

ROLE JOUE PAR LES HEMOCYTES DANS LES REACTIONS TISSULAIRES DE DEFENSE CHEZ LES CRUSTACES

par Jean DE BACKER.

Aspirant du Fonds National de la Recherche Scientifique.
Laboratoire de Morphologie animale. Institut de Zoologie, Univ. de Louvain.

Résumé. — Des métacercaires sont enkystées dans l'hépatopancréas et d'autres tissus de *Palaemonetes varians* (LEACH). Elles sont entourées par un tissu connectif réactionnel qui semble s'édifier aux dépens d'hémocytes. Ces observations sont comparées avec des faits semblables constatés par d'autres auteurs; on peut en conclure que les hémocytes des Crustacés concourent à la défense de l'organisme dans les processus inflammatoires et, plus généralement, représentent un tissu mésenchymateux liquide aux potentialités morphogénétiques multiples.

I. — INTRODUCTION.

Nous poursuivons, depuis quelques mois, des recherches sur la morphologie et les propriétés des hémocytes chez les Crustacés : le matériel sur lequel porte notre étude est le Décapode nageur *Palaemonetes varians* (LEACH), dont des lots de quelques centaines d'individus sont périodiquement prélevés au sein d'une population qui vit dans des mares d'eau saumâtre à Lillo, près d'Anvers. Les crevettes récoltées jusqu'à présent sont toutes parasitées par un nombre assez élevé (20 à 30 par animal, en moyenne) de petites métacercaires appartenant à une espèce non encore déterminée de la famille des Microphallinae (WARD) (1), qui sont enkystées entre les diverticules de l'hépatopancréas; elles peuvent se loger aussi, exceptionnellement, dans la glande excrétrice, le cerveau ou les muscles.

(1) Nous tenons à exprimer ici notre gratitude à M. FAIN, professeur de Zoologie médicale à l'Institut de Médecine Tropicale Prince Léopold, à Anvers, qui a bien voulu examiner notre matériel et entreprendre, avec notre modeste collaboration, des recherches en vue de déterminer ce parasite et d'en établir le cycle de développement.

Ces parasites ont retenu notre attention parce que l'organisme édifie tout autour une enveloppe de tissu que nous appellerons provisoirement « conjonctif », qui forme ainsi un kyste secondaire ou « réactionnel ». STEOPOE ET DORNESCO (1945), étudiant la cytologie et les propriétés des éléments sanguins des Phyllopoètes anostracés, signalent la formation, aux dépens d'une accumulation de globules sanguins, d'une sorte d'épithélium pluristratifié autour de parasites enkystés. Ces auteurs se bornent à cette simple constatation, sans donner de précision sur la nature des parasites ni de description détaillée de cet « épithélium pluristratifié ». Nous avons estimé que l'étude du cas particulier des métacercaires enkystées chez *Palaemonetes varians* pourrait apporter des résultats intéressants. Les observations que nous avons faites plaident en faveur d'une intervention d'hémocytes dans l'édification des kystes secondaires; s'ajoutant à ce qu'on connaît du rôle des hémocytes dans la cicatrisation des blessures, leur intervention dans les réactions qui suivent des lésions produites par des corps étrangers (DANINI, 1925), dans l'élimination des tissus en dégénérescence (DEBAISIEUX, 1952; STEOPOE ET DORNESCO, 1945), elles permettent de se faire une idée assez complète du rôle joué par les hémocytes dans la défense de l'organisme chez les Crustacés. Cette notion sera discutée à la fin de cet article, dans lequel le tissu réactionnel qui entoure les métacercaires sera décrit; les observations qui indiquent sa différenciation à partir d'hémocytes seront analysées. Dans la discussion, la question des potentialités morphogénétiques des hémocytes chez les Crustacés sera également brièvement débattue.

II. — OBSERVATIONS.

DESCRIPTION DU TISSU CONNECTIF RÉACTIONNEL ÉDIFIÉ AUTOUR DE MÉTACERCAIRES ENKYSTÉES CHEZ *PALAEMONETES VARIANS*.

Méthodes.

L'essentiel des observations a porté sur des coupes sériées à 7,5 microns, frontales et transversales, de crevettes fixées au bouin alcoolique immédiatement après la mue, lorsque la chitine est encore molle, ou peu avant l'exuviation, après avoir enlevé la carapace dorsale tout en laissant intacte la couche pigmentaire du nouvel exosquelette.

La coloration trichromique de Masson au ponceau de xylidine-bleu d'aniline donne d'excellent résultats.

Quelques crevettes ont été disséquées, des fragments d'hétopancréas infesté prélevés, fixés au bouin, coupés à 5 ou à 7,5 microns et colorés comme décrit ci-dessus.

Description du tissu connectif (1).

Les métacercaires logées entre les diverticules hétopancréatiques sont entourées (fig. 1 et 3) d'une couche relativement épaisse, parfois plus épaisse que la paroi propre du kyste, d'un tissu connectif qui présente l'aspect d'un feutrage serré de fibres enchevêtrées et anastomosées ou groupées en faisceaux, orientées plus ou moins perpendiculairement au kyste, sur lequel elles semblent s'attacher. Des noyaux assez nombreux, d'une taille moyenne relativement uniforme de 8 à 10 microns, sont enfermés dans les mailles les plus larges du feutrage, qui sont cependant tellement étroites qu'il reste très peu de place au cytoplasme; la chromatine des noyaux apparaît plus ou moins nettement comme un réseau qui rayonne autour d'un ou de plusieurs gros grains subcentraux.

Un examen attentif montre souvent que le feutrage de fibres connectives est d'autant plus serré qu'on se rapproche de la paroi du kyste : à proximité de celle-ci, la substance connective, constituée de fibres plus fines, peut être tellement abondante qu'on n'y trouve plus de noyaux ou seulement quelques-uns, souvent dégénérés, ou des débris. Dans la zone périphérique de la tumeur (2), les fibres, plus grossières, forment des mailles plus lâches : une quantité plus importante de cytoplasme entoure les noyaux et des cellules bien individualisées, présentant tous les caractères d'hémocytes, sont parfois enfermées dans ces mailles (fig. 1, p. 147 et fig. 3, hors-texte).

Nous avons fréquemment pu observer, entremêlées aux fibres connectives, des fibres musculaires striées (fig. 4) plus ou moins nombreuses, disposées le plus souvent suivant une direction tangente ou oblique par rapport à la surface du kyste, mais aussi perpendiculairement (dans ce cas, certaines fibres semblent s'at-

(1) Le qualificatif « conjonctif » sera évité parce qu'il évoque immédiatement les tissus conjonctifs des Vertébrés, or la définition classique de ces tissus (formés de « cellules non accolées les unes aux autres, de nombreuses fibres et une substance interstitielle ou fondamentale plus ou moins abondante » — CHÈVREMONTE, 1956 —) s'applique mal, sinon pas du tout, aux divers tissus de remplissage et de soutien des Crustacés (DEBAISIEUX, 1952).

(2) Le terme tumeur, quoique incorrect, sera parfois utilisé pour des raisons de commodité.

tacher sur le kyste). Elles sont parfois parallèles entre elles et peuvent même se grouper en faisceaux mais elles ont le plus souvent une orientation quelconque les unes par rapport aux autres. Le sarcoplasme et les noyaux de ces éléments musculaires sont très difficiles à mettre en évidence. Sur la figure 6 est représenté un corps cellulaire nucléé qui émet un long prolongement où se reconnaît l'alternance caractéristique de disques clairs et sombres; une telle disposition a été observée dans deux ou trois cas: il semblerait qu'on ait affaire à des cellules musculaires striées élémentaires, uninucléées, mais l'interprétation des coupes est extrêmement délicate sur ce point.

A côté de ces éléments musculaires typiques, on constate la présence, dans la plupart des tumeurs, de cellules où peuvent se distinguer (fig. 4 et 7) un corps ovoïde, nucléé (le noyau mesure de 11 à 13 microns en moyenne et possède habituellement un nucléole subcentral et de fines granulations chromatiques éparées, plus nombreuses contre la membrane nucléaire) et un large prolongement cytoplasmique où apparaissent nettement de fines fibrilles parallèles à l'axe du prolongement. Aucune striation transversale ne peut être mise en évidence.

Un nombre plus ou moins élevé de chromatophores s'observent, sur le frais, à la surface de certaines tumeurs; après l'action des agents de fixation, des alcools, et l'inclusion dans la paraffine, le pigment est complètement détruit et ces chromatophores ne peuvent pas être reconnus sur les coupes.

Les métacercaires qui se fixent dans la glande excrétrice se logent dans le labyrinthe, où leur présence entraîne une destruction locale et partielle des tissus. Tout comme dans l'hétopancréas, il se forme autour des kystes un tissu connectif constitué d'un enchevêtrement de fibres entourant des cellules presque dépourvues de cytoplasme. Des cellules de type excréteur, plus ou moins bien reconnaissables, semblent entrer pour une part dans la constitution du tissu tumoral.

Deux cas ont été observés où une métacercaire s'est infiltrée entre le cerveau et son neurilemme. En se développant, le kyste a comprimé le cerveau en y provoquant des lésions importantes: le tissu nerveux s'est creusé de cavités plus ou moins vastes lui donnant un aspect spongieux. Une tumeur très épaisse et très riche en fibres connectives s'est formée sous le neurilemme. Par contre, il ne s'est développé que peu de tissu réactionnel dans le tissu nerveux au contact du kyste; on observe cependant des fibres connectives qui se sont différenciées dans les travées pro-

duites par la « dégénérescence spongieuse » de la substance cérébrale. Notons que nous n'avons remarqué, à part une vitalité peut-être un peu réduite, aucune anomalie dans le comportement de ces animaux, qui ont été fixés après une mue parfaitement normale.

Les métacercaires enkystées dans les muscles y provoquent la différenciation d'un tissu réactionnel abondant qui s'infiltre entre les fibres musculaires et les isole les unes des autres; à part cette sclérose locale, il ne se produit pas, semble-t-il, de dégénérescence importante du tissu musculaire.

ORIGINE ET DIFFÉRENCIATION DU TISSU RÉACTIONNEL ÉDIFIÉ AUTOUR DES MÉTACERCAIRES.

Les observations faites se limitent aux métacercaires enkystées dans l'hépatopancréas; la localisation du parasite dans d'autres organes (glande excrétrice, muscles, cerveau) paraît d'ailleurs exceptionnelle.

Normalement, le tissu connectif de l'hépatopancréas consiste en une fine membrane qui tapisse les diverticules et qui forme, à la surface de l'organe, une enveloppe qui l'entoure tout entier. Ces membranes sont constituées d'une couche de cellules très aplaties, étalées en larges expansions foliacées qui confluent avec les expansions des cellules voisines. Elles forment ainsi un syncytium réticulé (la fusion des cellules est même souvent complète et le syncytium continu) dont les membranes, qui prennent les colorants des tissus conjonctifs, sont, par suite de l'aplatissement, étroitement accolées, sinon fusionnées, sauf au niveau des noyaux. Ceux-ci, comprimés entre les membranes du syncytium, sont ovoïdes (lorsqu'on les voit de face), très clairs, contenant de fines granulations chromatiques et un (parfois deux ou trois) grains plus volumineux. Des fibrilles musculaires striées, étroitement soudées ou incluses dans la membrane connective, forment des anneaux qui encerclent chaque diverticule. Les cellules décrites ci-dessus, qui constituent le tissu connectif de l'hépatopancréas sont des cellules de Leydig de type II, cellules qui forment également les enveloppes connectives de l'ovaire, du testicule, du système excréteur, la paroi des lacunes, etc... On en trouve encore, dans l'hépatopancréas, qui sont tendues dans les espaces intertubulaires (fig. 2; L II). Des hémocytes circulent dans ces espaces, où se trouvent également, çà et là, des groupes de cellules ovoïdes, apparemment libres, dont la membrane, colorée en bleu par le Masson, semble régulièrement crénelée et qui

contiennent une grosse vacuole excentrique contre laquelle est appliqué un noyau en croissant ou en demi-cercle; ce sont des cellules phagocytaires (rig. 2; x).

Le tissu connectif qui s'édifie autour des métacercaires enkystées entre les diverticules hépatopancréatiques n'a pas la même structure que le tissu de soutien de la glande: la taille et les caractères chromatiques des noyaux, notamment, sont nettement différents. Nous n'avons jamais, ni dans les cas où furent rencontrées des métacercaires qui venaient de pénétrer dans l'organe, ni dans les autres cas, observé de cellules de Leydig en mitose. D'autre part, l'hypothèse d'une différenciation du tissu hépatopancréatique suivie de sa transformation en tissu connectif doit être rejetée: les métacercaires se logent entre les tubules, dont la structure histologique reste normale. Ces faits plaident en faveur de l'hypothèse d'une intervention d'éléments cellulaires formés ailleurs dans l'organisme et qui émigreraient vers le site de l'infestation, s'y accumuleraient et se différencieraient en tissu connectif de défense. Les hémocytes qui circulent dans tout l'organisme et notamment dans les interstices de l'hépatopancréas, qui sont continuellement libérés par l'organe hémo-poïétique situé à la base du rostre (DEMAL, 1593), fournissent à priori le matériau pour un tel processus.

Or, l'examen du tissu réactionnel complètement différencié montre une similitude d'aspect entre les noyaux de ce tissu et les noyaux des hémocytes. La ressemblance est encore plus frappante si la comparaison est faite entre les noyaux de la périphérie de la tumeur qui, enfermés dans des mailles plus larges, sont encore entourés d'un cytoplasme abondant, et les hémocytes qui, çà et là, s'infiltrant entre les travées de substance connective là où elles sont plus espacées. Il est d'ailleurs parfois impossible de déterminer si on a affaire à un hémocyte emprisonné dans une maille de substance connective ou à un élément fixe faisant partie intégrante du tissu réactionnel: toute une série d'aspects intermédiaires peut être observée entre les hémocytes typiques et les cellules presque dépourvues de cytoplasme, isolées dans un réseau très serré de fibres connectives (fig. 1).

Nous n'avons pas réussi à obtenir suffisamment de matériel présentant une infestation récente: il semble bien, cependant, d'après les quelques cas étudiés, que des hémocytes migrent vers le site de l'infestation, s'infiltrant entre les diverticules hépatopancréatiques qui entourent la métacercaire qui vient de s'enkyster et viennent se disposer contre la paroi du kyste, mais nous

n'avons pas pu constater de véritable accumulation d'hémocytes : peut-être l'infestation était-elle trop récente pour avoir déclenché une réaction très nette.

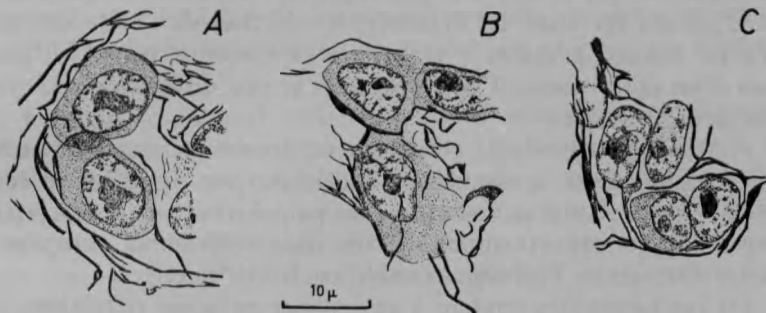


FIG. I.

Figures suggérant la participation d'hémocytes à l'édification du tissu connectif réactionnel (A: hémocytes s'infiltrant dans le tissu connectif lâche à la périphérie d'une tumeur; B: tissu lâche, cellules à cytoplasme abondant; C: tissu dense, réseau connectif à mailles étroites, cellules presque dépourvues de cytoplasme).

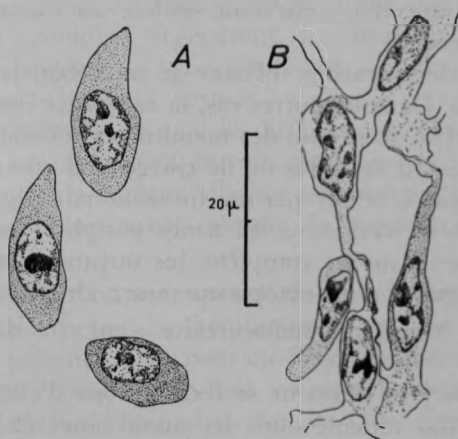


FIG. II.

A: groupe d'hémocytes tel qu'on peut l'observer dans l'hépatopancréas et, en particulière abondance, autour des métacercaires enkystées entre les diverticules de la glande.

B: détail du tissu syncytial édifié autour d'une métacercaire infestée de microorganismes. Un hémocyte libre est encore visible.

Un cas particulier nous a apporté des renseignements beaucoup plus intéressants sur la formation du tissu connectif réactionnel : un certain pourcentage de métacercaires sont infestées

par une accumulation énorme de microorganismes; la contamination s'est vraisemblablement produite au stade cercaire et le parasite n'arrive pas à sécréter une paroi kystique épaisse. Chose curieuse (et qui soulève le problème des facteurs déterminant l'édification du tissu de défense), la réaction de l'hôte est en général beaucoup moins « violente » et n'aboutit qu'à l'édification d'un tissu connectif peu abondant et peu différencié (fig. 5). On peut voir que :

1°) les hémocytes sont relativement nombreux aux alentours du parasite. Cette accumulation locale est peu significative car on la retrouve aussi aux environs de parasites normaux enkystés depuis longtemps et entourés d'un tissu réactionnel complètement différencié. Plus remarquable est le fait que

2°) ces hémocytes tendent à se grouper en amas cellulaires;

3°) dans ces amas, les hémocytes tendent à s'allonger ou à s'étaler (on a parfois l'impression d'un épithélium pluristratifié) en formant des prolongements qui s'anastomosent avec ceux des cellules voisines (fig. II);

4°) en même temps que s'édifie ce syncytium réticulé, les limites cellulaires y deviennent colorables par le bleu d'aniline : de la substance connective s'est donc édifiée au niveau des membranes cellulaires.

Dans le cas des parasites infestés de microbes, la réaction en reste souvent là. Dans les autres cas, la substance connective continue à être édifiée au niveau des membranes cellulaires; elle s'organise en un réseau de fibres ou de travées qui enserrant de plus en plus les noyaux, le cytoplasme finissant par disparaître presque complètement sauf dans les zones périphériques où la différenciation paraît moins complète, les noyaux pouvant parfois encore être entourés d'un cytoplasme assez abondant.

En résumé, lorsqu'une métacercare s'enkyste dans l'hétopancréas :

1°) des hémocytes viennent se fixer autour d'elles et forment un tissu syncytial réticulé dont les membranes élaborent de la substance connective;

2°) la tumeur s'accroît progressivement par apport de nouvelles cellules qui se différencient à leur tour. Au fur et à mesure que le tissu réactionnel s'épaissit, les couches les plus anciennes se différencient de plus en plus avec accroissement de la substance connective qui s'organise en un réseau très serré de fibres, et diminution progressive du cytoplasme. Après la cessation de l'apport de nouveaux hémocytes (l'accroissement en épaisseur

n'est pas indéfini), ce processus de différenciation s'étend finalement à toute l'étendue de la tumeur, quoiqu'il semble s'arrêter à un stade incomplet dans la zone périphérique.

L'origine des fibres musculaires striées ainsi que des cellules à cytoplasme fibrillaire est inconnue; peut-être ces dernières sont-elles des fibres musculaires anormales ou en voie de dégénérescence ?

Le tissu réactionnel édifié autour de métacercaires enkystées dans la glande excrétrice, le cerveau ou les muscles ayant la même structure que celui édifié autour des parasites de l'hépatopancréas a vraisemblablement la même origine; des éléments provenant de la dégénérescence des tissus avoisinants (par exemple dans la glande excrétrice) peuvent parfois, semble-t-il, y être mêlés.

III. — DISCUSSION.

DANINI (1925) provoque, par l'introduction de tubes de celloïdine dans la musculature abdominale de *Potamobius*, une réaction inflammatoire qui aboutit à une accumulation de cellules sanguines autour du corps étranger; celles qui sont au contact direct de la celloïdine dégènèrent, les autres s'orientent parallèlement à la surface du tube, s'aplatissent et finissent par s'unir par leurs prolongements, formant ainsi un syncytium dans les travées longitudinales duquel se différencient des fibrilles « conjonctives ». Comme on peut le voir, ces processus ressemblent très fort à ceux qui aboutissent, d'après nos observations, à l'édification des tissus réactionnels autour de métacercaires parasitant *Palaeomonetes*.

Ces phénomènes ne sont qu'une des manifestations d'une tendance générale qu'ont les hémocytes à s'accumuler là où une lésion ou la présence d'un tissu en dégénérescence, d'un parasite ou d'un corps étranger introduit accidentellement mettent dans une certaine mesure l'animal en danger. C'est ainsi qu'on voit les hémocytes s'accumuler au niveau d'une lésion des téguments et la réparer provisoirement, s'accumuler autour de cellules glandulaires en dégénérescence chez *Argulus foliaceus* L. (DEBAISIEUX, 1952), autour de magmas de cellules mortifiées chez *Palaeomonetes* (observations personnelles), etc... Dans tous ces cas également, les hémocytes montrent la tendance à former un pseudo-épithélium pavimenteux stratifié. La réaction de défense peut en rester là mais, dans certaines circonstances, ce tissu dérivant de l'accumulation de cellules sanguines peut, comme le montrent

les observations de DANINI, se transformer en un véritable tissu « conjonctif ». C'est ce qui semble aussi se passer dans les « gaines d'enkystement » qui se forment autour des cellules glandulaires en dégénérescence d'*Argulus* et dans les kystes secondaires entourant les métacercaires qui parasitent *Palaemonetes varians*, où la différenciation en tissu connectif est particulièrement profonde.

FIG. 1.

Coupe d'hépatopancréas (détail) montrant une métacercaire enkystée (au centre; la paroi du kyste est constituée de deux couches colorées différemment) entre les diverticules de la glande. La présence du parasite a provoqué la formation d'un kyste réactionnel constitué de tissu connectif.

FIG. 2.

Tissu hépatopancréatique normal. Aspect, en coupe, du « carrefour » entre trois diverticules voisins.

X: cellules phagocytaires;

L II: cellules de Leydig de type II, l'une tendue dans l'espace intertubulaire, l'autre étalée contre un diverticule.

FIG. 3.

Même parasite qu'à la fig. 1 mais ici la coupe est tangente à la paroi du kyste (partiellement visible dans le haut de la figure).

Aspect du tissu connectif réactionnel.

HE: hémocytes, l'un d'eux s'infiltrant dans le tissu connectif.

FIG. 4.

Coupe tangente à la paroi d'un kyste (tache noire au centre). Le tissu connectif réactionnel est entremêlé de fibres musculaires striées groupées en faisceaux. On voit aussi (X) une grosse cellule formant un large prolongement cytoplasmique où un faisceau de fines fibrilles longitudinales serait visible à un grossissement plus fort.

FIG. 5.

Détail d'une coupe montrant une métacercaire infestée de microorganismes (une partie du parasite est visible dans le bas de la figure) et le tissu connectif peu différencié qui s'est édifié autour du parasite.

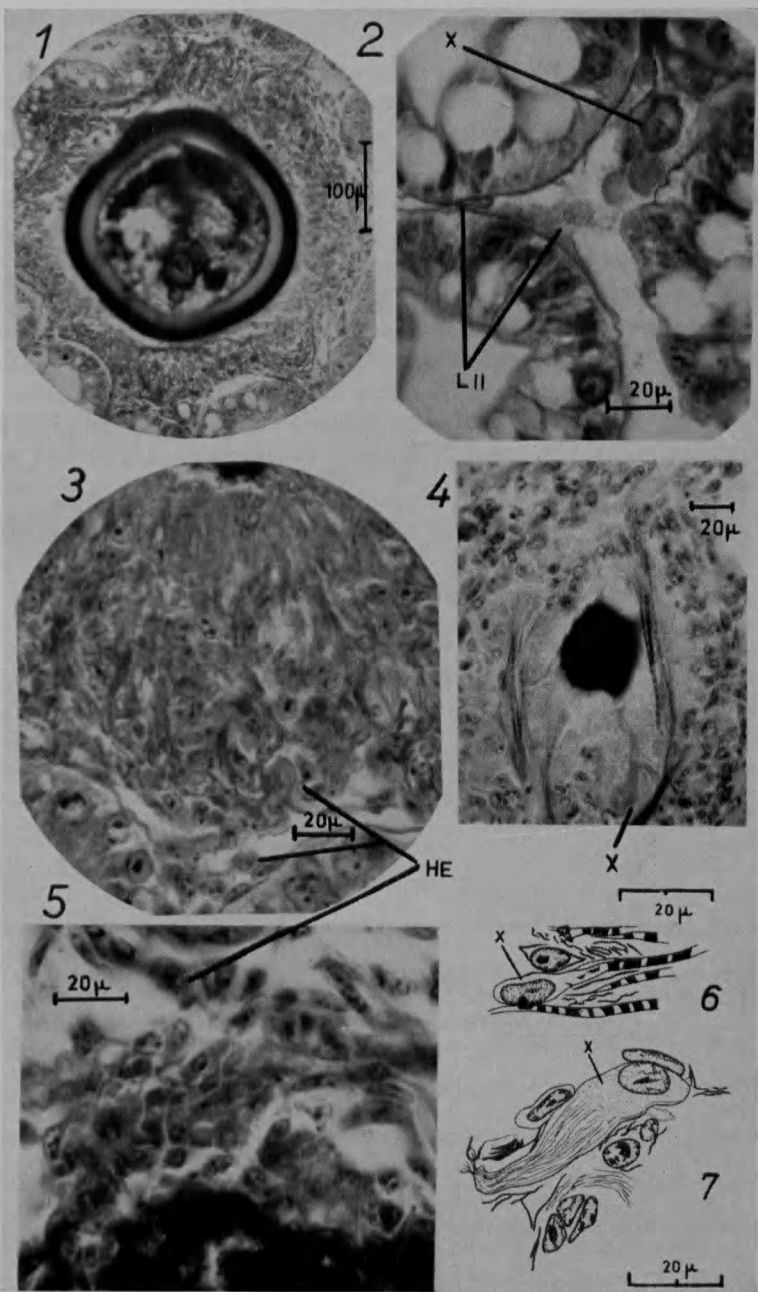
HE: hémocyte.

FIG. 6.

Coupe voisine de celle représentée à la fig. 4. Dessin de quelques fibres musculaires striées; l'une d'entre elles est formée, semble-t-il, d'un corps cellulaire qui émet un long prolongement différencié en élément contractile.

FIG. 7.

Tissus connectif réactionnel (détail) montrant une grosse cellule formant un large prolongement cytoplasmique où sont différenciées de fines fibrilles longitudinales.



IV. — CONCLUSIONS.

1°) Les hémocytes des Crustacés interviennent dans un système de défense qui est mis en œuvre pour protéger l'organisme contre divers traumatismes et au cours de divers processus inflammatoires. En cela, les hémocytes des Crustacés ont les mêmes propriétés que ceux des Insectes (revue dans WIGGLESWORTH, 1942 et ROEDER, 1953).

2°) Capables d'édifier des tissus connectifs, les hémocytes des Crustacés peuvent être considérés comme représentant « du tissu mésenchymateux fondamental aux cellules dispersées dans le milieu liquide » (DEBAISIEUX, 1953). D'après celui-ci, et d'après DEMAL (1953), les hémocytes seraient également capables de se différencier en tissus d'accumulation; il faudrait en conséquence les considérer « comme du mésenchyme à potentialités multiples »).

SUMMARY.

Metacercariae become encysted in the hepatopancreas (and occasionally in other organs and tissues) of the prawn Palaemonetes variand (LEACH). They are surrounded by a secondary cyst, composed of a connective tissue that seems to have been built at the expense of an accumulation of haemocytes. These observations are compared with similar facts which have been established by other authors; it can be concluded that the haemocytes of Crustacea contribute to the protection of the organism during inflammatory processes, and, in a more general way, represent a liquid mesenchymatous tissue.

BIBLIOGRAPHIE.

- CHEVREMONT, M. (1956). — *Notions de Cytologie et Histologie*. Desoer, Liège.
- DANINI, E. S. (1925). — Beiträge zur vergleichenden Histologie des Bindegewebes und des Blutes. III. Über die entzündliche Bindegewebsneubildung beim Flusskrebs. *Zeitschr. mikr.-anat. Forschung*, **3**, 558.
- DEBAISIEUX, P. (1952). — Histologie et histogenèse chez *Chirocephalus diaphanus* Prév. *La Cellule*, **54**, 253.
- DEBAISIEUX, P. (1953). — Histologie et histogenèse chez *Argulus foliaceus* L. *La Cellule*, **55**, 245.
- DEMAL, J. (1953). — Genèse et différenciation d'hémocytes chez *Palaemon varians* Leach. *La Cellule*, **56**, 87.
- ROEDER, K. D. (1953). — *Insect Physiology*. Wiley, New York; Chapman, London.
- STEOPOE, J. et DORNESCO, G. T. (1945). — La cytologie et les propriétés des éléments sanguins des Phyllopoètes Anostracés. *Bull. Sect. scient. Acad. roum.*, **28**, 220.
- WIGGLESWORTH, V. B. (1942). — *The Principles of Insect Physiology* (2nd ed.). Methuen, London.