

CICATRISATION ET PREMIERS STADES DE RÉGÉNÉRATION PYGIDIALE CHEZ *NEREIS DIVERSICOLOR*

par M^{mes} H. HERLANT-MEEWIS et A. NOKIN.

Laboratoire de Zoologie et de Biologie Animale. Université de Bruxelles.

Résumé. — Nous avons étudié l'histogenèse de la cicatrisation et des premiers stades de régénération pygidiale chez *Nereis diversicolor*.

Deux faits caractérisent la cicatrisation :

- 1° l'accumulation de coelomocytes libres divers formant un cal cicatriciel ;
- 2° le recouvrement de ce cal par l'affrontement de l'ectoderme et de l'endoderme qui entrent en dédifférenciation.

Au cours des premiers stades de régénération, la peau et le tube digestif se reconstituent à partir de leurs propres cellules dédifférenciées.

Les éléments mésodermiques du bourgeon de régénération se reconstituent à partir de cellules pariétopleurales dédifférenciées qui ont pris l'aspect néoblastique.

La splanchnopleure se reforme également à partir de ses propres éléments ; en outre, elle semble contribuer à la formation des coelomocytes libres.

(Summary at the end of the article.)

Au cours de ces dernières années, l'étude histophysiologique de la régénération chez les Annélides a pris une nouvelle direction.

La découverte de cellules neurosécrétrices chez tous les Invertébrés a posé le problème du rôle joué dans l'organisme par les sécrétions élaborées par ces cellules.

Les travaux de HARMS (1948), CASANOVA (1955), HUBL (1956), CLARK ET CLARK (1959), HAUENSCHILD (1959), CLARK ET BONNEY (1960), DURCHON (1960) ont montré l'influence de facteurs humoraux issus du cerveau sur la régénération des Oligochètes et des Polychètes.

Si les premiers résultats expérimentaux paraissent concluants, il n'en est pas moins vrai que les contrôles histologiques permettant de les interpréter sont encore insuffisants.

Avant d'envisager les mécanismes d'action de phénomènes neurosécrétoires au cours de la régénération, plusieurs problèmes nous paraissent devoir être précisés.

Il faut tout d'abord connaître l'équipement complet du système nerveux en cellules susceptibles de sécréter des neurhormones. Chez les Polychètes, différentes cellules neurosécrétrices ont été décrites dans les ganglions cérébroïdes par B. SCHARRER (1936), SCHAEFFER (1939), BOBIN ET DURCHON (1953), ARVY (1954), DEFRETIN (1956), KORN (1958), R.B. CLARK (1956-1959), HAUENSCHILD (1959). L'un de nous, en collaboration avec N. VAN DAMME, en a observé plusieurs types chez *Nereis diversicolor* à la fois dans les ganglions cérébroïdes et dans les ganglions de la chaîne nerveuse ventrale (H. HERLANT-MEEWIS ET N. VAN DAMME : 1962).

Il convient ensuite de connaître le déroulement normal de l'histogenèse au cours de la cicatrisation et des premiers stades de régénération ; c'est le but du présent travail.

De nombreux auteurs ont abordé le problème de l'origine des éléments blastogénétiques au cours de la régénération caudale des Polychètes.

Nous ne reprendrons pas ici tous les éléments de ces discussions qui opposent les auteurs depuis le début de ce siècle, nous nous bornerons à mettre en présence les résultats les plus récents.

Chez diverses Polychètes errantes et sédentaires, SICARD-BRUSLE (*Nereis massiliensis* : 1957), THOUVENY (*Polydora flava* : 1958) et DURAND (*Dasychone lucullana* : 1959) admettent la reconstitution indépendante des trois feuilletts par l'activation et la dédifférenciation de leurs éléments. Ils confirment ainsi les observations de PROBST (*Owenia fusiformis* : 1932) et les nôtres chez l'Oligochète *Aelosoma viride* (H. HERLANT-MEEWIS : 1954).

Si cette interprétation est claire pour l'ectoderme et pour l'endoderme, elle est beaucoup plus confuse pour le mésoderme, tissu moins bien défini, moins bien connu aussi et c'est à son propos que se manifestent les divergences de vue.

Chez les Oligochètes, depuis les travaux de RANDOLPH (1892) et de KRECKER (1923), on connaît l'existence de néoblastes mésodermiques, capables de se transformer pour reprendre un aspect embryonnaire et ensuite de migrer vers la zone cicatricielle où ils se multiplient et interviennent dans la régénération du mésoderme. La réalité de ce phénomène de migration a été mise en évidence par des techniques de comptage (HERLANT-MEEWIS : 1947) et par l'application localisée de rayons X (STEPHAN-DUBOIS : 1954).

Chez les Polychètes, des néoblastes de ce type ont été décrits par PROBST (1931) chez *Aricia foetida*, par FAULKNER (1932) chez *Chaetopterus variopedatus* et par VANNINI (1947) chez *Salmacina incrustans*.

Selon FAULKNER et PROBST, ils pourraient intervenir dans la formation d'un blastème et être plurivalents ; pour VANNINI, au contraire, ils contribueraient uniquement à la reconstitution du mésoderme.

Chez des espèces qui ne possèdent pas de néoblastes mésodermiques quiescents, susceptibles de migrer, SICARD-BRUSLE, THOUVENY et DURAND observent, dans la zone cicatricielle, la transformation d'éléments mésenchymateux, qui, sur place, prennent l'aspect de néoblastes : l'origine et la nature de ces éléments mésodermiques n'est pas bien définie par ces auteurs.

En 1949, A. DEHORNE attire l'attention sur les cellules coelomiques libres qui s'accumulent près de la zone cicatricielle chez *Nereis diversicolor*. L'auteur y décrit notamment un grand nombre de linocytes et d'amœbocytes acidophiles : ces éléments constituent un bouchon qui ferme la blessure ; les cellules les plus superficielles de ce bouchon édifient ensuite l'ectoderme cicatriciel.

En 1958, STEPHAN-DUBOIS confirme ces observations, chez la même espèce. Elle montre la collaboration de certains amœbocytes à l'édification des parois endo- et ectodermiques, du mésoderme et peut-être aussi du système nerveux : pour cet auteur, ces amœbocytes sont donc totipotents. Ils proviennent de segments antérieurs et migrent vers la zone cicatricielle où ils s'accumulent. L'application de rayons X aux quatre segments voisins de la section rend les amœbocytes de cette région incapables de se diviser et d'assurer la régénération. Par contre, ce traitement n'empêche pas l'envahissement ultérieur de la région irradiée par des amœbocytes venus de segments antérieurs : ce processus rend possible la régénération qui se produit avec un certain retard.

Tout récemment, BOILLY (1962), en appliquant la même technique à *Syllis amica*, n'obtient pas les mêmes résultats : chez cette espèce, les irradiations stoppent complètement la régénération. Pour cet auteur, les éléments blastogénétiques du mésoderme se détachent des parois coelomiques et tout particulièrement de la splanchnopleure au niveau du segment antérieur à celui de la section. Ces cellules, en se libérant, prennent momentanément l'aspect d'amœbocytes qui se différencient ensuite et reconstituent les éléments du feuillet mésodermique. De leur

côté, l'ectoderme et l'endoderme régénèrent à partir de leurs propres éléments.

CLARK, enfin, chez *Nephtys* (1962), confirme l'existence de coelomocytes mobiles mais ils n'interviennent que pour phagocyter les tissus lésés et pour reconstituer le mésoderme. Il a observé les mêmes images que BOILLY, notamment des cellules qui semblent accrochées aux parois coelomiques, mais il les interprète de manière opposée : pour lui, il ne s'agirait pas de cellules qui se détachent de cette paroi mais bien d'éléments libres qui s'y fixent pour assurer sa régénération.

Comme on le voit, le problème reste complexe. Aussi nous a-t-il paru nécessaire de revoir les images histologiques au cours de la régénération normale de *Nereis diversicolor* afin de pouvoir les comparer à celles que l'on obtient lorsque la section postérieure est accompagnée de l'ablation de centres nerveux producteurs de neurhormones.

MATÉRIEL ET TECHNIQUE.

Nous avons expérimenté 200 *Nereis diversicolor* jeunes, longs de 4 à 8 cm, comptant de 60 à 85 segments.

Les individus sont isolés dans des bocaux renfermant un tube de verre coudé, selon la technique de DURCHON. Ils sont maintenus à 8-10° : cette basse température est destinée à ralentir les processus de cicatrisation et de régénération ; lorsqu'ils sont étalés sur un plus grand nombre de jours, il devient plus aisé de les analyser.

Mis à jeun pendant quelques jours pour éliminer le sable contenu dans leur intestin, les vers sont ensuite nourris deux fois par semaine avec des nauplius d'*Artemia salina*.

Au moment de l'opération, ils sont anesthésiés pendant 20 à 30 minutes dans une solution de Nembutal à 0,1 % suivie d'une immersion de 2 à 5 minutes dans une solution de MS 222 Sandoz à 0,15 %.

Une section nette à l'aide d'une lame de rasoir est effectuée au niveau du quarantième segment, soit derrière le dissépiment, soit en entamant celui-ci. Dès que la cicatrisation est terminée, les vers sont à nouveau nourris. Placés à 8-10° à l'obscurité, ils résistent bien à l'opération. Peu d'individus sont morts ; certains d'entre eux se sont autotomisés en avant de la zone de section et ont été éliminés.

Des observations sur le vivant ont été faites régulièrement et une centaine de vers ont été fixés tous les jours de 1 à 7 jours, puis tous les 2 jours jusqu'à 3 semaines.

Nous avons essentiellement utilisé le Bouin comme liquide fixateur. Nous avons appliqué aux coupes deux types de colorations : l'Hématoxyline de GOMORI suivie de Phloxine et éventuellement de Vert lumière, et le Bleu alcian - Hémalun - Phloxine (M. HERLANT : 1958).

Ces deux techniques sont particulièrement intéressantes car elles colorent intensément les basales les plus minces, permettant ainsi de bien mettre en évidence la limite des epithelia. La combinaison du Bleu alcian et de la Phloxine est, de plus, particulièrement heureuse pour l'étude des cellules libres du coelome et du sang.

HISTOLOGIE NORMALE.

Nous n'envisagerons ici que les détails sur lesquels nous aurons à insister plus loin et nous ne décrirons que la région de la section.

Celle-ci se trouve localisée sur le schéma I : elle passe le plus souvent dans l'espace interparapodial (a.b.), correspondant au niveau de l'autotomie ; elle est située en arrière du dissépiment. Dans quelques cas, elle entame la base postérieure du parapode (c.d.) ou bien encore elle passe obliquement selon le plan (e.f.).

Dans l'encoche interparapodiale, l'ectoderme est identique sur toute la périphérie. Comme on peut le voir sur la *fig. 1*, il est constitué de cellules cylindriques assez hautes, recouvertes d'une cuticule et particulièrement riches en tonofibrilles au point d'insertion des muscles obliques (O.) ; elles reposent sur une membrane basale assez épaisse.

Entre la base de ces cellules, circulent des capillaires sanguins et des nerfs (N). En avant et en arrière de cette région, à la base des parapodes, l'épiderme a le même aspect mais les cellules sont moins hautes. Il existe peu de cellules glandulaires à ce niveau.

La musculature pariétale comprend essentiellement des muscles circulaires situés sous l'ectoderme (c). Quatre faisceaux de muscles longitudinaux : deux dorsaux et deux ventraux s'étendent sur toute la largeur de l'animal à la base des parapodes où ils s'appuient segmentairement aux muscles circulaires et des muscles obliques relient la région ventrale, voisine du système nerveux, à la base des parapodes. Il existe, en outre, des muscles associés aux follicules sétigères et aux acicules. Tous ces muscles sont constitués par des fibres lisse accompagnées de cellules péritonéales.

L'endoderme qui constitue la paroi du tube digestif au niveau du quarantième segment est plissé en villosités (*fig. 4*). Celles-ci sont tapissées de cellules épithéliales étroites possédant une bordure en brosse entre lesquelles s'infiltrent des cellules glandulaires peu nombreuses. Le centre des villosités est occupé par des éléments conjonctifs dont les multiples prolongements renferment de petits granules se colorant fortement par l'hématoxyline de GOMORI et qui s'insinuent entre les cellules épithéliales (*fig. 8 : G*). La base de l'endoderme est occupée par le plexus sanguin et la paroi se complète de muscles longitudinaux et circulaires (*fig. 5 et 8*).

Les parois coelomiques sont minces, la pariéto-pleure est constituée par de petites cellules étalées sur les muscles pariétaux, les éléments de la splanchnopleure sont plus nombreux et plus volumineux mais ils ne présentent aucune caractéristique particulière.

- Dans le coelome, il existe différents types de cellules libres :
- 1° des hémohistoblastes caractérisés par un noyau volumineux entouré d'une plage cytoplasmique peu importante (*fig. 7 : H.*) ;
 - 2° de petits lymphocytes caractérisés par un noyau sphérique riche en chromatine et entouré de très peu de cytoplasme (*fig. 7 : L.*) ;
 - 3° des amœbocytes éosinophiles, de même type que les précédents, mais qui possèdent un cytoplasme plus abondant renfermant des granules éosinophiles ;
 - 4° des amœbocytes basophiles, beaucoup plus volumineux, caractérisés par un hyaloplasme périphérique et un endoplasme dense chargé de granules basophiles (*fig. 9 : A.B.*) ;
 - 5° des phagocytes chargés d'inclusions diverses et notamment de sarcolytes (*fig. 9 : P.*) ;
 - 6° des linocytes fusiformes renfermant des baguettes réfringentes phloxinophiles (*fig. 7 et 8 : Li.*) ;
 - 7° des éléocytes très volumineux chargés de vastes enclaves graisseuses (*fig. 9 : E.*).

Dans le sang existent :

- 1° de petits lymphocytes arrondis ;
- 2° des leucocytes hyalins fusiformes (*fig. 5 : S.*).

Sans préjuger de leur origine ni de l'évolution possible d'une de ces formes en une autre, nous les avons nommées en nous rapprochant le plus possible de la nomenclature des auteurs précédents (ROMIEU : 1923 — FAURE-FREMIET : 1927 — OHUYE : 1937-1938).

Nos opérations n'entament pas les néphridies dans leur partie principale, nous ne les envisagerons pas ici.

Par contre, la chaîne nerveuse ventrale est sectionnée. Elle a été décrite récemment par SMITH (1957) et nous en avons précisé quelques détails (H. HERLANT-MEEWIS ET N. VAN DAMME : 1962).

Les ganglions chevauchent légèrement le dissépiment antérieur du segment auquel ils appartiennent ; quatre nerfs en sont issus. Une section passant derrière le dissépiment entame le ganglion entre les nerfs antérieurs et les nerfs postérieurs. Si la section est antérieure au dissépiment, elle coupe les connectifs en avant du ganglion.

Sur toute sa longueur, la chaîne nerveuse est intimement soudée à la peau ; à l'arrière, elle se termine dans l'ectoderme ventral du pygidium.

Les deux cirres anaux, qui caractérisent la région pygidiale, sont pleins ; ils renferment des cellules mésenchymateuses ; les cavités coelomiques périanales n'y pénètrent pas.

RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX.

A. Cicatrisation :

Comme chez la plupart des Polychètes, la cicatrisation s'opère par l'affrontement des parois ecto- et endodermiques, le tube digestif reste ouvert. Ce mouvement s'accompagne du déroulement de la paroi endodermique. La rupture des muscles du chorion détermine un étalement de la villosité sectionnée et ses éléments conjonctifs entrent ainsi directement en contact avec le coelome (*fig. 6*).

De son côté, l'ectoderme sectionné se rabat vers le tube digestif en extroflexion.

L'intensité de ces phénomènes mécaniques, dus à l'action des muscles, est différente selon le niveau de l'opération. Lorsque la section passe en arrière du dissépiment, l'extroflexion du tube digestif est plus importante (voir schéma I).

Pendant les premiers jours qui suivent la section, le système circulatoire s'enrichit considérablement en lymphocytes et en leucocytes. Ces cellules s'accumulent notamment dans les plexus ecto- et endodermiques.

La *fig. 5*, qui représente la partie extroversée du tube digestif, 24 heures après l'opération, montre un vaisseau dissépimentaire, le capillaire qu'il envoie dans la paroi digestive et les vaisseaux du plexus bourrés de lymphocytes et de leucocytes (S.).

Simultanément, les cavités coelomiques du dernier segment intact ainsi que celles qui ont été ouvertes par l'opération, s'enrichissent en cellules libres de toutes catégories ; les amœbocytes basophiles (*fig. 9 : AB*) sont tout particulièrement nombreux. Cette accumulation d'éléments coelomiques et sanguins dans la région cicatricielle correspond-elle à une réelle multiplication consécutive au traumatisme ou à une concentration d'éléments préexistants venus des régions antérieures ? Dans le premier cas, quel sont les centres formateurs de ces éléments ? Y a-t-il une souche commune ? Les hémohistoblastes décrits par ROMIEU et qui se détachent de l'épithélium coelomique, principalement des muscles obliques, correspondent-ils à cette souche ?

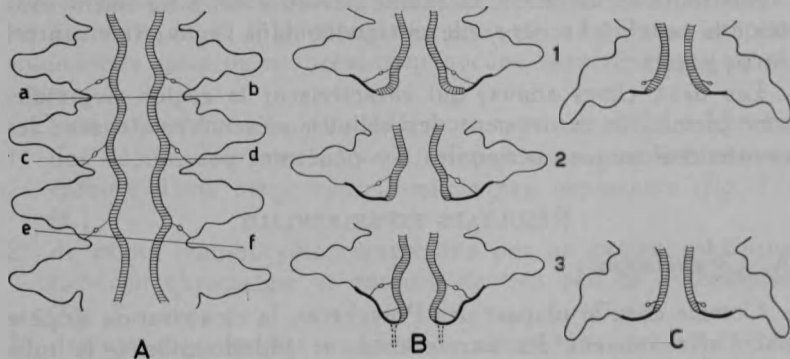


FIG. 1.

- A. — Localisation des sections a-b, c-d, e-f, par rapport au dissépliment.
 B. — Cicatrization après une section a-b : 1 semaine (1), 2 semaines (2) et 3 semaines (3) après l'opération.
 Gros trait noir : ectoderme activé.
 C. — Cicatrization après une section c-d.

Il semble difficile de répondre à ces questions dans l'état actuel de nos connaissances.

Le problème de l'origine des éléments coelomiques et sanguins est loin d'être résolu chez les Polychètes. Nous ne l'aborderons pas dans ce travail. Nous pensons, cependant, que certaines cellules libres pourraient provenir de la splanchnopleure du tube digestif, comme le suggèrent les *fig. 7 et 8*, qui montrent cette paroi au niveau du segment antérieur à l'opération, 17 jours après celle-ci.

En s'étirant, ces cellules semblent se détacher de cette paroi et tomber dans le coelome où elles s'arrondissent.

Parmi ces cellules, on peut distinguer des hémohistoblastes à gros noyaux (H.), des linocytes (Li.), des amœbocytes (A.) plus ou moins chargés de granules basophiles.

Nous n'avons jamais vu aucune de ces cellules se transformer en éléments régénérateurs. Certaines d'entre elles, et notamment les amœbocytes basophiles, nous paraissent néanmoins intervenir, à un autre titre, dans les phénomènes. En effet, au début de la cicatrisation, ils s'introduisent dans les régions basales de l'ectoderme et de l'endoderme au niveau de leur affrontement, c'est-à-dire à l'endroit où ces parois subissent une importante transformation (*fig. II : A.B.*). Dans l'une comme dans l'autre de ces parois, les éléments extra-épithéliaux : vaisseaux sanguins, nerfs, éléments conjonctifs, disparaissent momentanément et un certain nombre de cellules épithéliales s'histolysent. Les amœbocytes basophiles interviendraient peut-être dans cette destruction en sécrétant des enzymes lytiques.

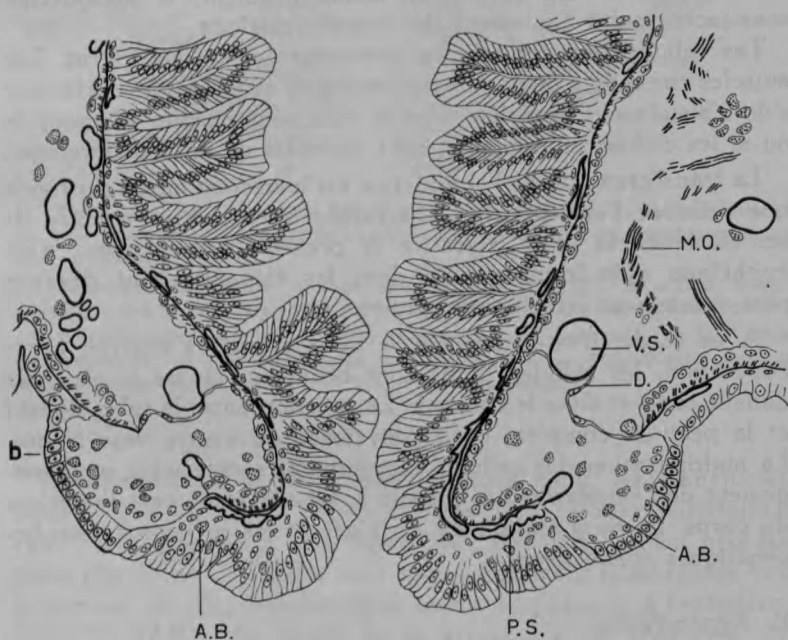


FIG. II. — Schéma d'une coupe frontale médiane de la région cicatricielle 11 jours après l'opération : transformations de l'endoderme et de l'ectoderme.

b. Zone blastogénétique ectodermique à proximité de l'ancien dissélement (D).

A.B. Amœbocytes basophiles. — M.O. Muscles obliques. — P.S. Plexus sanguin endodermique. — V.S. Vaisseaux sanguins.

Les cellules ecto- et endodermiques qui subsistent subissent ensuite une dédifférenciation, elles grossissent, leur noyau s'hypertrophie et la basophilie de leur cytoplasme s'accroît. Les

tonofibrilles disparaissent mais une fine cuticule persiste. Ces cellules s'alignent en un épithélium simple reposant sur une membrane basale très mince (*fig. II et 2*).

La transformation de l'ectoderme s'étend plus ou moins antérieurement selon le niveau de la section par rapport au segment. Si la section a été faite en arrière d'un dissépiment, elle s'observe jusqu'en avant de celui-ci, c'est-à-dire jusqu'à la base des parapodes (*fig. 2 : E.T.*). Par contre, si la section entame le dissépiment et passe par le repli basal des parapodes, c'est l'ectoderme de ces replis qui s'étale vers le tube digestif et subit l'activation (*fig. I*). Comme dans la régénération de toutes les Annélides, ces processus d'activation débutent ventralement et progressent vers le dos.

Simultanément et suivant le même gradient, le mésoderme sous-jacent subit également des transformations.

Les cellules pariétopleurales grossissent et se multiplient. Les muscles circulaires disparaissent sans qu'il soit possible d'affirmer s'ils s'histolysent complètement et s'ils sont ensuite phagocytés ou si les cellules musculaires sont capables de se différencier.

La transformation de l'endoderme est beaucoup moins profonde que celle de l'ectoderme. Débarrassée d'un certain nombre de ses éléments, la paroi digestive se présente sous l'aspect d'un épithélium cylindrique simple dont les éléments sont devenus plus volumineux et plus basophiles.

À ce stade, c'est-à-dire une à deux semaines environ après l'opération, les cellules libres sont beaucoup moins nombreuses dans le sang et dans le coelome. La jonction entre le tube digestif et la peau se complète progressivement du ventre vers le dos. La multiplication des cellules ectodermiques détermine un allongement de l'ectoderme qui refoule le tube digestif vers l'intérieur du corps. La cicatrisation est terminée et les processus morphogénétiques commencent.

B. Régénération :

La multiplication des cellules ectodermiques s'intensifie ventralement, à proximité de sa jonction avec l'endoderme, c'est-à-dire en marge du nouvel anus (*fig. III : a.*). Dans cette région s'isole une cavité coelomique tapissée de muscles circulaires et d'une paroi péritonéale (C.C.). En proliférant, l'ectoderme donne naissance aux cirres anaux qui sont ainsi les premiers à apparaître dans le bourgeon de régénération. En avant de cette région (*b.*), l'ectoderme reste indifférencié, formé de très volumineuses

cellules basophiles ; il constitue la réserve blastogénétique des éléments de la peau du régénérat (*fig. III*). Au fur et à mesure de l'allongement du bourgeon, ces cellules se multiplient et se différencient, les tonofibrilles réapparaissent, la cuticule s'épaissit. Enfin, la pénétration des capillaires sanguins et des nerfs donne à la peau son aspect définitif.

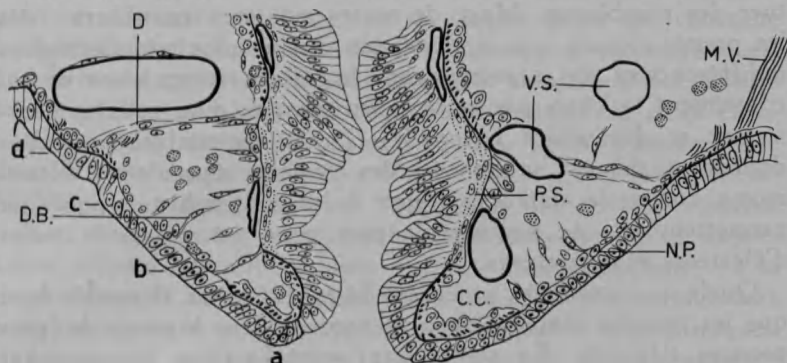


FIG. III. — Schéma d'une coupe frontale passant par la région ventrale du tube digestif 17 jours après l'opération : formation des cavités coelomiques périanales (C.C.).

Ectoderme montrant la zone des cirres anaux (a), la région blastogénétique (b), la région en voie de différenciation (c), la région ancienne (d).

D. Dissépiment ancien. — D.B. Dissépiment du bourgeon. — M.V. Muscles ventraux. — P.P. Néoblastes pariétopleuraux. — P.S. Plexus sanguin endodermique en formation. — V.S. Vaisseaux sanguins.

Simultanément, la paroi mésodermique subit des transformations. Dans la région blastogénétique, les cellules pariétopleurales, volumineuses et très basophiles, ont pris l'aspect néoblastique (*fig. III*, N.P.). Elles sont particulièrement nombreuses ventralement, où elles forment deux cordons appliqués à l'ectoderme (*fig. 2* : N.P.). Au cours de la croissance du régénérat, ces éléments se multiplient et se différencient ; ils donnent naissance aux muscles circulaires et vraisemblablement à tous les éléments des nouveaux dissépiments. Il semble, en effet, que les cellules de la paroi spanchnopleurale subissent des transformations beaucoup moins profondes et ne participent qu'à la régénération de ce feuillet.

En même temps, dans la région basale de l'endoderme, se reconstitue le plexus sanguin (*fig. III* : P.S. et *fig. 4*).

MUSCLES LONGITUNEAUX.

La section a également déterminé la rupture des quatre faisceaux de muscles longitudinaux. Les fibres musculaires lésées s'histolysent et sont phagocytées ; on trouve à proximité de nombreux amœbocytes renfermant des sarcolytes.

A la reconstitution de ces muscles, participent peut-être des cellules musculaires capables de se différencier pour reconstituer des myoblastes. Mais, de toutes manières, on observe, dès les premiers jours, une prolifération des cellules mésodermiques indifférenciées qui accompagnent les fibres musculaires et qui constituent la paroi péritonéale des muscles. Ces cellules grossissent et deviennent basophiles. Il est vraisemblable qu'elles donnent également naissance à des éléments musculaires. Néanmoins, comme le montre la *figure 3*, les images histologiques ne permettent pas de dissocier la part prise par ces deux types d'éléments régénérateurs.

Quels que soient les processus histogénétiques, il semble bien que les muscles longitudinaux se reconstituent à partir de leurs propres éléments. En s'allongeant vers l'arrière, ils pénètrent dans le régénérat.

SYSTÈME NERVEUX.

L'étude du système nerveux est réservée à un autre travail. Nous envisagerons néanmoins ici l'aspect de la chaîne nerveuse au cours de la cicatrisation.

Quel que soit le niveau où la chaîne a été coupée, la section a déterminé la rupture de deux types de fibres nerveuses, qui appartiennent soit aux neurones antérieurs, soit aux neurones postérieurs au niveau de l'opération. Ces dernières, isolées de leur péricaryon, s'histolysent très rapidement ; les autres persistent et ne tardent pas à s'allonger à travers la région cicatricielle.

Lorsque la cicatrisation est terminée et que le tube digestif, en place, s'entoure des cavités coelomiques correspondant aux cirres anaux, les fibres nerveuses en croissance entrent en contact avec l'ectoderme ventral. A cet endroit apparaissent deux massifs de cellules ectodermiques : ce sont les futures cellules nerveuses qui, en s'associant aux fibres et en se différenciant, participeront à l'élaboration de la chaîne nerveuse du régénérat. Ici, comme dans la peau et le tube digestif, la différenciation se fera de l'arrière vers l'avant et le contact de la chaîne nerveuse avec l'ectoderme persistera toujours au cours de la croissance du régénérat.

CONCLUSIONS ET DISCUSSION.

Le maintien des vers opérés à une température de 8 à 10° a permis d'étaler sur une à deux semaines les phénomènes de cicatrisation qui, à 18°, sont terminés en quelques jours. De cette manière, il nous a été possible de dissocier les différents processus d'activation.

Nos résultats confirment ceux de SICARD-BRUSLE, de THOUVENY, de DURAND, de BOILLY et de CLARK en ce qui concerne la régénération indépendante des feuilletts ecto- et endodermiques. Les éléments épithéliaux de ces parois et notamment les cellules ectodermiques possèdent un très grand pouvoir de dédifférenciation : nous avons pu observer qu'une petite blessure faite dans la peau du parapode lors d'une section oblique, par exemple, déclenche immédiatement l'activation des cellules voisines.

Lors d'une section transversale, cette activation, plus importante, s'étend sur une certaine distance et s'accompagne de la disparition des cellules glandulaires, des nerfs et des vaisseaux sanguins caractérisant la base des parois ecto- et endodermiques.

Au niveau du mésoderme, l'interprétation des phénomènes histogénétiques sur coupes histologiques reste beaucoup plus difficile, comme le fait remarquer STEPHAN-DUBOIS.

Deux ordres de phénomènes se manifestent successivement :

- 1° L'accumulation de cellules libres dans le coelome et dans les vaisseaux sanguins de la région lésée : elle se produit immédiatement après la section et caractérise surtout la période de cicatrisation.
- 2° La reconstitution des parois péritonéales, des dissépiments et de toutes les formations mésodermiques : elle débute avec la régénération.
- 1° *Accumulation des cellules libres dans la région cicatricielle :*

Elle a été observée par la plupart des auteurs qui ont étudié la régénération pygidiale. Mais le rôle de ces cellules et leur origine ont reçu les interprétations les plus diverses.

Interviennent-elles comme éléments blastogénétiques ou coopèrent-elles uniquement à la cicatrisation ? Se multiplient-elles sur place ou sont-elles entraînées vers la blessure par les courants coelomique ou sanguin ?

DEHORNE et STEPHAN-DUBOIS pensent que certaines de ces cellules sont susceptibles de s'épidermiser ou de pénétrer dans les tissus cicatriciels pour assurer leur régénération.

De notre côté, nous ne pensons pas que les cellules libres interviennent en tant qu'éléments blastogénétiques. Cependant,

elles nous paraissent indispensables à la cicatrisation et leur rôle demanderait à être éclairci. L'accumulation des cellules libres pourrait être considérée comme un phénomène inflammatoire semblable à l'afflux des leucocytes dans une région lésée chez un Vertébré.

Parmi les nombreuses cellules qui encombrant le coelome de la région cicatricielle, on peut en effet remarquer :

- 1° de nombreux phagocytes renfermant notamment des sarcocytes ; ils ont été fréquemment décrits, notamment tout récemment par CLARK ;
- 2° des amœbocytes plus volumineux qui renferment des granules basophiles se colorant fortement par le bleu alcian après oxydation permanganique : ils s'infiltrèrent dans la région basale de la peau et dans la paroi du tube digestif en activation ; ils pourraient intervenir dans la destruction des éléments qui disparaissent de ces régions. Peut-être secrètent-ils des ferments lytiques ?
- 3° des linocytes : cellules décrites par DEHORNE et considérées par FAURE-FREMIET comme des amœbocytes quiescents doués d'une armature rigide, la nature de ces éléments restant discutée. Nous les avons observés dans toutes les cavités coelomiques des vers ; ils sont particulièrement nombreux dans les zones de multiplication des cellules splanchnopleurales. Dans le cal cicatriciel, elles pourraient servir d'armature rigide ;
- 4° des lymphocytes et des leucocytes, qui se répandent dans le coelome à la suite de la rupture des vaisseaux. Leur accumulation dans les vaisseaux de la région cicatricielle s'expliquera peut-être quand on connaîtra mieux leur origine ; dans ce domaine, la question des « corps cardiaques » de ROMIEU serait à revoir.

2° Reconstitution des parois péritonéales :

Certaines de ces cellules libres interviennent-elles dans la reconstitution du feuillet mésodermique ? Il est clair que, dès le début de la transformation ecto- et endodermique, le mésoderme sous-jacent se modifie également, les muscles circulaires et la pariéto-pleure sont remplacés par des cellules indifférenciées, particulièrement volumineuses dans la région ventrale. Il nous paraît difficile de voir en ces cellules des amœbocytes transformés ; nous n'avons pu saisir aucun stade d'une telle transformation ; c'est pourquoi nous pensons plutôt que les cellules pariéto- et splanchnopleurales sont susceptibles de subir sur

place une activation semblable à celle des cellules ecto- et endodermiques. Néanmoins, leur localisation en bordure du coelome envahi de cellules de toutes espèces, rend les images histologiques assez confuses et susceptibles d'être interprétées de plusieurs manières, comme le montrent les avis opposés de BOILLY et de CLARK.

En conclusion, il semble bien que chez *Nereis diversicolor*, chacun des tissus peut se réparer à partir de ses propres éléments capables de s'activer sur place ; il n'existe pas de cellules indifférenciées de réserve, ni de néoblastes migrants.

Ces résultats ne doivent évidemment pas être généralisés à tous les Polychètes. On sait que le pouvoir de réparation dépend de la constitution des tissus qui, selon les espèces, peuvent être plus ou moins profondément différenciés ou renfermer des cellules de réserve. PROBST l'a fort bien montré en comparant deux Polychètes sédentaires et nous sommes arrivées à la même conclusion dans le groupe des Oligochètes.

Les résultats expérimentaux contradictoires obtenus par STEPHAN-DUBOIS et par BOILLY nous paraissent pouvoir s'expliquer sur la base de ces différences de constitution histologique.

L'application de rayons X sur des tissus d'Oligochètes, fort peu différenciés et riches en éléments de réserve, déterminerait la destruction de ces cellules : dès lors, la régénération ne serait possible que par un nouvel apport d'éléments embryonnaires, plurivalents, sous la forme de néoblastes migrants.

Chez les Polychètes, où les tissus sont beaucoup plus différenciés et où il n'existe pas de cellules de réserve, une certaine dose de rayons X pourrait détruire certains coelomocytes libres tout en laissant les cellules épithéliales suffisamment intactes pour qu'elles restent capables de se différencier.

Dès lors, la cicatrisation et le début de la régénération, qui nous paraissent dus à l'action combinée des cellules activées et des coelomocytes libres, restent possibles si la zone cicatricielle se colonise à nouveau en coelomocytes sains.

Si la dose de rayons X est telle que les cellules différenciées sont également atteintes, la régénération devient impossible.

En conclusion, chez *Nereis diversicolor*, les périodes de cicatrisation et de début de régénération, au cours desquelles les neurhormones semblent nécessaires, sont caractérisés par deux ordres de faits : l'accumulation des coelomocytes dans la région cicatricielle et l'activation des éléments des trois feuillets.

Ces deux phénomènes ou l'un d'eux se trouvent-ils sous la dépendance de phénomènes neurosécrétoires ?

Le rôle de certains coelomocytes dans le transport de la neurosécrétion a été évoqué à différentes reprises chez les Insectes (WIGGLESWORTH : 1956 ; HERLANT-MEEWIS ET PAQUET : 1956 ; LUKOSCHUS : communication écrite) et chez les Opilions (NAISSE : 1959).

Mais avant de découvrir les liens qui unissent phénomènes neurosécrétoires et régénération chez les Annélides, une étude approfondie des coelomocytes et des éléments du sang par des techniques modernes telles la culture de tissus et d'organes et la microscopie électronique nous paraissent indispensables.

Dans leur récent travail, paru au cours de l'impression de celui-ci, CLARK ET CLARK confirment, chez *Nephtys*, la constitution du mésenchyme du bastème à partir de coelomocytes qui prennent un aspect de fibroblastes auxquels s'ajoutent des fragments nucléés de cellules musculaires qui, en se différenciant, affectent le même aspect : ces éléments contribuent essentiellement à l'élaboration du mésoderme du régénérat.

SUMMARY.

Two important facts characterize the cicatrisation of Nereis diversicolor :

- 1° an accumulation of free coelomocytes at the junction between the ectoderm and the endoderm ;*
- 2° the dedifferentiation of previously differentiated cells in both these layers.*

During the first stages of regeneration, the parietopleural stratum also becomes undifferentiated, later yielding the mesodermic tissues.

The splanchnopleural layer also reforms itself from its own elements and perhaps gives rise to the free coelomocytes.

BIBLIOGRAPHIE.

- ARVY, L. (1954). — Contribution à l'étude de la neurosécrétion chez les Annélides Polychètes sédentaires. *Bull. Lab. marit. Dinard*, **40**, 15-24.
- BOBIN, G. et DURCHON, M. (1953). — Sur le cerveau d'une Annélide en voie de transformation hétéronéréidienne (*Perinereis cultrifera* GRUBER) et sur le déroulement d'un phénomène neurosécréteur. *Arch. Anat. micr. Morph. exp.*, **42**, 112-126.
- BOILLY, B. (1962). — Inhibition de la régénération caudale par irradiation X chez *Syllis amica* QUATREFAGES (Annélide Polychète). *C. R. Acad. Sci., Paris*, **255**, 1414-1416.
- BOILLY, B. (1962). — Origine des cellules dans la régénération postérieure de *Syllis amica* QUATREFAGES (Annélide Polychète). *C. R. Acad. Sci., Paris*, **255**, 2198-2200.
- BOILLY-MARER, Y. (1962). — Inhibition de transformations hétéronéréidiennes par le cerveau d'espèces sans épitoque (Néréidiens - Annélides Polychètes). *C. R. Acad. Sci., Paris*, **254**, 2830-2832.
- CASANOVA, G. (1955). — Influence du prostomium sur la régénération caudale chez *Platynereis massiliensis* (MOQUIN-TANDON). *C. R. Acad. Sci., Paris*, **240**, 1814-1816.

- CLARK, R.B. (1956). — The neurosecretory system of the Polychaete *Nereis* and its role in reproduction. *Abs. XX int. physiol. Congr., Bruxelles*, 178.
- CLARK, R.B. and CLARK, M.E. (1959). — Role of the supra-oesophageal ganglion during the early stages of caudal regeneration in some errant Polychaetes. *Nature, Lond.*, **183**, 1834.
- CLARK, R.B. and BONNEY, D.G. (1960). — Influence of the supra-oesophageal ganglion on posterior regeneration in *Nereis diversicolor*. *J. Embryol. exp. Morph.*, **8**, 112-118.
- CLARK, R.B., CLARK, M.E. and RUSTON, R.J.G. (1962). — The Endocrinology of Regeneration in Some Errant Polychaetes, in *Neurosecretion*, HELLER, H. and CLARK, R.B. *Edit.*, Acad. Press, New York, 1962.
- DEFRETIN, R. (1956). — La neurosécrétion des polyosides et ses rapports avec l'épitoque chez les Néréidiens. *Ann. Sci. nat. (Zool.)*, **xi**, 18, 209-222.
- DEHORNE, R. (1949). — Les premières phases de la régénération postérieure de *Nereis diversicolor*. *Arch. Zool. exp. gén.*, notes et revues, **86**, 97-102.
- DURAND, A. (1959). — Sur la régénération postérieure de l'Annélide *Dasychone lucullana* (DELLE CHIAJE). *C. R. Acad. Sci., Paris*, **249**, 185-186.
- DURCHON, M. (1960). — L'endocrinologie chez les Annélides Polychètes. *Bull. Soc. Zool. Fr.*, **85**, 275-301.
- FAULKNER, G.H. (1932). — The Histology of posterior regeneration in the Polychaete *Chaetopterus variopedatus*. *Journ. of Morph.*, **53**, 23-58.
- FAURE-FREMIET, E. (1927). — Les amibocytes des Invertébrés. *Bull. d'Hist. appliquée*, **4**, 33-39.
- HARMS, W.R. (1948). — Ueber ein inkretorisches Cerebralorgan bei Lumbriciden sowie Beschreibung eines verwandten Organs bei drei neue Lyncastis Arten. *Arch. Entw. Mech.*, **143**, 332-346.
- HAUENSCHILD, C. (1959). — Zyklische Veränderungen an den inkretorischen Drüsenzellen im Prostomium des Polychaeten *Platynereis dumerilii* als Grundlage der Schwärmperiodizität. *Z. Naturforsch.*, **14**, 81-87.
- HERLANT, M. (1958). — L'hypophyse et le système hypothalamo-hypophysaire du Pangolin (*Manis tricuspis* et *Manis tetradactyla*). *Arch. Anat. micr. Morph. exp.*, **47**, 1-24.
- HERLANT-MEEWIS, H. (1947). — Contribution à l'étude de la régénération chez les Oligochètes. *Ann. Soc. R. Zool. Belg.*, **77**, 5-47.
- HERLANT-MEEWIS, H. (1954). — Etude histologique des Aelosomatidae au cours de la reproduction asexuée. *Arch. Biol.*, **65**, 73-134.
- HERLANT-MEEWIS, H. et PAQUET, L. (1956). — Neurosécrétion et mue chez *Carausius morosus* BRDT. *Ann. Sc. Nat., Zool.*, **11**° Série, **18**, 163-169.
- HERLANT-MEEWIS, H. et VAN DAMME, N. (1962). — Phénomènes neuro sécrétoires chez *Nereis diversicolor* et *Eisenia foetida*. *C. R. Acad. Sci., Paris*, **255**, 2291-2293.
- HERLANT-MEEWIS, H. and VAN DAMME, N. (1962). — Neurosecretion and Wound-healing in *Nereis diversicolor*. *Mem. Soc. Endocr. Bristol*, **12** (Neurosecretion), 287-295.
- HUBL, H. (1956). — Ueber die Beziehungen der Neurosekretion zum Regenerationsgeschehen bei Lumbriciden nebst Beschreibung eines neuartigen neurosekretorischen Zelltyps im Unterschlundganglion. *Arch. Entw. Mech. Org.*, **149**, 73-87.
- KORN, H. (1958). — Vergleichend-embryologische Untersuchungen an *Harmonothoe KINBERG*, 1857 (Polychaeta, Annelida). Organogenese und Neurosekretion. *Z. wiss. Zool.*, **161**, 345-443.
- KRECKER, F.H. (1923). — Origin and activities of the neoblasts in the regeneration of *Microdrilus annelides*. *Journ. Exp. Zool.*, **37**.
- NAISSE, J. (1959). — Neurosécrétion et glandes endocrines chez les Opihions. *Arch. Biol.*, **70**, 217-264.
- OHUYE, T. (1937-1938). — On the coelomic corpuscles... VII, X et XI. *Sc. Rep. Tôhoku Imp. Univ., Sendai*, ser. 4, **12**, 203-252 ; 593-622 ; 623-628.

- PROBST, G. (1931). — Beiträge zur Regeneration der Anneliden. I. Die Herkunft des Regenerationsmaterials bei der Regeneration des kaudalen Körperendes von *Aricia foetida*. *Roux' Arch.*, **124**, 369-403.
- PROBST, G. (1932). — Studien über die Regeneration der Anneliden. II. Die Anfangsstadien der Regeneration des Körperendes von *Owenia fusiformis* nebst einigen Beobachtungen über strukturelle Umgestaltungen in unverletzten Abdominalsegmenten zur Zeit der Gonadenreife. *Roux' Arch.*, **127**, 105-150.
- RANDOLPH, H. (1892). — The regeneration of the tail in *Lumbriculus*. *Zool. Anz.*, **14**, J. Morph., **7**.
- ROMIEU, M. (1923). — Recherches histophysiologiques sur le sang et sur le corps cardiaque des Annélides Polychètes. Contribution à l'histologie comparée du sang. *Arch. Morph. Gén. et Exp.*, fasc. **17**, 1-339.
- SCHAEFER, K. (1939). — Lage und Sekretion im Gehirn von *Nereis diversicolor* MÜLLER. *Zool. Anz.*, **125**, 195-202.
- SCHARRER, B. (1936). — Ueber Drüsenervenzellen im Gehirn von *Nereis virens* Sars. *Zool. Anz.*, **113**, 299-302.
- SCHARRER, B. (1937). — Ueber sekretorisch tätige Nervenzellen bei wirbellosen Tieren. *Naturwissenschaften*, **25**, 131-138.
- SICARD-BRUSLE, S. (1957). — Source de l'histogenèse dans la régénération caudale de l'Annélide *Nereis massiliensis*. *C. R. Acad. Sci.*, **241**, 1175-1177.
- SMITH, J.E. (1957). — The nervous anatomy of the body segments of Nereid Polychaetes. *Phil. Trans. roy. Soc. London*, ser. B, **240**, 136-196.
- STEPHAN-DUBOIS, F. (1954). — Les néoblastes dans la régénération postérieure des Oligochètes microdriels. *Bull. Biol. France et Belg.*, **38**, 181-247.
- STEPHAN-DUBOIS, F. (1956). — Evolution du régénérat caudal de *Nereis diversicolor* après irradiation régionale aux rayons X. *Bull. Soc. Zool. France*, **81**, 199-207.
- STEPHAN-DUBOIS, F. (1958). — Le rôle des leucocytes dans la régénération caudale de *Nereis diversicolor*. *Arch. Anat. Micr.*, **47**, 605-652.
- THOUVENY, Y. (1958). — Sur l'origine des tissus dans la régénération caudale de *Polydora flava* (Annélide Polychète). *C. R. Acad. Sci.*, **247**, 137-139.
- VANNINI, E. (1947). — Neoplasti e rigenerazione dei segmenti genitali nel serpulide ermafrodita *Salmacina incrustans*. *Ist. Veneto S. L. ed. A.*, **105**, 50-56.
- WIGGLESWORTH, V.B. (1956). — The functions of the amoebocytes during moulting in *Rhodnius*. *Ann. Sci. Nat., Zool. et Biol. Anim.*, **18**, 11^e Série, 139-144.
- Paru au cours de la présente publication :
- CLARK, M.E. and CLARK, R.B. (1962). — Growth and Regeneration in Nephrys. *Zool. Jb. Physiol.*, **70**, 24-90.

PLANCHE I.

FIG. 1. — *Nereis diversicolor*. — Peau normale au niveau du 40^e espace interparapodial.

C Muscles circulaires. — N. Nerfs ectodermiques. — O. Muscles obliques.

FIG. 2. — Même région 15 jours après l'opération :

X. Soudure de l'ectoderme différencié et basophile à l'endoderme. — E.T. Ectoderme en transformation. — N.P. Néoblastes pariétoleux.

FIG. 3. — Régénération des muscles longitudinaux 8 jours après l'opération.

FIG. 4. — Régénération 17 jours après l'opération. — Annotations: voir schéma fig. 3.

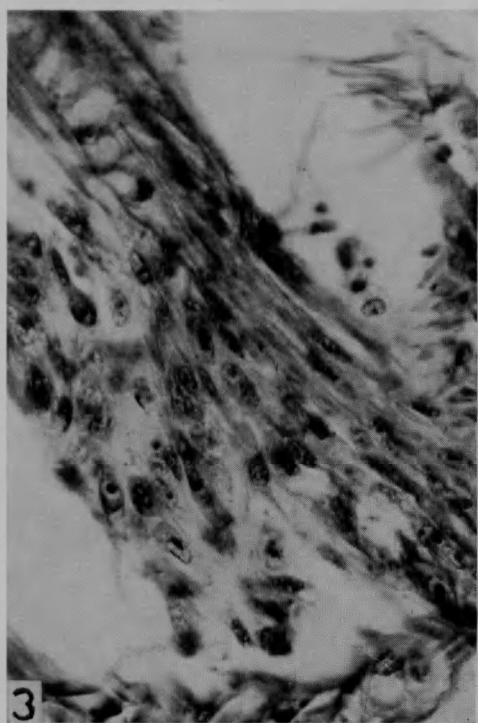
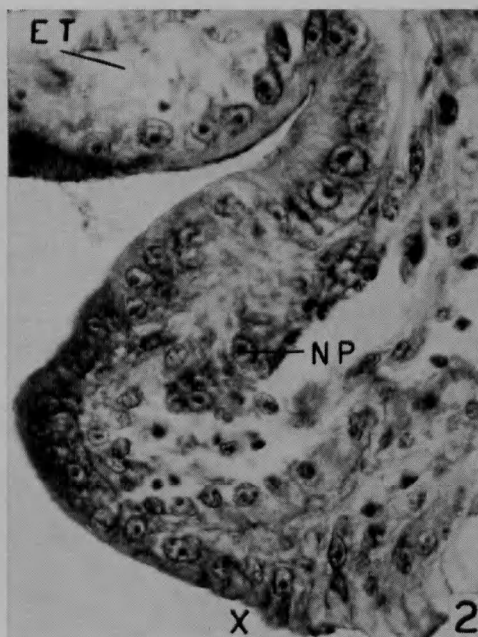
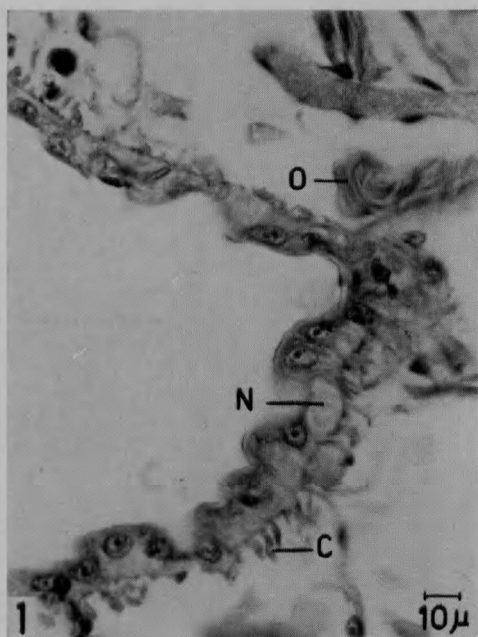


PLANCHE II.

FIG. 5. — Région cicatricielle 1 jour après l'opération: Intestin extroversé.
S Vaisseau sanguin renfermant des lymphocytes et des leucocytes.

FIG. 6. — Région cicatricielle 1 jour après l'opération : aspect général.

FIG. 7. — Splanchnopleure du segment antérieur à la section 17 jours après l'opération : région supérieure gauche de la fig. 4.

A. Amœbocyte. — H. Hémohistoblaste — L. Lymphocyte. — Li. Lino-
cyte.

FIG. 8. — Autre région splanchnopleurale du même segment.

A. Amœbocyte. — Li. Linoocyte. — S. Plexus sanguin endodermique. —
G. Prolongements granuleux des cellules conjonctives.

FIG. 9. — Cal cicatriciel 1 jour après l'opération : X-Y : espace libre entre l'ectoderme et l'endoderme extroversé.

A.B. Amœbocyte basophile. — E. Éléocyte. — P. Phagocyte. — S. Vais-
seau sanguin.

