métabolisme de synthèse plus rapide que celui des entérocytes. Les sécrétions muqueuses de ces cellules, sont libérées dans la lumière intestinale et peuvent jouer un rôle dans la lubrification des aliments et dans la protection de l'épithélium contre les facteurs abrasifs.

Chez les Annélides Polychètes les processus de digestion extracellulaire sont bien connus.

Nous avons démontré, chez *Perinereis cultrifera*, l'existence d'un processus de digestion intracellulaire. En effet, les entérocytes de l'intestin sont capables d'absorber des protéines exogènes. Ces protéines sont absorbées par pinocytose et sont véhiculées vers des sites de digestion intracellulaires où elles subissent une dégradation sous l'action d'enzymes hydrolytiques. Dans les conditions naturelles ces macromolécules pourraient se trouver normalement dans la cavité du tube digestif ou provenir d'une digestion extracellulaire incomplète.

Nous avons également démontré, par ingestion de protéines radioactives et d'acides aminés, les modalités d'assimilation et la relation entre les produits de l'assimilation et les synthèses du milieu cœlomique. Les produits de la digestion des protéines sont assimilés par l'intestin et sont libérés dans la cavité cœlomique sous forme d'acides aminés. Ces acides aminés transitent vers les autres compartiments par le liquide cœlomique. Les cœlomocytes semblent capables d'accumuler les acides aminés et de les transférer vers les compartiments voisins (gamètes, téguments...). Ils sont également capables d'utiliser des acides aminés pour synthétiser des protéines dont une partie est alors transférée vers le liquide cœlomique.

Au moment de l'épitoquie, l'intestin entre en régression naturelle et subit d'importantes transformations morphologiques et biochimiques. Les cellules entrent en dégénérescence. Elles se caractérisent alors par une abondance de formations lysosomiales. Certains organites cytoplasmiques sont séquestrés dans des structures lytiques riches en phosphatase acide. Les cellules affectées par ces phénomènes dégénératifs perdent leurs microvillosités et font hernie dans la lumière intestinale où elles sont rejetées. Les formations apicales denses disparaissent du cytoplasme apical. En même temps les noyaux prennent un aspect pycnotique.

Expérimentalement, la suppression du cerveau induit les mêmes phénomènes au niveau de l'intestin. Les teneurs de l'intestin en enzymes hydrolytiques augmentent considérablement et corrélativement à la baisse du taux de l'hormone cérébrale.

La dégénérescence cellulaire s'accompagne également d'un arrêt du renouvellement des cellules épithéliales. Ce processus est indépendant de l'action du jeûne. Il est déclenché par suppression du facteur endocrine cérébral qui apparaît donc exercer un contrôle sur la structure et la physiologie du tube digestif de *Perinereis cultrifera*.

BIBLIOGRAPHIE

- AHEARN, G.A. et GOMME, J., 1975 - Transport of exogenous D-glucose by the integument of a Polychaete worm (*Nereis diversicolor* Müller). J. Exp. Biol., 62 : 243-264.
- AFZELIUS, B.A. et ROSEN, B., 1965 - Nutritive phagocytosis in animal cells. An electron microscopical study of the gastroderm of hydroïd *Clava squamulata* Müller. Z. Zellforsch., 67 : 24-33.
- ANDRIES, J.-C., 1975 - Différenciation et mort cellulaires au cours de la métamorphose mésentérique de la larve d'*Aeshna cyanea*. J. Microscopie, 24 : 327-350.
- ANDRIES, J.-C., 1976a - Variations ultrastructurales au sein des cellules épithéliales mésentériques d'*Aeshna cyanea* (Insecte, Odonate) en fonction de la prise de nourriture. Cytobiologie, 13 : 451-468.
- ANDRIES, J.-C., 1976b - Présence de deux types cellulaires endocrines et d'un type exocrine au sein du mésentéron de la larve d'*Aeshna cyanea* Müller (ODONATA : AESHNIDAE). Int. J. Insect Morphol. Embryol., 5 (6) : 393-407.
- ANDRIES, J.-C., 1977 - Dégénérescence, phagocytose et rejet cellulaire au niveau du mésentéron d'*Aeshna cyanea* (Insecte, Odonate). Biol. cellulaire, 29 : 203-208.
- BAMFORD, D.R. et STEWART, M.G., 1973a - Absorption of neutral Amino Acids by the Gut of *Arenicola marina*. J. comp. Physiol., 82 : 291-304.
- BAMFORD, D.R. et STEWART, M.G., 1973b - Absorption of charged amino acids by the intestine of *Arenicola marina*. Comp. Biochem. Physiol., 46 A : 537-547.
- BANTZ, M. et MICHEL, C., 1971 - Revêtement cuticulaire de la gaine de la trompe chez *Glycera convoluta* Keferstein (Annélide Polychète). Histochimie et ultrastructure. Z. Zellforsch., 118 : 221-242.
- BASKIN, D.G., 1971 - The fine structure of neuroglia in the central nervous system of nereid polychaetes. Z. Zellforsch., 119 : 295-308.
- BASKIN, D.G., 1976 - The fine structure of Polychaete Septate junctions. Cell Tiss. Res., 174 : 55-67.

- BASS, N., CHAPMAN, G. et CHAPMAN, J.H., 1969 - Uptake of Leucine by larvae and adults of *Nereis*. *Nature*, 221 : 476-477.
- BEKESI, J.G. et WINZLER, R.J., 1967 - The metabolism of Plasma Glycoproteins. *J. Biol. Chem.*, 242 : 3873-3879.
- BENNET, G., 1970 - Migration of glycoprotein from Golgi apparatus to cell coat in the columnar cells of the duodenal epithelium. *J. Cell Biol.*, 45 : 668-673.
- BENNET, G. et LEBLOND, C.P., 1970 - Formation of cell coat material for the whole surface of columnar cells in the Rat small intestine. *J. Cell Biol.*, 46 : 409-415.
- BENNET, G. et LEBLOND, C.P., 1971 - Passage of Fucose-³H label from the Golgi apparatus into dense and multivesicular bodies in the duodenal columnar cells and hepatocytes of the Rat. *J. Cell Biol.*, 51 : 875-881.
- BERTOUT, M., 1976 - Spermatogenèse de *Nereis diversicolor* Müller (Annélide Polychète). I. Evolution du cytoplasme et élaboration de l'acrosome. *J. Microsc. Biol. Cell.*, 25 : 88.
- BOILLY, B., 1967 - Contribution à l'étude ultrastructurale de la cuticule épidermique et pharyngienne chez une Annélide Polychète (*Syllis amica* Quatrefages). *J. Microsc.*, 6 : 469-484.
- BOILLY, B., 1970 - Présence de collagène dans le proventricule des Syllidiens (Annélides Polychètes). *Z. Zellforsch.*, 103 : 265-281.
- BRASIL, L., 1904 - Contribution à la connaissance de l'appareil digestif des Annélides Polychètes. L'épithélium intestinal de la Pectinaire. *Arch. Zool. exp. gén.*, Sér. 4, 2 : 91-255.
- BURIGHEL, P., 1979 - Peroxidase absorption in the ascidian gut. *J. Exp. Zool.*, 207 : 131-142.
- COFFEY, J.W., MILLER, O.N. et SELINGER, O.Z., 1964 - The metabolism of L-fucose in the Rat. *J. Biol. Chem.*, 239 : 4011-4017.
- CUNNINGHAM, L., 1967 - Histochemical observations of the enzymatic hydrolysis of gelatin films. *J. Histochem. Cytochem.*, 15 : 292-298.
- DALLAI, R., 1970 - Glycoproteins in the *Zonula continua* of the epithelium of the midgut in an Insect. *J. Microsc.*, 9 : 277-280.
- DE VILLEZ, E.J. et REID, R.M., 1971 - Comparative properties of Polychaete Trypsin. *Comp. Biochem. Physiol.*, 38 B : 235-238.
- DHAINAUT, A. et PORCHET, M., 1977a - Evolution des constituants glucidiques de l'ovocyte de *Perinereis cultrifera* (Annélide Polychète) dans les conditions naturelles. II. Etude autoradiographique des ovocytes jeunes. *Biol. Cellulaire*, 28 (3) : 233-240.

- DHAINAUT, A. et PORCHET, M., 1977b - Evolution des constituants glucidiques de l'ovocyte de *Perinereis cultrifera* (Annélide Polychète) dans les conditions naturelles. III. Etude autoradiographique des ovocytes sub-matures. Biol. Cellulaire, 28 (3) : 241-250.
- DHAINAUT, A., PORCHET, M. et FONTAINE, F., 1980 - Identité immunologique et métabolique entre le liquide cœlomique, les cœlomocytes et les ovocytes de *Perinereis cultrifera* (Annélide Polychète). Int. J. Invert. Reprod., 2 : 285-296.
- DUSTIN, P.J., 1972 - Microtubules et microfilaments : leur rôle dans la dynamique cellulaire. Arch. Biol. (Liège), 83 : 419-480.
- FISKE, C.H. et SUBBAROW, Y., 1925 - J. Biol. Biochem., 66 : 375-380.
- FLEISCHER, B., FLEISCHER, S. et OZAWA, H., 1969 - Isolation and characterization of Golgi membranes from Bovine liver. J. Cell Biol., 43 : 59-78.
- FULLIVOLE, S.L. et JACOBSON, A.G., 1971 - Nuclear elongation and cytokinesis in *Drosophila montana*. Develop. Biol., 26 : 560.
- GEIGER, P.J. et BESSMAN, S.P., 1972 - Protein determination by Lowry's method in the presence of Sulfhydryl Reagents. Analyt. Biochem., 49 : 467-473.
- GILES, K.W. et MYERS, A., 1965 - An improved Diphenylamine method for the estimation of Deoxyribonucleic Acid. Nature, 206 : 93.
- GOMME, J., 1981a - D-Glucose transport across the apical membrane of the surface epithelium in *Nereis diversicolor*. J. Membrane Biol., 62 : 29-46.
- GOMME, J., 1981b - Recycling D-glucose in collagenous cuticle : A means of nutrient conservation ? J. Membrane Biol., 62 : 47-52.
- GRAHAM, R.C. et KARNOVSKY, M.J., 1966 - The early stages of absorption in injected horseradish peroxidase in the proximal tubules of the mouse kidney : Ultrastructural cytochemistry by a new technique. J. Histochem. Cytochem., 14 : 291-302.
- HORRDIGE, G.A., 1969 - Statocysts of medusae and evolution of stereocilia. Tissue and Cell., 1, 341-353.
- HOUDRY, J. et DAUCA, M., 1977 - Cytological and Cytochemical changes in the intestinal epithelium during Anuran metamorphosis. Int. Rev. Cytol., Suppl. 5 : 337-382.
- HUGON, J.S., 1970 - Ultrastructural differentiation and enzymatic localization of phosphatases in the developing duodenal epithelium of the Mouse. II. The Newborn Mouse. Histochemie, 22 : 109-124.

- JØRGENSEN, N.O.G., 1979 - Uptake of L-valine and other amino acids by the Polychaete *Nereis virens*. *Marine Biology*, 52 : 45-52.
- KAY, D.G., 1974 - The distribution of the digestive enzymes in the gut of the Polychaete *Neanthes virens* (Sars). *Comp. Biochem. Physiol.*, 47 A : 573-582.
- KERMACK, D.M., 1955 - The anatomy and physiology of the gut of the Polychaete *Arenicola marina* (L.). *Proc. Zool. Soc. London*, 125 : 347-381.
- KIMURA, S. et TANZER, M.L., 1977 - *Nereis* cuticle collagen : Isolation and characterization of two distinct subunits. *Biochemistry*, 16 (11) : 2554-2559.
- KRAEHNBUHL, J.P., GLOOR, E. et BLANC; B., 1967 - Résorption intestinale de la ferritine chez deux espèces animales aux possibilités d'absorption protéique néonatales différentes. *Z. Zellforsch. Mikr. Anat., Abt. Histochem.*, 76 : 170-186.
- LARRA, F. et DROZ, B., 1970 - Techniques autoradiographiques et leur application à l'étude du renouvellement des constituants cellulaires. *J. Microsc.*, 9 : 845-880.
- LENTZ, T.L. et BARNNETT, R.J., 1965 - Surface specialization of hydra cells : The effect of enzyme inhibitors on ferritine uptake. *J. Ultrastruct. Res.*, 13 : 192-211.
- LEWIS, D.B. et WHITNEY, P.J., 1968 - Cellulase in *Nereis virens*. *Nature*, 220 = 603-604.
- LOCKE, M., 1965 - The structure of Septate desmosomes. *J. Cell Biol.*, 25 : 166-169.
- LONGBOTTOM, M.R., 1970 - Distribution of the digestive enzymes in the gut of *Arenicola marina*. *J. Mar. Biol. Ass.U.K.*, 50 : 121-128.
- MARSDEN, J.R., 1963 - A preliminary report on digestive enzymes of *Hermodice carunculata*. *Can. J. Zool.*, 41 : 159-164.
- MARSDEN, J.R., 1966 - The coelomocytes of *Hermodice carunculata* (Polychaeta : Amphinomidae) in relation to digestion and excretion. *Can. J. Zool.*, 44 : 377-389.
- MARSDEN, J.R., 1968 - The digestion and storage of fat by the amphinomid polychaete *Hermodice carunculata*. *Can. J. Zool.*, 46 : 615-617.
- MICHAELS, J.E. et LEBLOND, C.P., 1976 - Transport of glycoprotein from Golgi apparatus to cell surface by means of "Carrier" vesicles, as shown by radioautography of Mouse colonic epithelium after injection of ³H-fucose. *J. Micr. Biol. Cell.*, 25 : 243-246.

- MICHEL, C., 1968 - Enzymes digestives de la trompe d'*Eulalia viridis* (Müller) (*Phyllodocidae*) et de *Glycera convoluta* (Keferstein) (*Glyceridae*) Annélides Polychètes Errantes. Ann. Histochem., 13 : 123-134.
- MICHEL, C., 1969a - Enzymes digestives intestinales d'*Eulalia viridis* (Müller) (*Phyllodocidae*) et de *Glycera convoluta* (Keferstein) (*Glyceridae*) Annélides Polychètes Errantes. Ann. Histochem., 14 : 67-78.
- MICHEL, C., 1969b - Ultrastructure et histochimie de la cuticule pharyngienne chez *Eulalia viridis* Müller (Annélide Polychète Errante, *Phyllodoctidae*). Etude de ses rapports avec l'épithélium sous-jacent dans le cycle digestif. Z. Zellforsch., 98 : 54-73.
- MICHEL, C., 1970a - Caractérisation des enzymes protéolytiques sécrétées par les cellules glandulaires intestinales chez deux Annélides Polychètes Errantes. Ann. Histochem., 15 : 19-24.
- MICHEL, C., 1970b - Rôle physiologique de la trompe chez quatre Annélides Polychètes appartenant aux genres : *Eulalia*, *Phyllodoce*, *Glycera*, et *Notomastus*. Cah. Biol. Mar., 11 : 209-226.
- MICHEL, C., 1972a - Etude ultrastructurale et histochimique des papilles de la gaine de la trompe de *Notomastus latericeus* Sars (Annélide Polychète Sédentaire). Z. Zellforsch., 128 : 482-503.
- MICHEL, C., 1972b - Données biochimiques sur la sécrétion de trypsine dans le pharynx de deux Annélides Polychètes. Ann. Histochem., 17 : 243-249.
- MICHEL, C., 1977 - Tissular localization of the digestive proteases in the Sedentary Polychaetous Annelid *Sabellaria alveolata*. Marine Biol., 44 : 265-273.
- MICHEL, C., 1978 - Etude histologique, histochimique et cytologique du stomodeum chez le Polychète Sédentaire, *Audouinia tentaculata* (Montagu). Cah. Biol. Mar., XIX : 433-446.
- MICHEL, C. et IMHOFF, J.-M., 1975 - Localization and biochemical characterization of Pharyngeal protease in the Polychaetous Annelid *Glycera convoluta*. Marine Biol., 32 : 343-347.
- MICHEL, C. et DE VILLEZ, E.J., 1978 - In "Physiology of Annelids", Chp. Digestion, pp. : 509-541.
- MICHEL, C. et DE VILLEZ, E.J., 1979 - Secretion of trypsin in the oesophagus of *Nereis virens* Sars (Polychaeta : Errantia). A biochemical and histological study. Biol. Bull., 156 : 224-233.
- MICHEL, C. et DE VILLEZ, E.J., 1980 - Cuticle and mucous glands in the oesophagus of an Annelid (*Nereis virens*). Tissue and Cell., 12 (4) : 673-683.
- MILLER, F. et PALADE, G.E., 1964 - Lytic activities in renal protein absorption droplets. An electron microscopical cytochemical study. J. Cell Biol., 23 : 519-552.

- MÜLLER, M., 1967 - In "Chemical Zoology". Vol. I : Protozoa, Chp. Digestion, pp. : 351-376.
- NOAILLAC-DEPEYRE, J. et GAS, N., 1973 - Absorption of protein molecules by the enterocytes of the carp (*Cyprinus carpio* L.). Z. Zellforsch., 146 : 525-541.
- NOIROT, C. et NOIROT-TIMOTHEE, C., 1967 - Un nouveau type de jonction cellulaire (*zonula continua*) dans l'intestin moyen des Insectes. C. R. Acad. Sci., Paris, 264 : 2796-2798.
- NOIROT, C. et NOIROT-TIMOTHEE, C., 1972 - Structure fine de la bordure en brosse de l'intestin moyen chez les Insectes. J. Microsc., 13 : 85-96.
- NOIROT-TIMOTHEE, C. et NOIROT, C., 1973 - Jonctions et contacts intercellulaires chez les Insectes. I. Les jonctions septées. J. Microsc., 17 : 169-184.
- NOIROT-TIMOTHEE, C. et NOIROT, C., 1980 - Septate and scalariform junctions in Arthropods. Int. Rev. Cytol., 63 : 79-140.
- NØRREVANG, A. et WINGSTRAND, K.G., 1970 - On the occurrence and structure of choanocytes-like cells in some echinoderms. Acta Zool., 51 : 249-270.
- PELLETIER, G. et PUVIANI, R., 1973 - Detection of glycoproteins and radioautographic localization of ³H-Fucose in thyroidectomy cells of Rat anterior pituitary gland. J. Cell Biol., 56 : 600-605.
- PORCHET, M., 1983 - Biochemistry of oocyte differentiation in Nereids. Coll. Reproduction Annélides, Helgoland (Elsevier eds, sous presse).
- PURCHON, D.R., 1968 - In "Biology of the Mollusca", Chp. Digestion, pp. : 207-263.
- REYNOLDS, E.S., 1963 - The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. J. Cell Biol., 142 : 310-325.
- RIDDIFORD, L.M., 1972 - Juvenile hormone in relation to the larval pupal transformation of the cecropia silkworm. Biol. Bull., 142 : 310-325.
- RIEGER, R.M., 1981 - Fine structure of the Body Wall, Nervous system, and digestive tract in the *Lobatocerebridae* Rieger and the organization of the gliointerstitial system in Annelida. J. Morphol., 167 : 139-165.
- SCHEER, B.T., 1948 - "Comparative Physiology", Wiley, New-York.
- SCHMIDT, I., 1970 - Phagocytose et pinocytose chez les *Spongillidae*. Etude *in vivo* de l'ingestion de bactéries et de protéines marquées à l'aide d'un colorant fluorescent en lumière ultra-violette. Z. Vergl. Physiol., 66 : 398-420.

- SEHNAL, F., 1968 - Influence of the *corpus allatum* on the development of internal organs in *Galleria mellonella* L., J. Insect Physiol., 14 : 73-85.
- SELIGMANN, A.M., HANKER, J.D., WASSERKRUG, M., DMOCHOWSHY, H.M. et KATZOFF, L., 1965 - Histochemical demonstration of some oxidized macromolecules with thio-carbohydrazide (TCH) ou thiosemicarbazide (TSC) and osmium tetroxide. J. Histochem. Cytochem., 13 : 629-639.
- SOCHA, R. et SEHNAL, F., 1972 - Inhibition of Adult development in *Tenebrio molitor* by insect hormones and antibiotics. J. Insect Physiol., 18 : 317-337.
- STAEHELIN, L.A., 1974 - Structure and function of intercellular junctions. Int. Rev. Cytol., 39 : 191-283.
- SUGIMOTO, K., ICHIKAWA, Y. et NAKAMURA, I., 1981 - Absorption of Protein molecules by the small intestine of the Bullfrog Tadpole, *Rana catesbeiana*. J. Exp. Zool., 215 : 53-62.
- TAYLOR, A.G., 1969 - The direct uptake of amino acids and other small molecules from sea water by *Nereis virens* Sars. Comp. Biochem. Physiol., 29 : 243-250.
- TEMPEL, D. et WESTHEIDE, W., 1980 - Uptake and incorporation of dissolved amino acids by interstitial Turbellaria and Polychaeta and their dependence on temperature and salinity. Mar. Ecol. Prog. Ser., 3 : 41-50.
- THIERY, J.-P., 1967 - Mise en évidence des polysaccharides sur coupes fines en microscopie électronique. J. Microsc., 6 : 987-1018.
- TILNEY, L.G., 1971 - Origin and continuity of microtubules. In : Origin and continuity of cell organelles. J. Reinert and H. Unsprung (eds), Springer-Verlag, Berlin, pp. : 222-260.
- TOKUYASU, K. et SCHERBAUM, O.H., 1965 - Ultrastructure of mucocysts and pellicle of *Tetrahymena priiformis*. J. Cell Biol., 27 : 67-80.
- VERNET, G., RUE, G. et GONTCHAROFF, M., 1979 - Etude par les techniques d'imprégnation au Lanthane et de cryofracture des jonctions septées de l'épithélium de la paroi du corps de *Lineus ruber* (Hétéronémerte). J. Ultrastruct. Res., 67 : 225-227.
- WATTIAUX, R. et DE DUVE, C., 1956 - Tissue fractionation studies. 7. Release of bound hydrolases by means of Triton X-100. Biochem. J., 63 : 606-608.
- WELSCH, U. et STORCH, V., 1970 - Histochemical and fine structural observations on the alimentary tract of *Aphroditidae* and *Nephtyidae* (Polychaeta Errantia). Mar. Biol., 6 (2) : 142-147.

- WHEELDON, L.W. et LEHNINGER, A.L., 1966 - Energy-linked synthesis and decay of membrane proteins in isolated Rat liver mitochondria. *Biochem.*, 5 : 3533.
- WHITE, R.H. et WALTHER, J.B., 1969 - The Leech photoreceptor cell : Ultrastructure of clefts connecting Phosome with extracellular space demonstrated by lanthanum deposition. *Z. Zellforsch.*, 95 : 102-108.
- WIENER, J., SPIRO, D. et LOEWENSTEIN, W.R., 1964 - Studies on an epithelial (Gland) cell-junction. II. Surface structure. *J. Cell Biol.*, 22 : 587-598.
- WOOD, R.L., 1959 - Intercellular attachment in the epithelium of *Hydra* as revealed by electron microscopy. *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, 6 : 343-352.
- WUNDERLICH, F., et SPETH, V., 1972 - Membranes in Tetrahymena. I. The cortical pattern. *J. Ultrastruct. Res.*, 41 : 258-268.
- YONGE, C.M., 1937 - *In* "Chemical Zoology", Vol. IV, Digestion, JEUNIAUX, C.H., 1969. *Biol. Rev.*, 12 : 87.

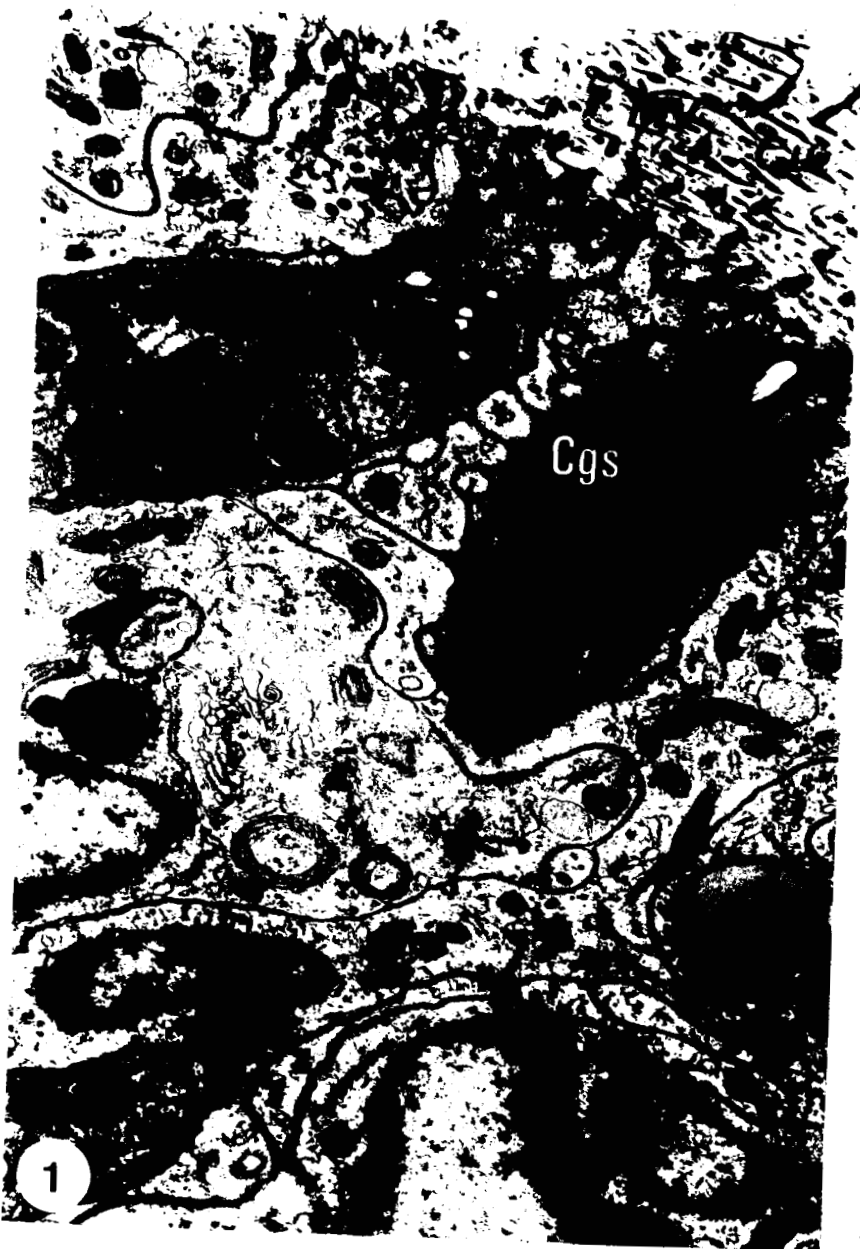
ANNEXE PLANCHES

ULTRASTRUCTURE DE L'EPITHELIUM DE L'ESTOMAC

Figure 1 - Vue générale de la région apicale de l'épithélium montrant les deux types de cellules glandulaires. L'épithélium est recouvert du côté de la lumière, par une épaisse cuticule (Cu) constituée d'un empilement de fibres, orientées selon deux directions perpendiculaires, et parallèles entre elles et à la surface apicale. La cuticule est traversée par les microvillosités (MV) des cellules sous-jacentes. Cgm : cellule glandulaire muqueuse à granules torsadés ; Cgs : cellule glandulaire séreuse ; m : mitochondries. X 20 000.

Figure 2 - Région moyenne d'une cellule glandulaire séreuse. Noter la richesse du cytoplasme en réticulum granulaire et en ribosomes libres. g : dictyosome ; gs : grain de sécrétion. X 30 000.

Figure 3 - Zone basale de l'estomac montrant la disposition des formations nerveuses (NF) au contact de la lame basale. Certains axones (Ax) présentent des figures synaptiques (têtes de flèches) au niveau de la lame basale (LB). Ces formations nerveuses sont entourées d'un système de gliosomes (gl) et de gliofilaments (gf). Mc : fibres musculaires circulaires. X 16 000.

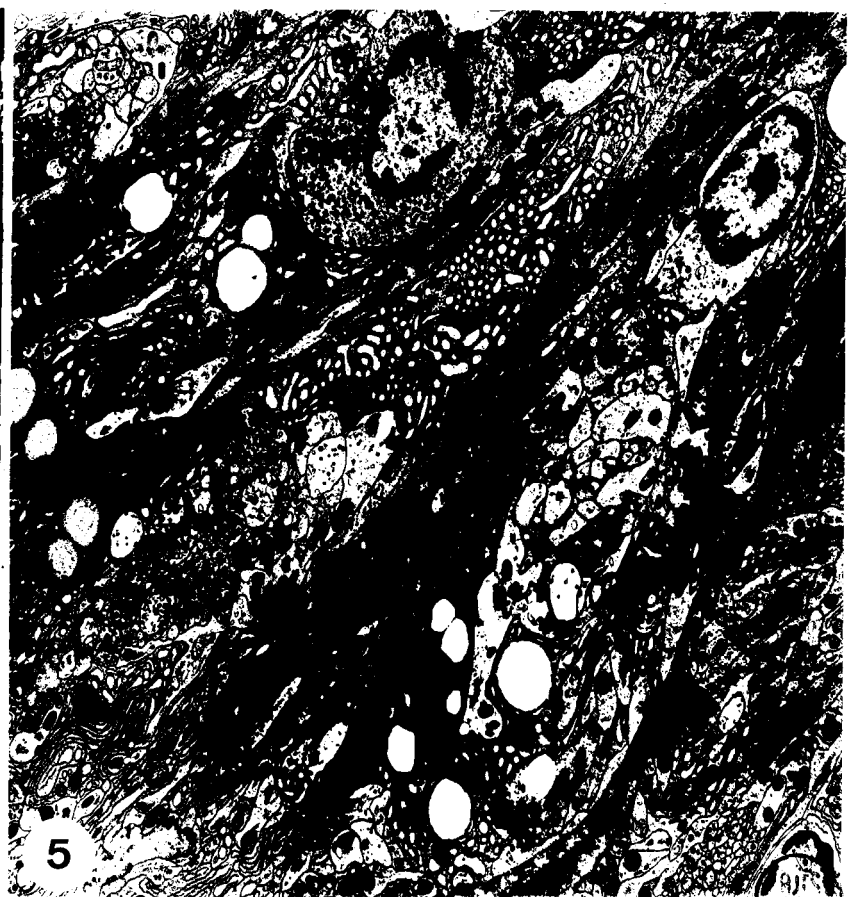


ULTRASTRUCTURE DE L'EPITHELIUM INTESTINAL

Figure 4 - Région apicale de l'épithélium intestinal montrant deux types cellulaires :
les entérocytes (Ent) caractérisés par des microvillosités (MV) nombreuses et par des formations apicales denses (fad). Les mitochondries (m) sont généralement orientées selon le grand axe cellulaire,
les cellules glandulaires muqueuses (cgm) se différencient des cellules voisines par leurs microvillosités, peu nombreuses et de taille réduite. L : lumière intestinale ; re : réticulum endoplasmique. X 13 000.

Figure 5 - Vue générale de la zone basale de l'épithélium montrant la disposition des formations nerveuses intraépithéliales.
CnsI : cellule neurosécrétrice de type I ; LB : lame basale. X 6 000.

Figure 6 - Formations nerveuses (NF) et cellules basales à granules (cbg) à la base de l'épithélium. L ; lipides, LB : lame basale ; m : mitochondries ; reg : réticulum endoplasmique granulaire. X 8 000.



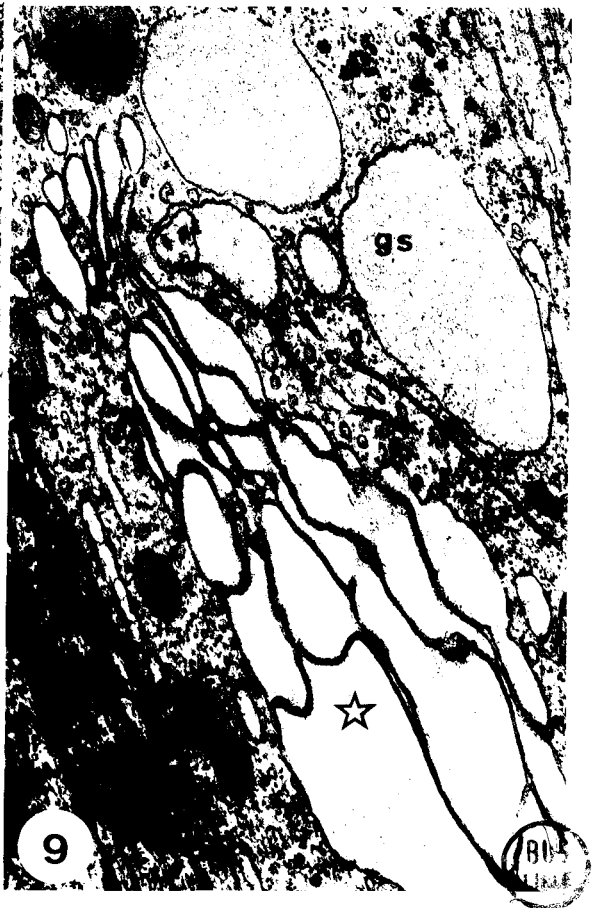
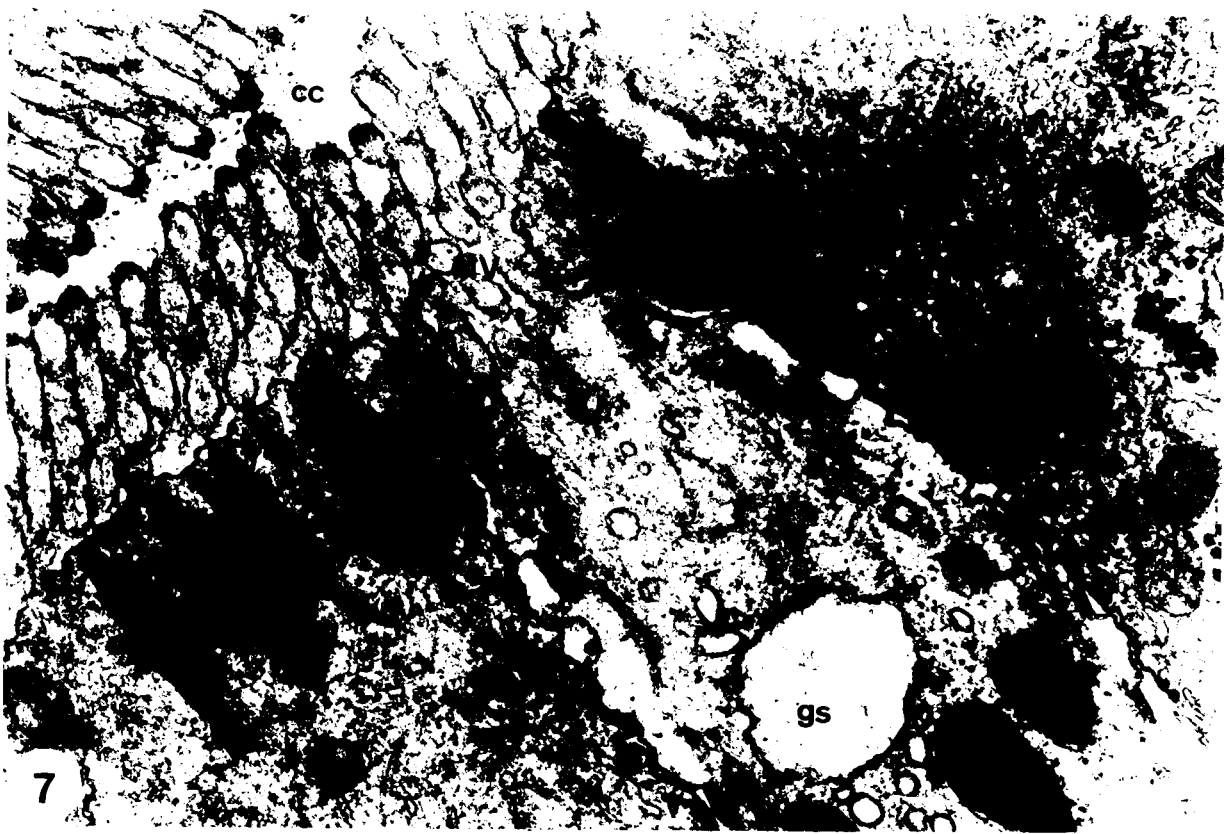
81
1968

DETAIL DES CELLULES GLANDULAIRES MUQUEUSES

Figure 7 - Région apicale d'une cellule glandulaire muqueuse.
Les microvillosités (MV) sont réduites et peu nombreuses.
Ces cellules présentent un "cell-coat" (cc) très développé.
fad : formations apicales denses ; gs : grain de sécrétion ;
za : *zonula adhaerens*. X 40 000.

Figures 8 et 9 - Dans la zone supranucléaire, l'appareil de Golgi (D)
montre souvent des saccules dilatés renfermant un matériel
fibrillaire de même nature que celui des grains de sécrétion
(astérisque). Le réticulum granulaire (reg), très abondant
dans les régions moyenne et basale de la cellule, est dispo-
sé parfois sous forme de saccules circulaires. gs : grains
de sécrétion.
Fig. 8 : X 40 000 ; Fig. 9 : X 28 000.





ULTRASTRUCTURE DE L'EPITHELIUM INTESTINAL

Figure 10 - Région apicale des entérocytes, montrant l'aspect ultrastructural du cytoplasme apical. Noter la disposition particulière des formations apicales denses (fad) à la base des microvillosités (MV) et au contact de la membrane apicale. M : mitochondries ; Rel : formations tubulaires du réticulum endoplasmique lisse ; rc : racines ciliaires des microvillosités ; VP : vésicule de pinocytose. X 54 000.

Figure 11 - Région moyenne de la cellule.
Les dictyosomes (D) sont localisés dans la région supranucléaire. Noter l'orientation des saccules golgiens dans le sens du prolongement cellulaire. FF : face de formation ; FM : face de maturation ; L : granule lipidique ; N : noyau. X 16 000.

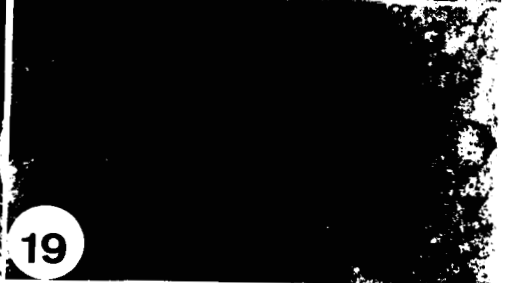
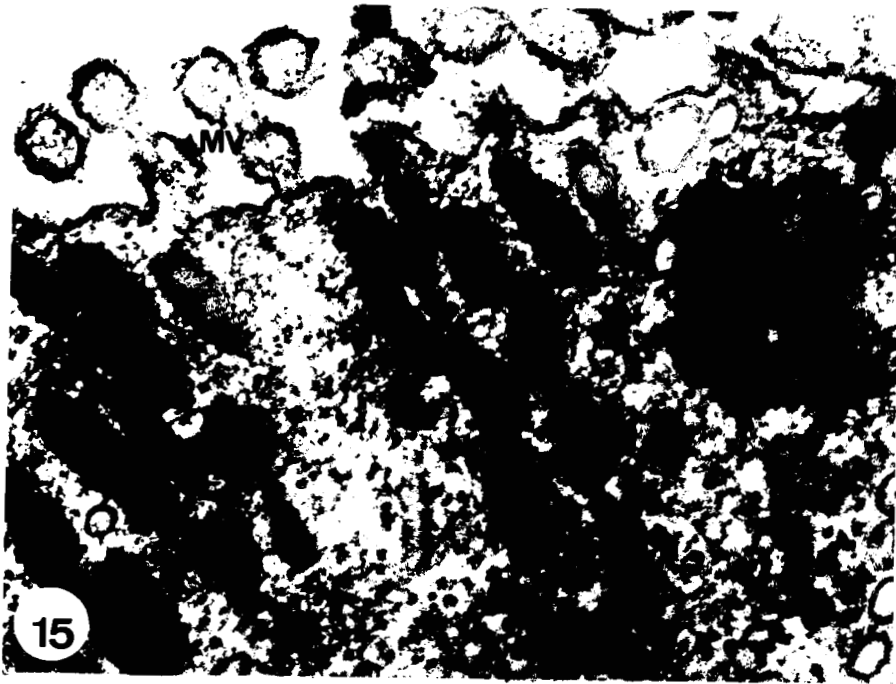
Figure 12 - Coupe transversale au niveau des microvillosités montrant un cil. X 86 000.

Figures 13 et 14 - Zone apicale d'une cellule ciliée.
C : cil ; cb : corpuscule basal ; js : jonction septée ; MV : microvillosité ; Pb : plaque basale ; za : *zonula adhaerens*.
Fig. 13 : X 51 000 ; Fig. 14 : X 45 000.



ULTRASTRUCTURE DE L'EPITHELIUM INTESTINAL

- Figure 15 - Aspect général des formations apicales denses (fad).
Noter la présence, au sein du matériel dense, de formations tubulaires (flèches). MV : microvillosités. X 80 000.
- Figure 16 - Vue générale de la région apicale des entérocytes (en cryofracture), montrant la disposition des formations apicales denses (fad). Remarquer la présence de tubérosités au niveau de ces structures (flèches simples). La double flèche indique la structure tubulaire interne. MV : microvillosités. X 40 000.
- Figure 17 - Vue de détail de l'apex des entérocytes.
La membrane apicale montre parfois des dépressions au contact de l'apex des formations apicales denses. Les petites flèches indiquent quelques rares particules intramembranaires au niveau des faces internes et externes des formations apicales denses. X 100 000.
- Figure 18 - Structure tubulaire interne des formations apicales denses (têtes de flèches). X 100 000.
- Figure 19 - Technique de THIERY (1967).
La réaction aux polysaccharides est faible au niveau des formations apicales denses. X 68 000.



L.B.L.M.C.

FORMATIONS NERVEUSES INTRAEPITHELIALES

Figure 20 - Cellule neurosécrétrice de type I (CnsI) au contact des axones. N : noyau. X 12 000.

Figure 21 - Cellule neurosécrétrice de type II (CnsII).
D : dictyosome ; gf : gliofilaments ; gs : grains de sécrétion ; N : noyau. X 20 000.

Figure 22 - Formation des granules de sécrétion (gs) au niveau de l'appareil de Golgi (D) des cellules neurosécrétrices de type I.
reg : réticulum endoplasmique granulaire. X 34 000.

Figure 23 - Les deux types d'axones I et II renfermant les produits de sécrétion des cellules neurosécrétrices I et II. Ces deux types d'axones se différencient essentiellement par la taille des granules qu'ils renferment. X 60 000.





FORMATIONS NERVEUSES INTRAEPITHELIALES

Figures 24 et 25 - Contacts synaptiques (flèches) entre les deux types d'axones. AxI : axone du type I ; AxII : axone du type II ; LB : lame basale. X 60 000.

Figure 26 - Cellule basale à granules (cbg). D : dictyosome ; N : noyau. X 16 000.

Figure 27 - Cellule basale à granules au contact des fibres nerveuses intraépithéliales. Noter la richesse de ces cellules en microtubules (mT). M : mitochondrie. I : axone I ; II : axone II. X 20 000.





JONCTIONS CELLULAIRES DE L'EPITHELIUM INTESTINAL

Figures 28 à 31 - Imprégnation au Lanthane.

Figure 28 - Aspect général des jonctions intercellulaires dans la région apicale de l'épithélium. Les membranes latérales des cellules voisines sont liées entre elles, à l'apex, par une *zonula adhaerens* (za), suivie d'une jonction septée plissée (js). MV : microvillosités. X 28 000.

Figure 29 - La jonction septée est interrompue, par endroits, par des desmosomes (de). Noter la disposition périodique des septes (flèches). X 134 000.

Figure 30 - Coupe tangentielle au niveau de la jonction septée. Les flèches indiquent la disposition des sub-structures en rangées. X 100 000.

Figure 31 - Coupe tangentielle d'une jonction septée montrant le parallélisme des éléments plissés (flèche à double sens). X 54 000.

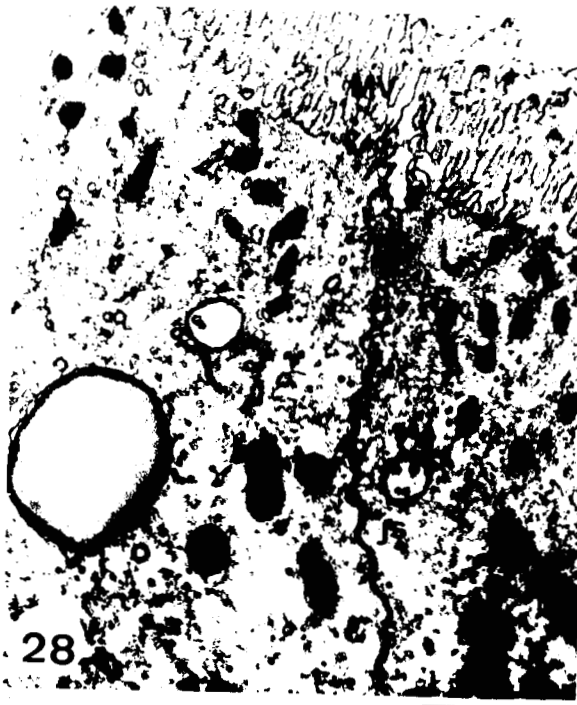
Figures 32 et 33 - Aspects des jonctions septées plissées en cryofracture.

Figure 32 - Noter le parcours sinueux dessiné par l'alignement des particules intramembranaires. X 80 000.

Figure 33 - Région moyenne de l'épithélium montrant une jonction "gap" (G) au voisinage de la jonction septée (js). EF : face externe ; PF : face protoplasmique. X 54 000.



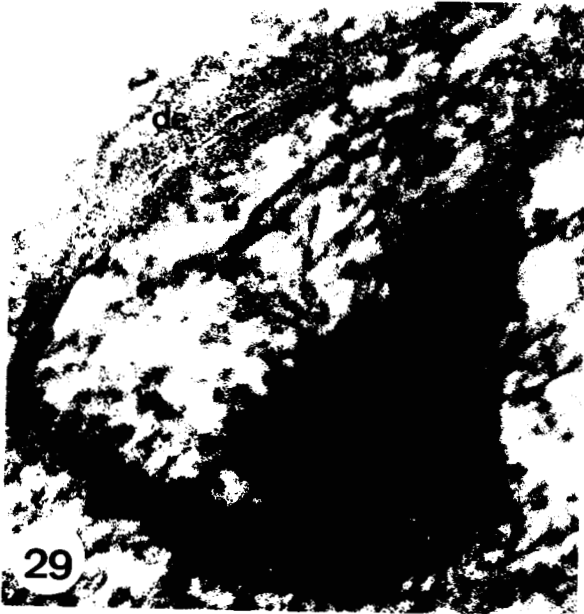
28



32



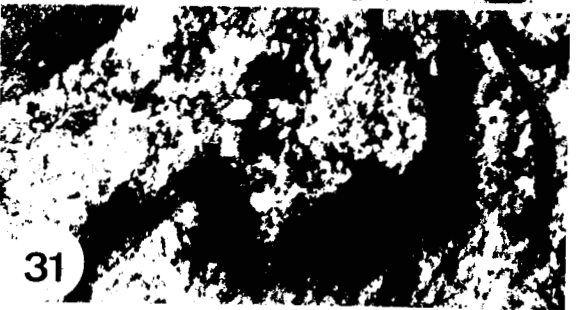
29



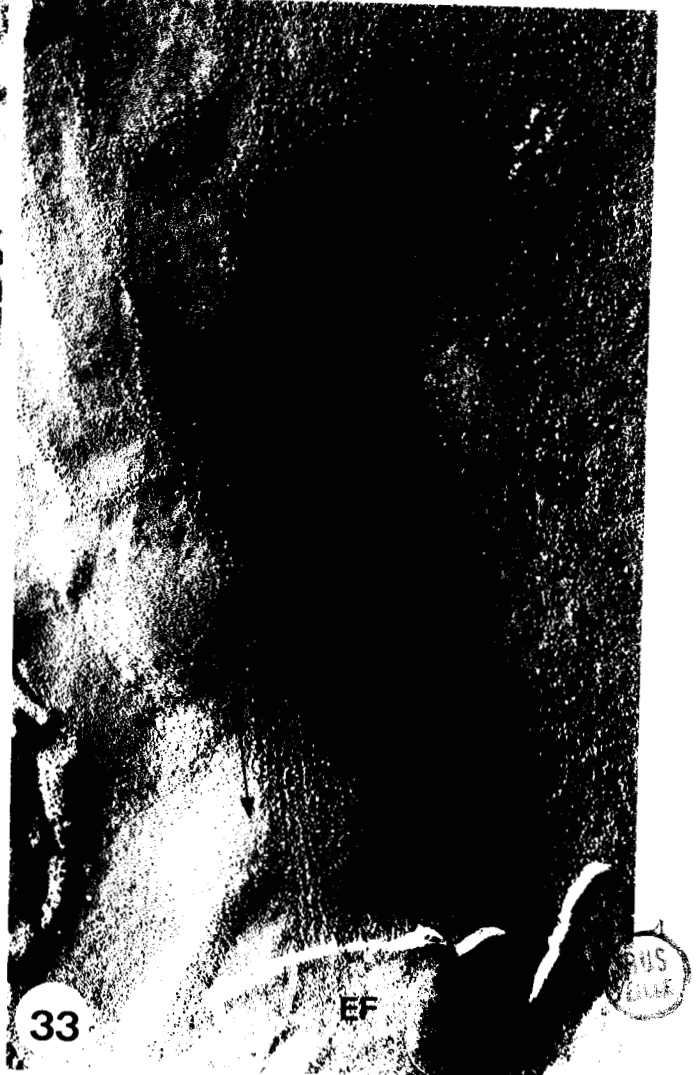
30



31



33



PHS
GALL

MODIFICATIONS ULTRASTRUCTURALES DE L'EPITHELIUM INTESTINAL AU

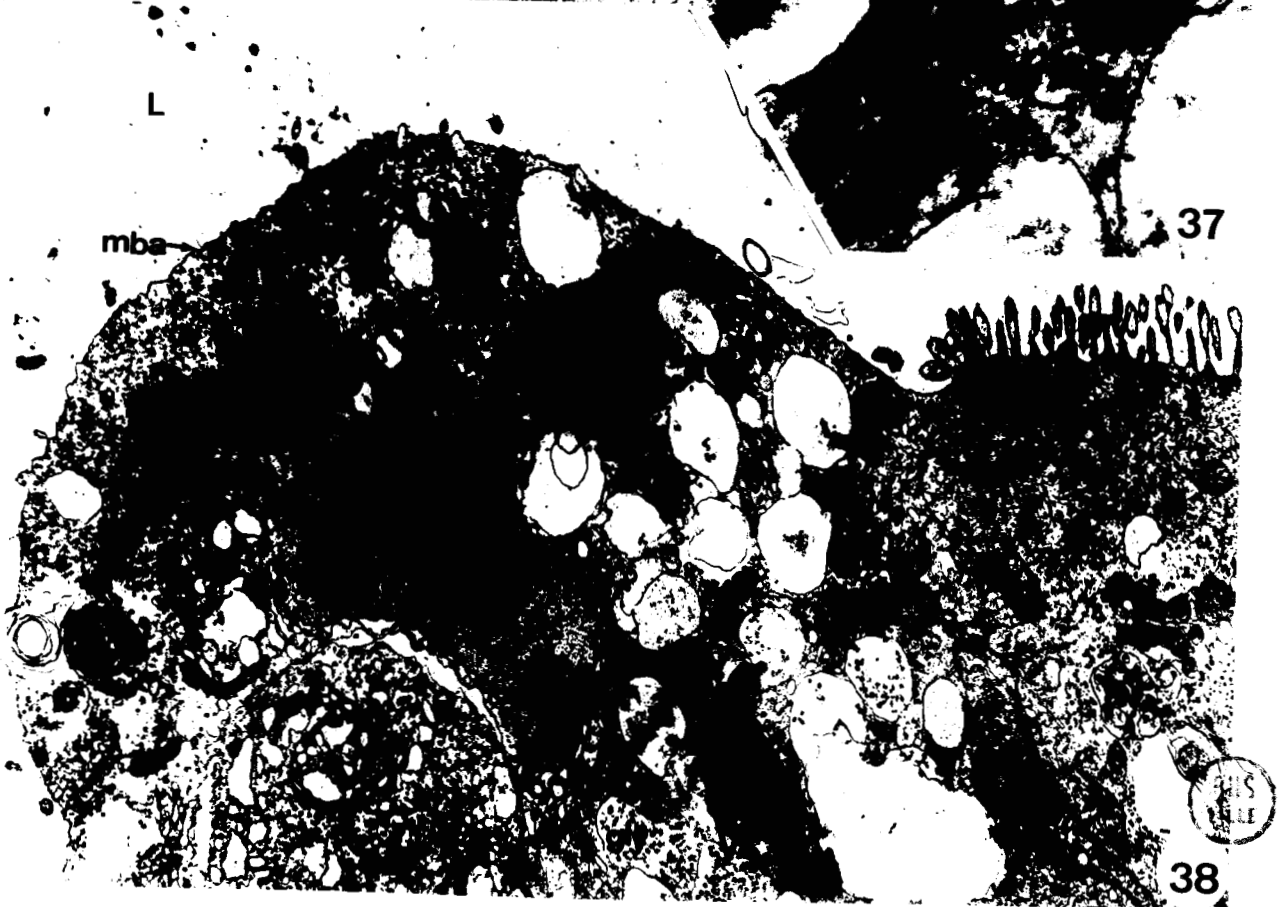
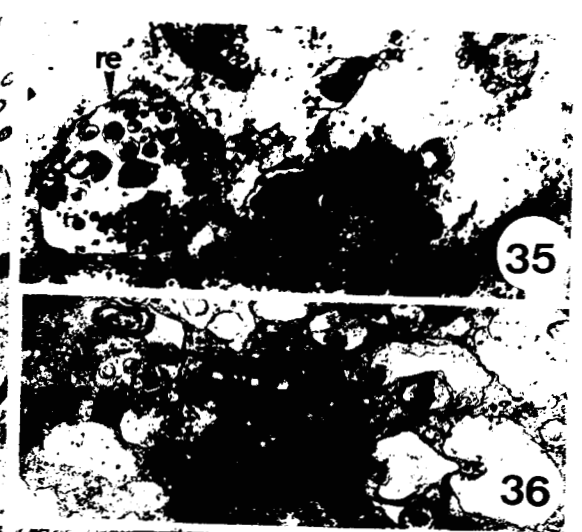
COURS DE L'EPITOQUIE NATURELLE

Figure 34 - La dégénérescence de l'intestin se manifeste par l'apparition de nombreuses formations intracellulaires et aboutit au rejet de certaines cellule usées (astérisque). M : mitochondrie ; L : lumière intestinale ; MV : microvillosités ; V : vacuoles cytoplasmiques ; VA : vacuole autophagique. X 16 000.

Figures 35 et 36 - Formations intracellulaires renfermant différents organites cytoplasmiques. Certaines structures renfermant du matériel cytoplasmique dense et hétérogène sont entourées de réticulum endoplasmique (têtes de flèche). re : réticulum endoplasmique.
Fig. 35 : X 12 000 ; Fig. 36 : X 13 400.

Figure 37 - Appareil de Golgi (D) élaborant des granules à matériel plus ou moins membraneux évoluant vers des aspects denses (flèche). Noter la présence de corps denses (cd) à aspect semblable à celui des peroxysomes. X 28 000.

Figure 38 - Rejet cellulaire.
Cellule usée faisant hernie dans la lumière de l'intestin. Noter la disparition totale des microvillosités et des formations apicales denses dans cette cellule. Le noyau (N) présente une localisation anormale et montre des mottes de chromatine dispersées dans le nucléoplasme (têtes de flèche).
D : dictyosomes ; gly : glycogène ; L : lumière intestinale ; mba : membrane apicale ; mv : microvillosités ; re : réticulum endoplasmique ; VA : vacuoles autophagiques. X 14 000.

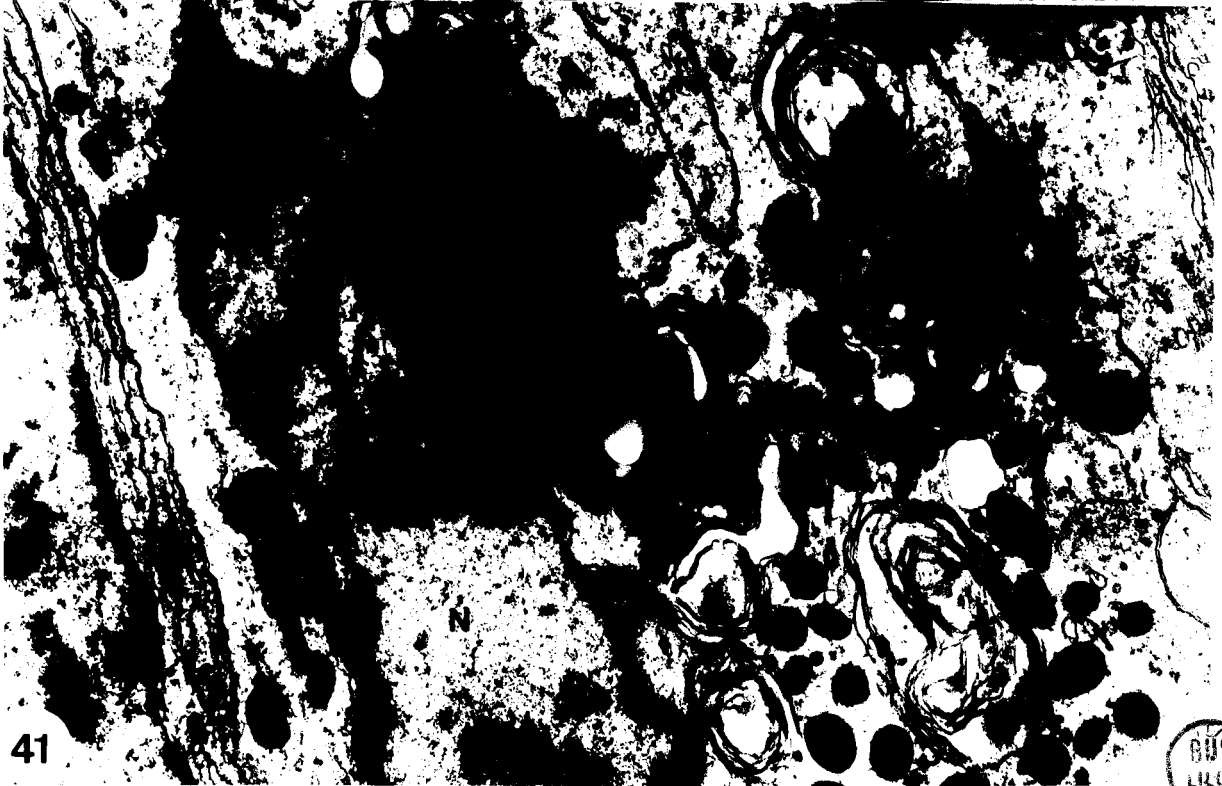


MODIFICATIONS ULTRASTRUCTURALES DE L'EPITHELIUM INTESTINAL AU
COURS DE L'EPITOQUIE NATURELLE

Figure 39 - Modifications des noyaux (N). A droite : noyau en dégénérescence montrant un aspect pycnotique. La chromatine tend à disparaître laissant place à des mottes chromatiniennes dispersées dans le nucléoplasme (flèche). L'espace périnucléaire est dilaté. en : enveloppe nucléaire. X 23 000.

Figure 40 - Cellule neurosécrétrice de type I (CnsI) affectée par la dégénérescence. Les mitochondries (M) montrent une matrice claire. Un ou plusieurs granules de sécrétion (flèches) sont séquestrés à l'intérieur d'une ou plusieurs enveloppes (1 et 2) constituant un système lytique et évoluant vers des aspects lamellaires ou denses (3, 4 et 5). D : dictyosome. X 28 000.

Figure 41 - Cellule basale à granules (cbg) entrant en dégénérescence. Les astérisques indiquent des structures cytolysosomiales renfermant des granules. N : noyau. X 20 000.



LOCALISATION DE LA PHOSPHATASE ACIDE
DANS L'EPITHELIUM INTESTINAL DES EPITOQUES NATURELS

Figure 42 - L'activité phosphatasique acide est localisée au niveau des saccules golgiens (D), dans les vacuoles cytoplasmiques (V). Certains saccules isolés en forme de "cupules" montrent également cette activité (têtes de flèche). X 16 000.

Figure 43 - Phosphatase acide localisée dans certaines structures lysosomiales (VA et V). X 16 000.

Figure 44 - A proximité des dictyosomes (D), des vésicules, probablement d'origine golgienne, montrent une intense activité phosphatasique acide (flèches) ainsi que certaines lamelles isolées jouant vraisemblablement un rôle d'enveloppe de séquestration (tête de flèche). X 40 000.

Figure 45 - La réaction est très intense au niveau des structures lysosomiales. Cette réaction est localisée au niveau de petites vésicules originaires des dictyosomes et constituant probablement des lysosomes primaires (flèches simples). D'autres structures de plus grande taille sont également très riches en phosphatase acide (flèches doubles). V : vacuoles cytoplasmiques ; N : noyau. X 16 000.





MODIFICATIONS ULTRASTRUCTURALES DE L'EPITHELIUM INTESTINAL

AU COURS DE L'EPITOQUIE EXPERIMENTALE

Figure 46 - Région apicale des entérocytes.

Les microvillosités et les formations apicales denses tendent à disparaître. Les mitochondries (m) prennent un aspect particulier avec une matrice dense et des crêtes plus ou moins dilatées. X 26 000.

Figure 47 - Zone sous-apicale des entérocytes.

Début de la désagrégation du réticulum endoplasmique. De nombreuses structures lysosomiales (Ly et Cy) apparaissent dans le cytoplasme, ainsi que des vacuoles à matériel granulaire plus ou moins dense (flèches). Noter la présence d'une lame de réticulum endoplasmique (r.e) entourant certains organites cytoplasmiques. X 24 000.

Figure 48 - Vue générale de l'épithélium en cours de dégénérescence, montrant de volumineuses enclaves lipidiques (astérisque) dans les entérocytes. Certaines portions cytoplasmiques et des organites cytoplasmiques sont entourés de lamelles de réticulum endoplasmique (flèches). X 10 000.



AUTORADIOGRAPHIE A HAUTE RESOLUTION

Figures 49 à 52 - Temps d'incorporation du Fucose-³H : 5 heures.

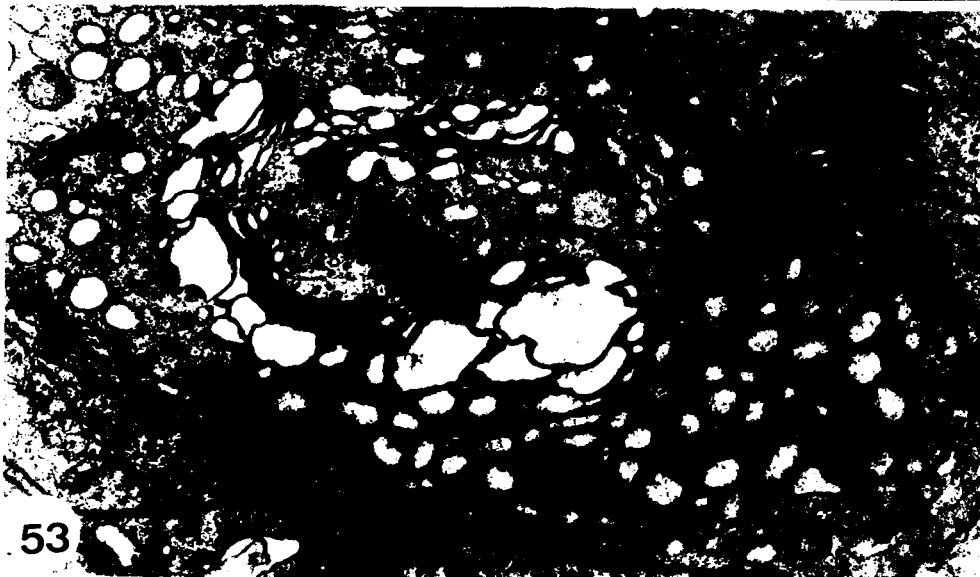
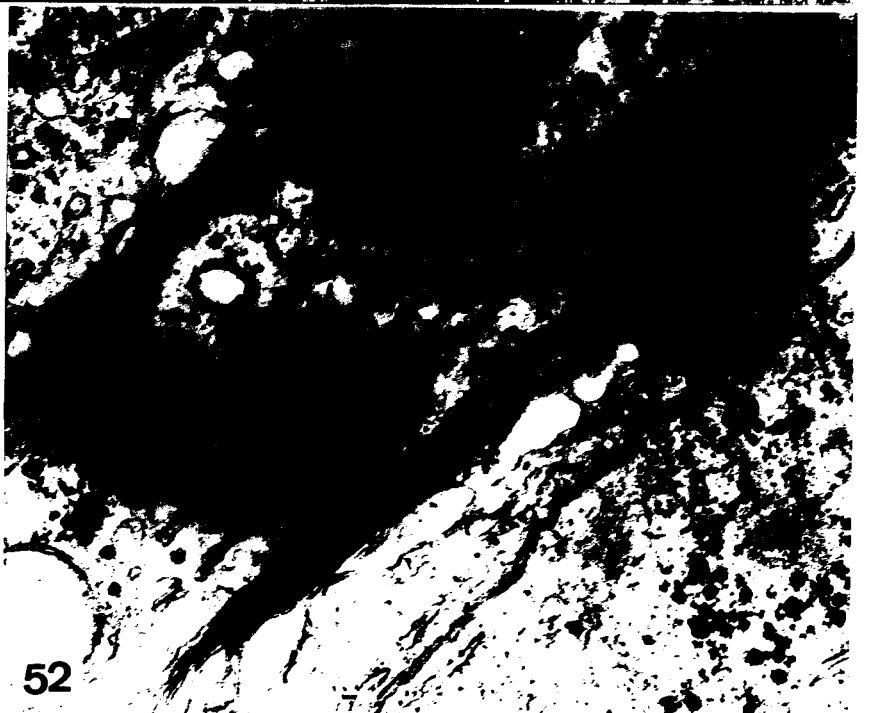
Figures 49 et 50 - Localisation au temps court (5 heures) de fucose-³H au niveau des cellules glandulaires muqueuses. Les grains d'argent sont situés au niveau des dictyosomes et sur les grains de sécrétion.
Fig. 49 : X 10 000 ; Fig. 50 : X 8 000.

Figures 51 et 52 - Mêmes observations pour les entérocytes. Le marquage se situe préférentiellement au niveau de l'appareil de Golgi et sur certaines vésicules golgiennes.
Fig. 51 : X 28 000 ; Fig. 52 : X 40 000.

Figures 53 et 54 - Distribution de la leucine-³H au temps de 4 heures d'incorporation.

Figure 43 - Dans les cellules glandulaires muqueuses, la majorité des grains d'argent est située au niveau de l'appareil de Golgi et du réticulum granulaire. X 16 000.

Figure 54 - Dans les entérocytes, la leucine-³H est localisée initialement dans les dictyosomes et au niveau du réticulum endoplasmique granulaire. X 16 000.



AUTORADIOGRAPHIE DE LA LEUCINE-³H

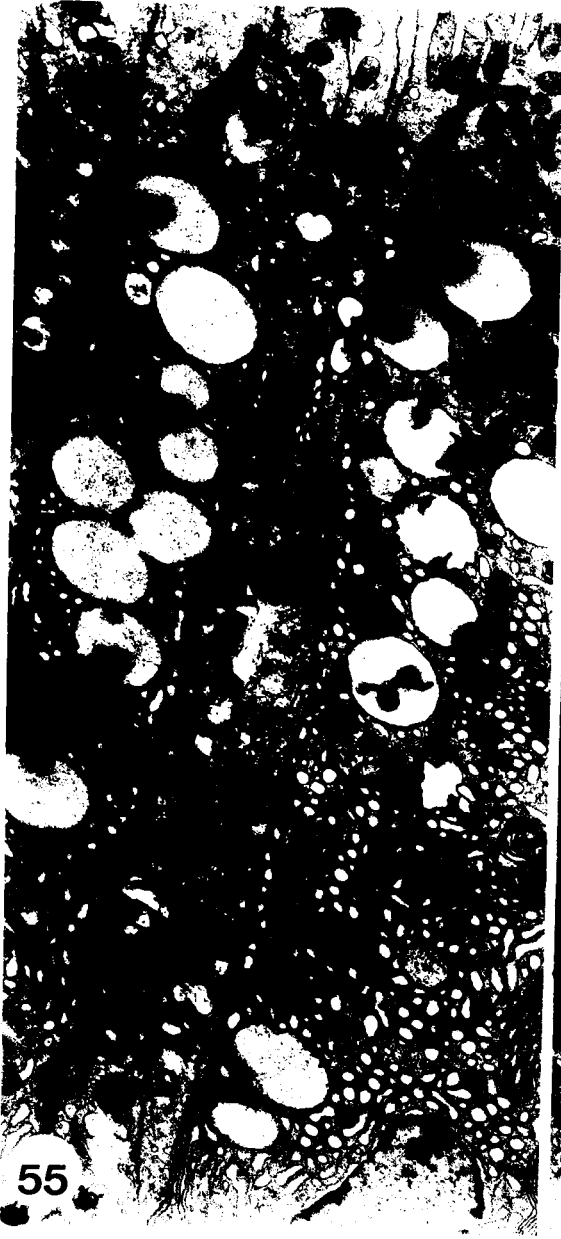
Figures 55 et 56 - Incorporation de la leucine tritiée pendant 24 heures. Les cellules glandulaires muqueuses (cgm) montrent un marquage plus intense que celui des cellules voisines. Quelques rares grains d'argent persistent sur les dictyosomes (D). Les mitochondries sont également marquées.

Fig. 55 : X 8 000 ; Fig. 56 : X 13 400.

Figure 57 - Incorporation de la leucine-³H pendant 3 jours.

La plupart des grains d'argent se localise au niveau du cytoplasme apical et surtout au niveau des microvillosités (M.V).
X 16 000.





AUTORADIOGRAPHIE A HAUTE RESOLUTION

INCORPORATION DE FUCOSE-³H

Figures 58 et 60 - Incorporation de fucose, pendant 5 jours.
Vue générale de l'épithélium montrant la distribution des grains d'argent.

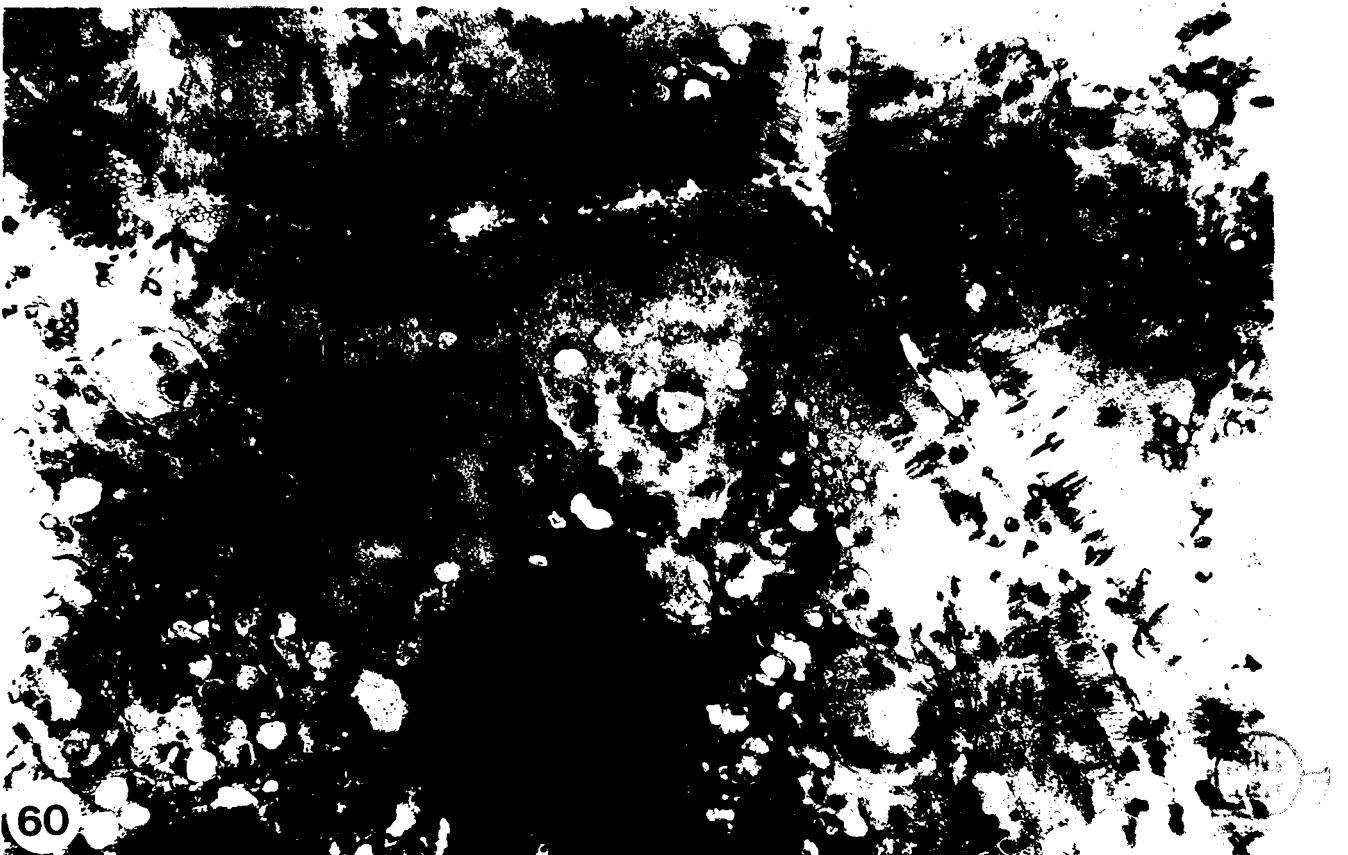
Figure 58 - Quelques grains d'argent persistent dans le cytoplasme apical des cellules. Le marquage est distribué de la même façon au niveau des entérocytes qu'au niveau des cellules glandulaires muqueuses (cgm).
X 8 000.

Figure 60 - La plupart des grains d'argent est localisé au niveau de la bordure en brosse de l'épithélium. Quelques grains d'argent sont disséminés dans le cytoplasme et au niveau des membranes latérales des cellules. X 8 000.

Figure 59 - Incorporation : 24 heures.

Les grains d'argent sont situés dans le cytoplasme. Les cellules glandulaires muqueuses (cgm) montrent un marquage plus intense que celui des entérocytes. X 14 000.

100



DETECTION HISTOENZYMOLOGIQUE DES PROTEINES

Figure 61 - Localisation de l'activité protéolytique au niveau de l'estomac selon la technique de Cunningham (1967). La gélatine est complètement digérée dans la lumière de l'estomac, comme visualisé en blanc par le départ du substrat. L'astérisque indique la présence de gélatine colorée non digérée. X 500.

Figure 62 - Même technique appliquée à l'intestin. Le substrat est toujours présent, indiquant l'absence d'activité protéolytique. X 500.





61

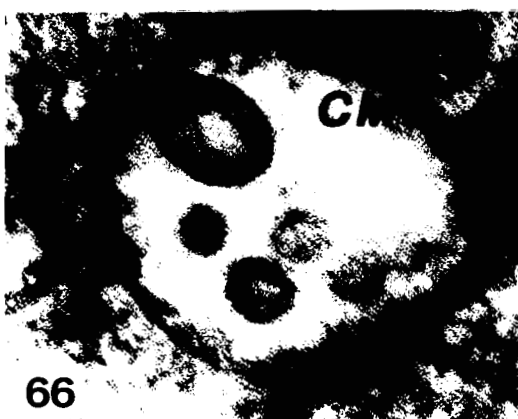
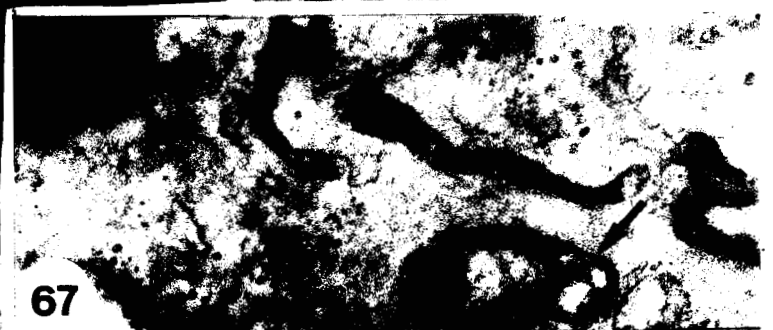
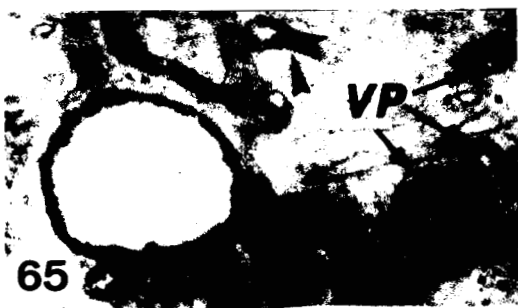


62

BI'S
LILLE

ABSORPTION DE LA PEROXYDASE (HRP) PAR LES ENTEROCYTES

- Figure 63 - Vue générale de la zone apicale d'un entérocyte, 4 heures après administration de la peroxydase. Les produits de la réaction sont localisés dans différentes structures cytoplasmiques (flèches). M.V : microvillosités ; V.P : vésicules de pinocytose. X 28 000.
- Figure 64 - La peroxydase est localisée sur la surface externe de la membrane apicale et dans des vésicules pinocytiques (flèches). f.a.d. : formation apicale dense ; i : invagination de la membrane apicale. X 100 000.
- Figure 65 - Les produits de la réaction sont situés dans de nombreuses vésicules de pinocytose (VP) et dans certaines vacuoles cytoplasmiques. Quelques vésicules renfermant de la peroxydase semblent fusionner entre elles (tête de flèche). X 80 000.
- Figure 66 - La peroxydase est également présente dans certains corps multivésiculaires (CMV). X 160 000.
- Figure 67 - Les formations tubulaires probablement du réticulum endoplasmique, sont également impliquées dans ce processus de transport de la peroxydase. Ces structures présentent des formes variables et montrent souvent des dilatations à leurs extrémités (flèche). X 80 000.
- Figure 68 - Région moyenne des entérocytes. La peroxydase est accumulée dans des formations lysosomiales (Ly) jouant vraisemblablement un rôle dans la dégradation de ces protéines. X 80 000.



ABSORPTION DE MACROMOLECULES PAR LES ENTEROCYTES

4 HEURES APRES ADMINISTRATION DE LA FERRITINE

(coupes non contrastées)

Figure 69 - Région apicale d'un entérocyte. La ferritine est localisée sur la face externe de la membrane apicale, et dans de nombreuses vésicules du cytoplasme apical (flèches). MV : microvillosités. X 28 000.

Figures 70 et 72 - Dans le cytoplasme la ferritine est transportée dans des vésicules de pinocytose.

Fig. 70 : X 80 000 ; Fig. 72 : X 100 000.

Figures 71 et 73 - De nombreuses vésicules pinocytiques renfermant de la ferritine semblent fusionner entre elles et avec certaines vésicules dépourvues de ferritine (flèches).

Fig. 72 : X 100 000. Fig. 73 : X 160 000.

Figures 74, 75, 76 - La ferritine est également localisée au niveau de quelques corps multivésiculaires (CMV) et dans certaines vacuoles jouant probablement un rôle dans la dégradation de ces molécules (flèche). X 100 000.



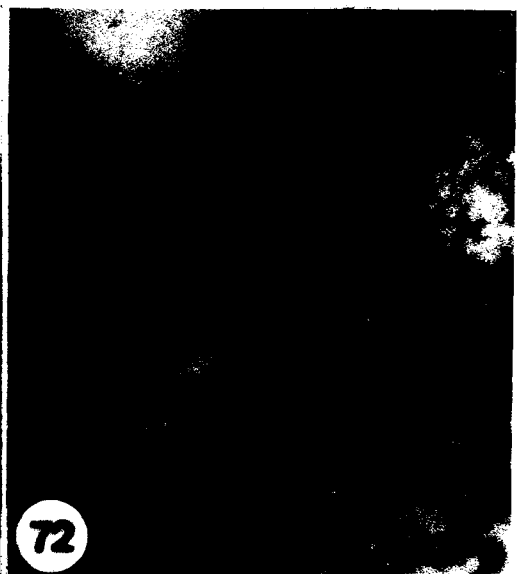
69



70



71



72



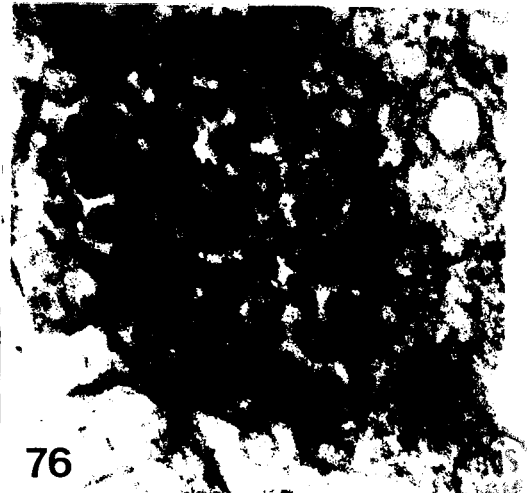
74



73



75



76

1944

LOCALISATION DE L'ACTIVITE PHOSPHATASIQUE ACIDE

(coupes non contrastées)

Figure 77 - Appareil de Golgi au niveau des entérocytes (D). Les produits de la réaction sont localisés dans certains saccules golgiens et dans les vésicules golgiennes correspondant probablement à des lysosomes primaires (flèches). X 40 000.

Figure 78 - Les flèches indiquent un certain nombre de vacuoles présentant une activité phosphatase acide. X 20 000.

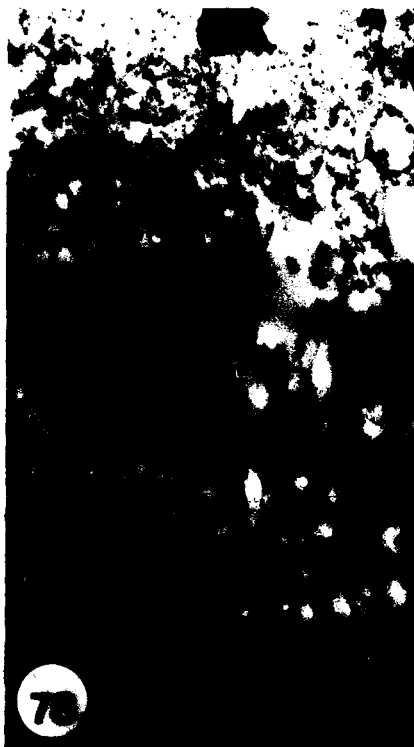
Figure 79 - Certains dictyosomes (D) montrent une intense activité. Noter la présence de quelques saccules unitaires riches en phosphatase acide et localisés à proximité de l'appareil de Golgi (flèches). X 20 000.

Figures 80, 81 et 82 - Visualisation des sites de digestion intracellulaire. La ferritine absorbée, s'accumule dans certaines formations cytoplasmiques, riches en phosphatase acide. Figs 80 et 81 : X 134 000 ; Fig. 82 : X 160 000.





77



78



79



80



82



81



BIBLIOTHEQUE UNIVERSITAIRE
Section
de
SCIENCES
LILLE

L'ultrastructure de l'épithélium digestif de *P. cultrifera* a permis de définir différentes catégories de cellules. L'estomac comprend essentiellement deux types cellulaires : des cellules glandulaires muqueuses et des cellules glandulaires séreuses. Ces dernières semblent être responsables de la production des enzymes protéolytiques.

L'intestin est formé d'une seule couche de cellules de différentes catégories :

- des entérocytes caractérisés par une bordure en brosse, constituée de nombreuses microvillosités, et renfermant des structures énigmatiques dont le rôle physiologique reste encore indéterminé,
 - des cellules glandulaires muqueuses élaborant du mucus,
 - des cellules ciliées jouant probablement un rôle de mécanoréceptrices.
- L'épithélium intestinal présente à sa base des fibres nerveuses comprenant deux types d'axones définis par la taille et la structure des granules de sécrétion qu'ils renferment.

Les cellules intestinales synthétisent des glycoprotéines et des protéines. Les glycoprotéines élaborées par les entérocytes sont destinées au "cell-coat".

En plus du processus de digestion extracellulaire bien connu chez les Polychètes, une forme de digestion intracellulaire est démontrée dans ce travail grâce à l'utilisation de traceurs tels la peroxydase et la ferritine.

Les modalités d'assimilation et la relation entre les produits de l'assimilation et les synthèses du milieu cœlomique, sont également démontrées par ingestion de protéines et d'acides aminés radioactifs.

Au moment de l'épitoquie, l'intestin subit à la fois des modifications morphologiques et biochimiques. Ces modifications sont en relation avec l'activité endocrine cérébrale. La suppression du cerveau induit une augmentation des teneurs de l'intestin en enzymes hydrolytiques et conduit à un arrêt du renouvellement des cellules épithéliales.

Annelida - Polychaeta -- Tube digestif - Entérocyte - Mucocyte -
Digestion - Absorption - Protéase - Phosphatase acide - Synthèse ADN --
Epitoquie - Dégénérescence