

Étude ultra-structurale de la glande digestive du homard *Homarus gammarus*. Rôle des divers types cellulaires dans les processus digestifs.

F. Paquet*, P. Germain* et P. Fritsch**

*Institut de Protection et de Sûreté Nucléaire (IPSN/CEA)
Département de Protection de l'Environnement et des Installations
UREMM-LERFA - 50444 Beaumont-Hague Cedex
** Laboratoire de Cancérologie Expérimentale
CEA/DSV/DPTE
CEN de Fontenay-aux-Roses - BP 6
92260 Fontenay-aux-Roses Cedex

Résumé : Une étude ultra-structurale est effectuée sur la glande digestive du homard *Homarus gammarus*. Ce travail montre la coexistence de 5 types cellulaires, dont 4 seulement sont impliqués dans les processus digestifs. L'un d'entre eux (type E) a des caractéristiques embryonnaires et se différencie, au cours du cycle digestif, en cellules de type F ou de type R. Les cellules F sont impliquées dans des processus sécrétors alors que les cellules R sont responsables de la résorption et du stockage à long terme d'éléments nutritifs. Un seul type cellulaire (type B) est impliqué dans l'incorporation des nutriments et dans leur digestion. Enfin le cinquième type cellulaire correspond en fait à des cellules sanguines s'insinuant entre les cellules hépatopancréatiques, et agissant comme les macrophages des vertébrés.

Abstract : An ultra-structural study is realised on the digestive gland of the lobster *Homarus gammarus*. This work shows the presence of five cellular types, four of them being involved in the digestive processes. One type (E-cell) has embryonic characteristics and differentiate, along digestive cycle, into F-cells or R-cells. F-cells appear to play a role in secretory processes, whilst R-cells are responsible for resorption and long-term retention of nutrients. Only one type (B-cell) is involved in nutrient incorporation and digestion. The fifth cellular type are in fact blood cells, which penetrate into hepato-pancreatic tissue and act as the vertebrate macrophage cells.

INTRODUCTION

Les processus digestifs chez les crustacés décapodes ne sont pas encore bien connus. Le rôle de la glande digestive dans les phénomènes d'accumulation, de stockage et d'élimination des éléments ingérés est établi mais les mécanismes exacts restent à définir. Les premières études morphologiques effectuées sur la glande digestive des crustacés ont montré que cet organe était constitué de tubules digestifs, reliés entre eux par des canaux primaires et secondaires. Les études ultra-structurales mettent en évidence la coexistence de 4, voire 5 types cellulaires distincts (voir synthèse générale dans Paquet, 1991). Barker et Gibson (1977), en travaillant sur le homard *Homarus gammarus* montrent pour la première fois l'existence d'une phase intracellulaire dans la digestion des crustacés décapodes. Leurs conclusions sont reprises en partie par Hopkin et Nott (1980), Al-Mohanna *et al.* (1985), Al-Mohanna et Nott (1986, 1987a et b) et Caceci *et al.* (1988), mais divergent quant au rôle exact joué par chacun des types cellulaires lors des phénomènes digestifs.

Nous avons tenté d'approfondir le sujet en effectuant une étude ultra-structurale de la glande digestive du homard *H. gammarus*. Ce genre d'étude est inexistant pour cette espèce et les résultats acquis lors de cette étude pourront être comparés à ceux obtenus chez d'autres crustacés décapodes.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Deux homards mâles, d'un poids moyen de $504 \text{ g} \pm 23 \text{ g}$ et en stade C4 d'intermue, sont maintenus en bacs individuels de 20 l, remplis chacun de 15 l d'eau de mer à 14°C . Les animaux sont acclimatés pendant quelques jours et sont nourris de façon régulière par ingestion quotidienne d'une moule. 24 heures après la dernière ingestion, les animaux sont étourdis par passage au froid pendant quelques minutes, puis rapidement disséqués. L'hépatopancréas (= midgut) est prélevé et découpé sur papier bristol dans quelques gouttes de solution A (glutaraldéhyde 6 %, 2 vol. ; tampon cacodylate 0,4 M, 1 vol. ; NaCl 7 %, 1 vol.). De petits fragments d'organe sont transférés dans 10 ml de mélange fixateur (Sol. A) et agités jusqu'à dissociation partielle des tubules de l'hépatopancréas. Ces tubules sont alors récupérés à l'aide d'un fil de soie et sont fixés 2 heures à 4°C dans 10 ml de solution A + 0,03 % de CaCl₂. La solution finale a un pH de 7,8 et une pression osmotique $P = 1\ 100 \text{ mosm}$. Après cette étape les tubules sont rincés par trois bains (15 min, 45 min puis 12 heures) dans la solution B (Tampon cacodylate 0,4 M, 1 vol. ; NaCl 4 %, 1 vol.) + 0,03 % de CaCl₂. La solution finale développe une pression osmotique $P = 1\ 100 \text{ mosm}$ pour un pH = 7,8. Les tubules sont ensuite transférés dans 10 ml de solution C (Os04 2 %, 2 vol. ; Tampon cacodylate 0,4M, 1 vol. ; NaCl 10 %, 1 vol.) + 0,03 % de CaCl₂ à pH = 7,8 et $P = 1\ 100 \text{ mosm}$. Cette postfixation est effectuée durant 90 min à 4°C . Les fragments sont ensuite rincés à l'eau distillée, déshydratés dans des bains successifs d'éthanol de concentration croissante, puis inclus dans l'épon. Les blocs sont débités à l'aide d'un ultra-microtome LKB avec couteau de diamant. Les coupes sont contrastées par de l'acétate

PLANCHE I

Étude en Microscopie Électronique à Transmission (MET) des cellules de type F.

Photo 1 (x 16 000). *Partie apicale des cellules F*

Les microvillosités apicales sont bien développées mais aucun signe d'invagination de la membrane n'est à noter.

Quelques mitochondries sont dispersées dans le cytoplasme.

Photo 2 (x 27 200). *Appareil de Golgi*

Les saccules golgiens sont très développés, indiquant de fortes synthèses protéiques.

Photo 3 (x 16 000). *Détail de l'ergastoplasme*

Le Réticulum Endoplasmique Rugueux (RER) des cellules F est très développé et occupe la majeure partie du cytoplasme.

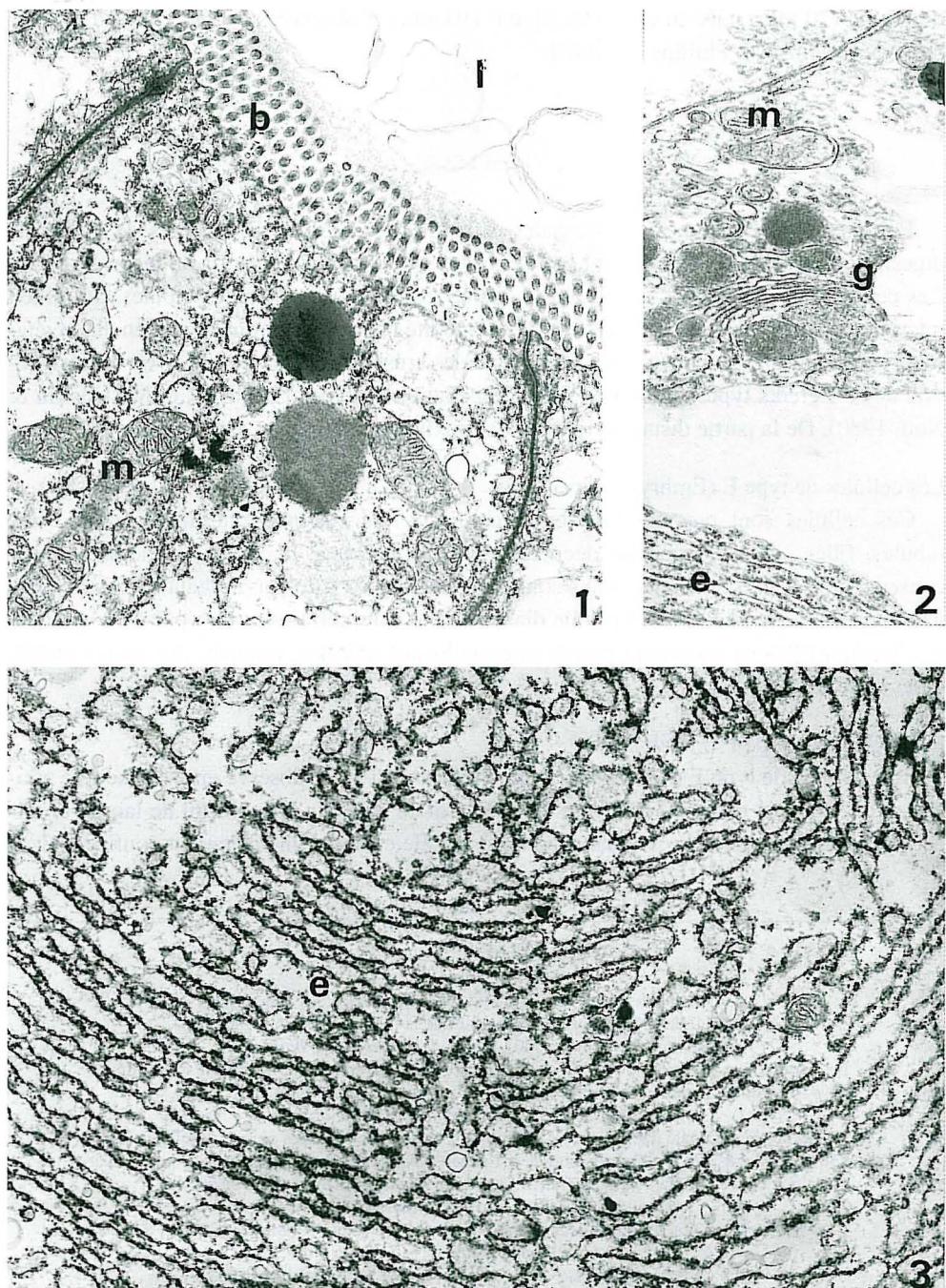
b : bordure en brosse

l : lumières des tubules

e : ergastoplasme

m : mitochondries

g : appareil de Golgi



d'uranyl (20 min) puis du citrate de plomb (10 min) et observées sur microscope électronique à transmission Phillips EM 400T.

RÉSULTATS

La réalisation de coupes transversales et longitudinales dans les tubules de la glande digestive, permet de relever l'existence de cinq types cellulaires, répartis de façon distincte. Ces cellules sont disposées sur une seule assise séparant la lumière des tubules, du milieu intérieur de l'animal. Pour des raisons de commodité nous reprendrons la nomenclature établie par de nombreux auteurs pour l'ensemble des crustacés décapodes, à savoir la désignation des différents types cellulaires sous l'appellation de types E, F, B, R et M (Hopkin & Nott, 1980). De la partie distale vers la partie proximale des tubules, on distingue :

Les cellules de type E (Embryonnaire)

Ces cellules sont peu nombreuses et confinées dans la partie terminale (apex) des tubules. Elles ont été largement décrites par Al-Mohanna *et al.* (1985) et ne seront, par conséquent, pas présentées ici. Elles sont de petite taille, ($\simeq 20 \mu\text{m}$ de hauteur) et contiennent toutes un noyau de 8 à 10 μm de diamètre qui, dans certains cas, se présente en cours de division. Elles ne possèdent pas de microvillosités apicales, typiques des autres grands types cellulaires.

Les cellules de type F (Fibrillaire)

Les cellules de type F doivent leur nom à leur aspect strié, observé en microscopie photonique. Elles sont de forme allongée (30 à 50 μm de haut sur 10 à 15 μm de large), terminées par une bordure en brosse dans la partie apicale et sont principalement confinées dans

PLANCHE II

Étude en Microscopie Électronique à Transmission (MET) des cellules de type R :
détail des parois apicales et basales de la membrane plasmique.

Photos 1 et 2 (x 16 000). *Détail de la membrane basale*

De nombreuses invaginations de la membrane sont à noter, en continuité avec le Réticulum Endoplasmique Lisse (REL). Celui-ci est très développé dans cette zone.

Photo 3 (x 25 000). *Détail de la membrane apicale*

La bordure apicale des cellules R est constituée de microvillosités qui se prolongent dans le cytoplasme par un filament droit de $\simeq 1 \mu\text{m}$ de longueur. Les microvillosités sont tapissées par un très fin manteau cellulaire. Aucune invagination n'est notée à ce niveau.

Photo 4 (x 6 760). *Détail de la membrane apicale*

Quelques mitochondries sont localisées au niveau de la membrane apicale.

Aucune invagination n'est à noter.

b : bordure en brosse

m : mitochondries

cr : corps résiduels

ma : membrane apicale

h : hémolymphé

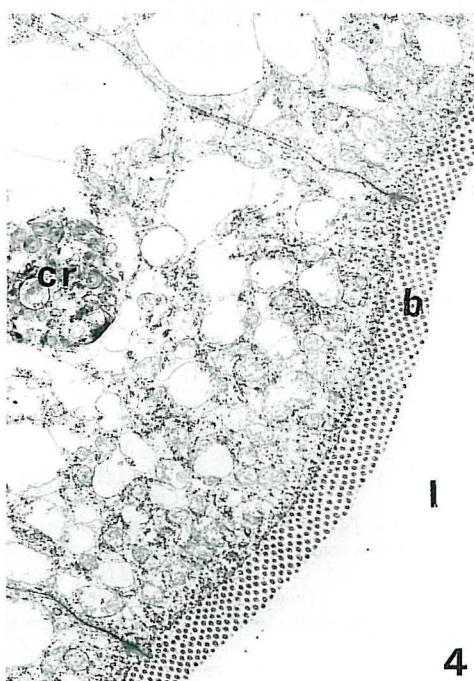
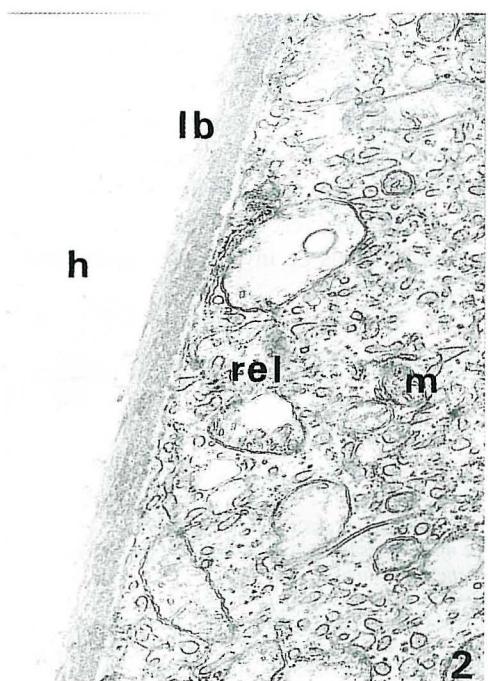
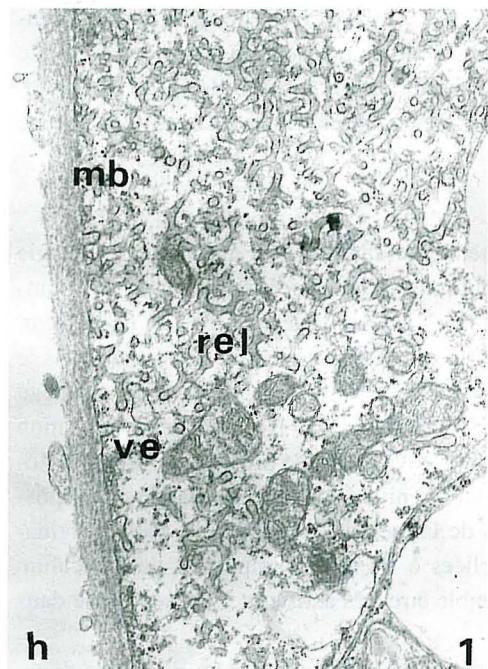
mb : membrane basale

l : lumière des tubules

rel : réticulum endoplasmique lisse

lb : lame basale

ve : vacuoles d'endocytose



la partie distale de chaque tubule (Pl. I). Le noyau (≈ 9 à $10 \mu\text{m}$) occupe une position centrale, voire médio-basale et renferme un gros nucléole. L'étude présente laisse apparaître de nombreux ribosomes libres, de nombreuses mitochondries, un appareil de Golgi important et un réticulum endoplasmique rugueux (RER) extrêmement développé. La partie basale de la cellule ne présente aucune particularité.

Les cellules de type R (Résorptif)

Ces cellules sont présentes sur toute la longueur des tubules. Elles ont une morphologie comparable aux cellules de type F, mais diffèrent toutefois des précédentes par de très nombreuses inclusions lipidiques et corps résiduels. Elles mesurent de 50 à $60 \mu\text{m}$ de hauteur, sont typiquement multivacuolaires et constituent le type cellulaire le plus représenté dans le tubule. La membrane apicale est formée de microvillosités surmontées d'un fin manteau cellulaire, probablement constitué de mucopolysaccharides (Pl. II). Aucune invagination de la membrane n'est notée à ce niveau, mais les microvillosités se prolongent dans le cytoplasme par un filament droit de $1 \mu\text{m}$ de longueur. Au niveau de la partie basale, il est possible de noter de très nombreuses invaginations de la membrane plasmique. Ces invaginations produisent des vacuoles d'endocytose, reliées à un réseau important de Réticulum Endoplasmique Lisse (REL). Ce phénomène semble être très actif et ne s'observe que dans les cellules de type R (Pl. II).

Le noyau (≈ 7 - $8 \mu\text{m}$) a une position médio-apicale et est entouré par un RER bien développé. Le système de Golgi est également important et de très nombreuses mitochondries sont concentrées dans la partie apicale de la cellule, sous la bordure en brosse. Le cytoplasme est occupé par de nombreuses inclusions lipidiques de diamètre compris entre 0,5 et $15 \mu\text{m}$ (Pl. III) et par des inclusions d'aspect myélinique (Pl. IV). Ces corps résiduels mesurent entre 1 et environ $10 \mu\text{m}$ de large et sont séparés du reste cytoplasmique par une membrane limitante. Du glycogène est disséminé dans tout le cytoplasme de la cellule, de façon plus ou moins diffuse (Pl. III). L'abondance de lipides et corps résiduels d'une part, et de glycogène d'autre part, semblent respectivement être proportionnels ou inversement proportionnels à la distance les séparant du fond du tubule (Paquet, 1991).

PLANCHE III

Étude en MET des cellules de type R : particularités cytoplasmiques.

Photo 1 (x 6 760). Lipides des cellules R

De très nombreux lipides sont présents dans tout le cytoplasme des cellules de type R.

Il est à noter que leur nombre va croissant, de la partie distale vers la partie proximale des tubules.

Photo 2 (x 19 200). Glycogène des cellules R

Du glycogène est disséminé dans tout le cytoplasme de certaines cellules R.

Il semblerait que les seules cellules concernées soient celles situées dans la partie distale des tubules.

Photo 3 (x 24 800). Appareil de Golgi

L'appareil de Golgi des cellules R est bien développé et présent au sein d'un ergastoplasme important.

cr : corps résiduels

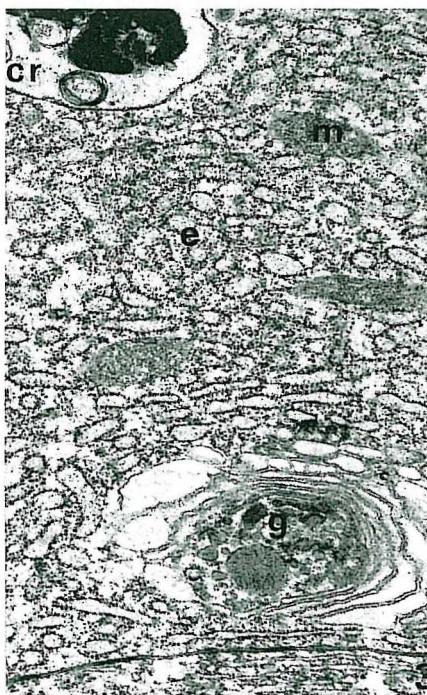
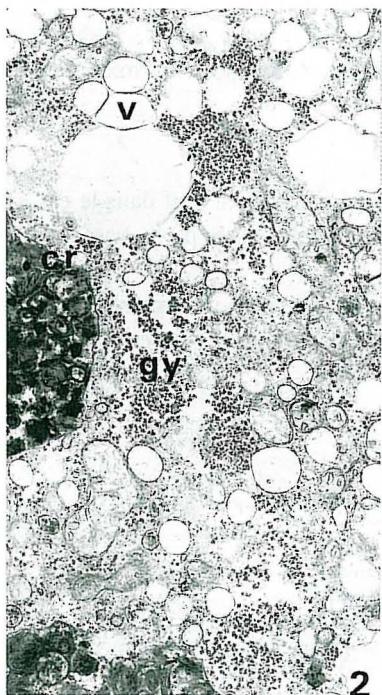
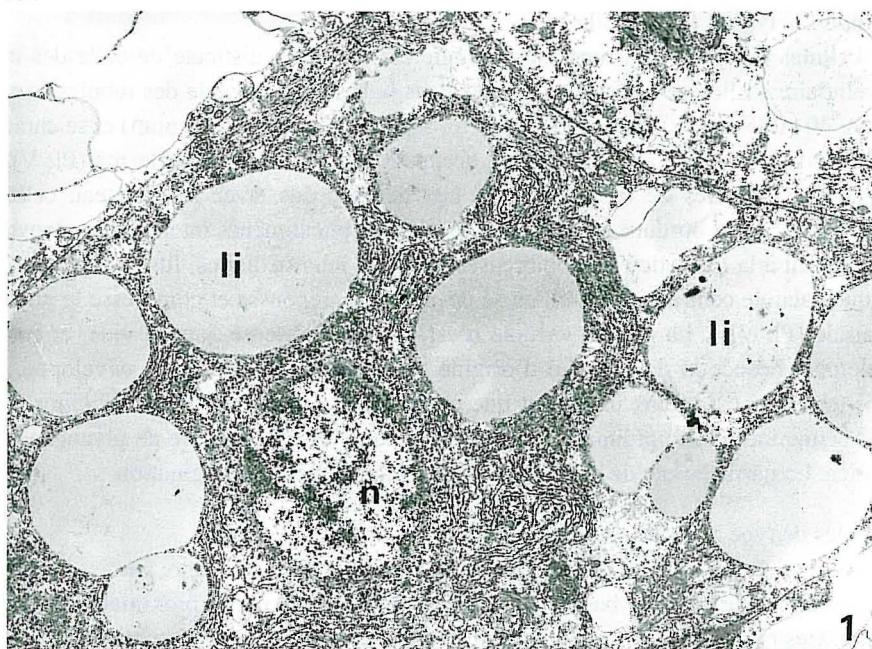
gy : glycogène

e : ergastoplasme

li : lipides

g : appareil de Golgi

v : vacuoles



Les cellules de type B (Blister-like)

Les cellules de type B ont une morphologie extrêmement distincte de celle des autres types cellulaires. Elles ne sont présentes que dans la moitié proximale des tubules et mesurent entre 30 et 35 µm de hauteur. Elles ont un aspect renflé (d'où leur nom) et se caractérisent par l'existence d'une grande vacuole occupant 80 à 90 % du cytoplasme (Pl. V). Les microvillosités apicales de la cellule sont très développées, avec un manteau cellulaire abondant (Pl. VI). La bordure en brosse est le siège de phénomènes intenses d'endocytoses, qui conduisent à la formation de nombreuses vacuoles intermédiaires, fusionnant peu à peu à l'unique vacuole centrale. Celle-ci, en se développant, repousse et compresse le noyau en zone basale (Pl. VII). La grande vacuole n'est, au stade observé, jamais vide, et contient probablement beaucoup de matériel d'origine exogène. Le RER est peu développé, et le système de Golgi est moins important que celui observé dans les types cellulaires précédents. Aucune inclusion lipidique, aucun corps résiduel et aucune trace de glycogène n'est répertoriée. La partie basale de la cellule n'est le siège d'aucune invagination.

Les cellules de type M (Midget cell.)

Les cellules de type M sont de petites cellules imbriquées entre deux autres types cellulaires, au niveau de la lame basale, essentiellement dans la partie proximale des tubules (Pl. VIII). Ces cellules ne possèdent aucun contact avec la lumière des tubules digestifs, et d'ailleurs, ne présentent pas de microvillosités apicales. Le cytoplasme est garni de nombreux granules denses aux électrons, et d'un noyau bien développé. Il est possible de noter, sur certains clichés, l'élaboration de pseudopodes qui se déploient au détriment de cellules voisines (Pl. VIII, 1).

Étude des jonctions intercellulaires

Les membranes latérales des cellules sont en général rectilignes, sauf dans le cas de certaines cellules de type R, présentant quelques interdigitations dans la partie basale (Pl. IX, 6 et 7).

De nombreux points de fusion ou d'élargissement de l'espace intermembranaire sont à noter, principalement dans la partie médio-apicale des cellules. L'extrémité apicale des

PLANCHE IV

Étude en MET des cellules de type R : morphologie des corps résiduels.

Photo 1 (x 13 280). Vue générale

De très nombreux corps résiduels sont observables dans les cellules R âgées (situées dans la moitié proximale des tubules). Ces corps résiduels renferment de nombreuses structures d'aspect myélinique, associées à des corps plus denses.

Photo 2 (x 25 000). Détail d'un corps résiduel

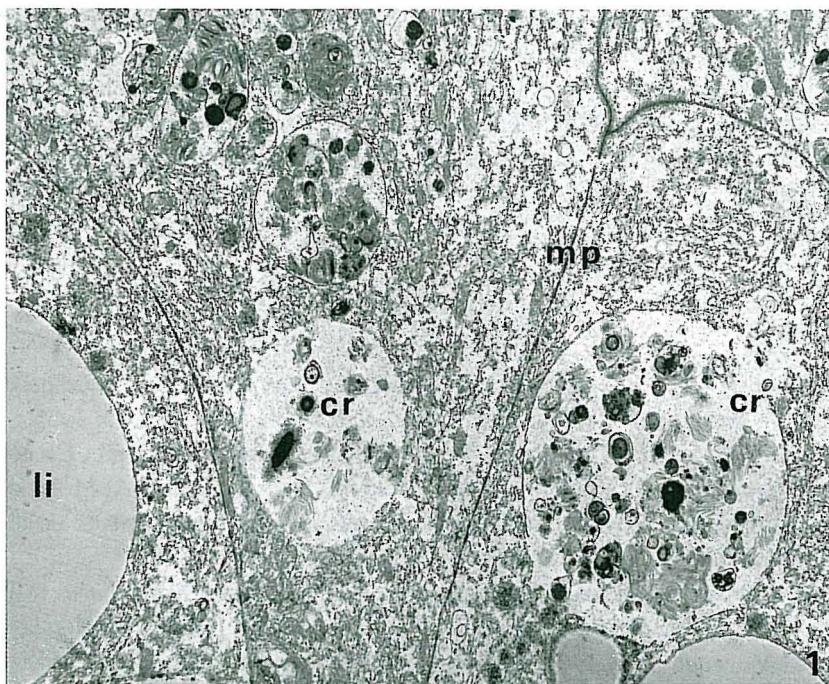
L'ensemble est constitué de débris divers, compartimentés par de nombreux replis membranaires.

cr : corps résiduels

li : lipides

fm : figures myéliniques

mp : membrane plasmique



jonctions cellulaires est toujours terminée par une zone dense aux électrons, proche des desmosomes des mammifères. Cet ensemble de "jonctions serrées" et de desmosomes empêche le passage direct des nutriments de la lumière des tubules vers l'hémolymphé via l'espace intermembranaire, et, surtout, assure la cohésion et l'ancrage de l'ensemble des types cellulaires. Ces points d'ancrage se retrouvent dans les trois types cellulaires principaux (R, B et F).

DISCUSSION

La présence de 4 types cellulaires dans l'hépatopanréas des crustacés décapodes a été relevée par de nombreux auteurs (Jacob, 1928 ; Van Weel, 1955 ; Travis, 1955 ; Ogura, 1959 ; Loizzi, 1971 ; Barker et Gibson, 1977, 1978 ; Hopkin et Nott, 1980 ; Caceci *et al.*, 1988). Le cinquième type cellulaire (type M) a été mis en évidence par Al-Mohanna *et al.* (1985), et Al-Mohanna et Nott (1987a), mais les mécanismes fondamentaux de digestion intra- et extracellulaires restent confus et contradictoires.

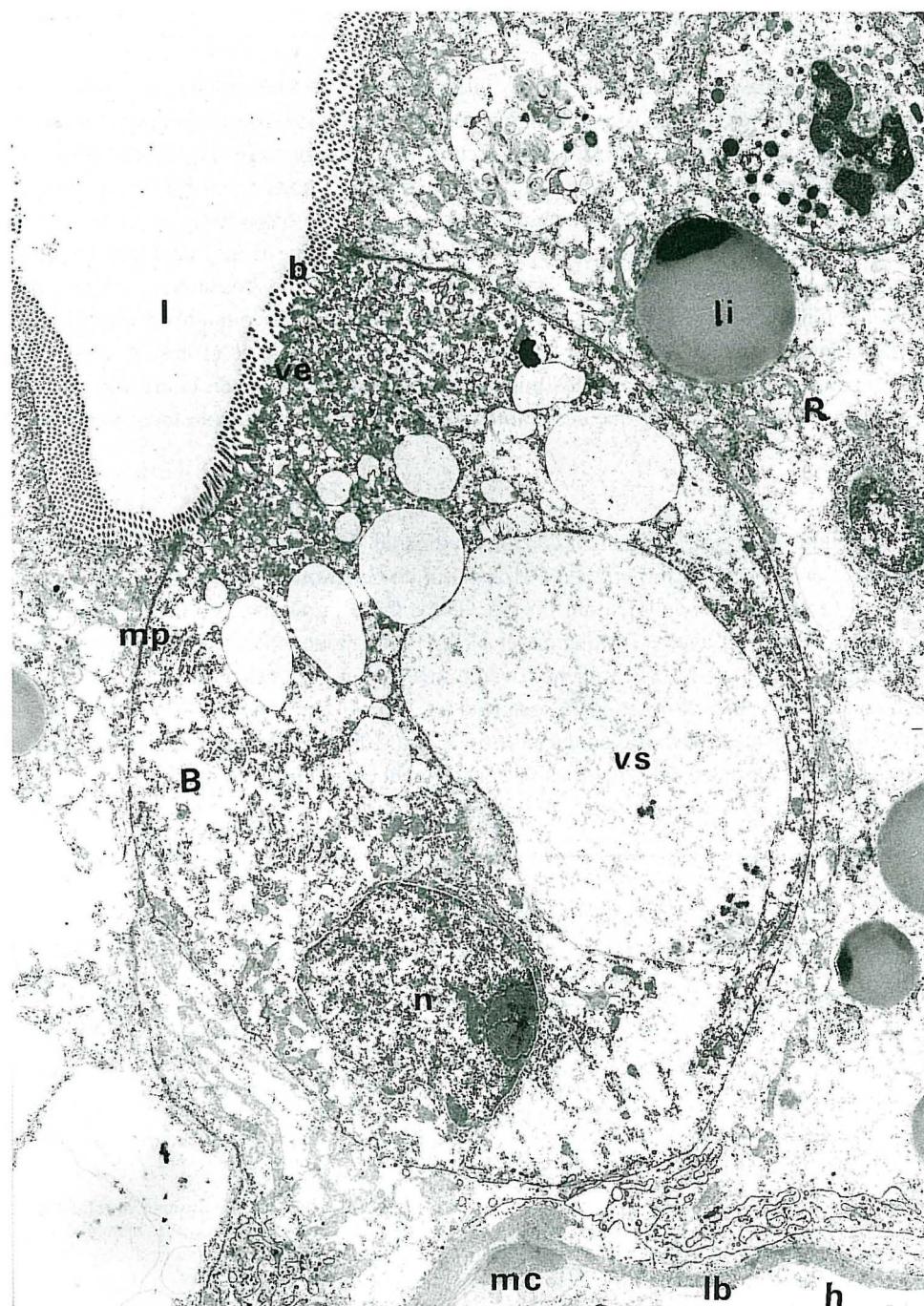
Au niveau ultrastructural, seules quelques études sur les genres *Procambarus* (Miyawaki & Tanou, 1962 ; Bunt, 1968), *Carcinus* (Stanier *et al.*, 1968 ; Hopkin & Nott, 1980), et *Penaeus* (Al-Mohanna *et al.*, 1985 ; Al-Mohanna & Nott, 1986 ; Caceci *et al.*, 1988) ont été effectuées sur les crustacés décapodes. Cela signifie que ce genre de travaux chez le homard constitue une première, tant par la réalisation expérimentale proprement dite, que par la nature des résultats, qui remettent en cause une partie des processus de digestion décrits par les auteurs précédents (Barker & Gibson, 1977 ; Al-Mohanna & Nott, 1986 ; Caceci *et al.*, 1988).

PLANCHE V

Étude en MET d'une cellules de type B : aspect général.
Photo 1 (x 7 200)

Les cellules de type B ont un aspect extrêmement renflé et se caractérisent par la présence d'une grosse vacuole, occupant entre 50 % et 90 % du cytoplasme. La bordure en brosse des cellules est plus épaisse que dans les autres types cellulaires et la membrane apicale est le siège de phénomènes intenses d'endocytose. Le cytoplasme ne présente aucune inclusion particulière et le noyau est repoussé dans la partie basale de la cellule. La membrane basale ne montre aucune particularité. Ces cellules ne sont présentes que dans la partie médio-proximale des tubules.

b : bordure en brosse	mp : membrane plasmique
h : hémolymphé	n : noyau
l : lumière des tubules	ve : vacuoles d'endocytose
lb : lame basale	vs : vacuole supranacléaire
li : lipides	B : cellules de type B
mc : fibre musculaire circulaire	R : cellules de type R



Rôle des divers types cellulaires dans les processus digestifs

Type E

Les cellules de type E ne semblent pas intervenir dans les phénomènes de digestion des éléments incorporés. Leur position ainsi que leur morphologie laisse penser que ces cellules sont des cellules souches indifférenciées à caractère embryonnaire. Les études effectuées jusqu'à présent semblent montrer qu'elles ne possèdent ni bordure en brosse, ni vacuoles d'endocytose, même si, selon les auteurs, les résultats sont controversés. Loizzi (1966) et Stanier *et al.* (1968) montrent en effet que les cellules de type E de l'hépatopancréas des décapodes du genre *Procambarus* et *Carcinus* possèdent une bordure en brosse, mais Barker et Gibson (1978) n'en trouvent pas dans les cellules embryonnaires de *Scylla serrata*. Des travaux plus récents ont été effectués par Al-Mohanna *et al.* (1985). Ces études ne font aucune allusion aux éventuelles microvillosités des cellules E de la crevette *Penaeus semisulcatus*, mais montrent que ces cellules ne sont capables d'aucune incorporation colloidale.

Type F

Les cellules de type F présentent des microvillosités dans leur partie apicale sans aucune vésicule d'endocytose. L'importance de l'appareil de Golgi ou du réticulum endoplasmique laisse à penser que ces cellules ont un rôle de synthèse protéique important. Ces conclusions sont en accord avec Al-Mohanna et Nott (1986), pour qui ces cellules sont uniquement impliquées dans les phénomènes sécrétaires. Selon eux, ces cellules synthétisent et sécrètent des granules de zymogène pendant les 2 heures qui suivent l'ingestion et sont incapables d'absorber aucun élément nutritif. 1 h à 2 h après l'ingestion, les granules de zymogène sont extrudés et les cellules se transforment en cellules de type B.

PLANCHE VI

Étude en MET d'une cellule de type B : détail des parois apicales et basales de la membrane plasmique.

Photo 1 (x 16 000). *Membrane basale*

La membrane basale des cellules B est rectiligne sans aucun signe d'invagination. Le REL est peu développé. Quelques mitochondries sont visibles sur certains clichés.

Photo 2 (x 4 480). *Membrane apicale*

Les microvillosités apicales sont plus développées que dans les autres types cellulaires. De très nombreuses vacuoles d'endocytose sont à noter tout au long de la membrane.

Photo 3 (x 9 600). *Membrane apicale*

De véritables "puits" d'endocytose se forment au niveau de la membrane plasmique.

Les microvillosités apicales sont recouvertes par un épais manteau cellulaire.

Photo 4 (x 20 800). *Membrane apicale (détail)*

Les très nombreuses invaginations basales se referment en vacuoles d'endocytose, qui fusionnent entre elles pour donner une unique vacuole supranucléaire. Il est possible à ce niveau de comparer les membranes apicales des cellules B et R, ces dernières ne présentant aucune invagination.

i : invagination

mp : membrane plasmique

l : lumière des tubules

ve : vacuole d'endocytose

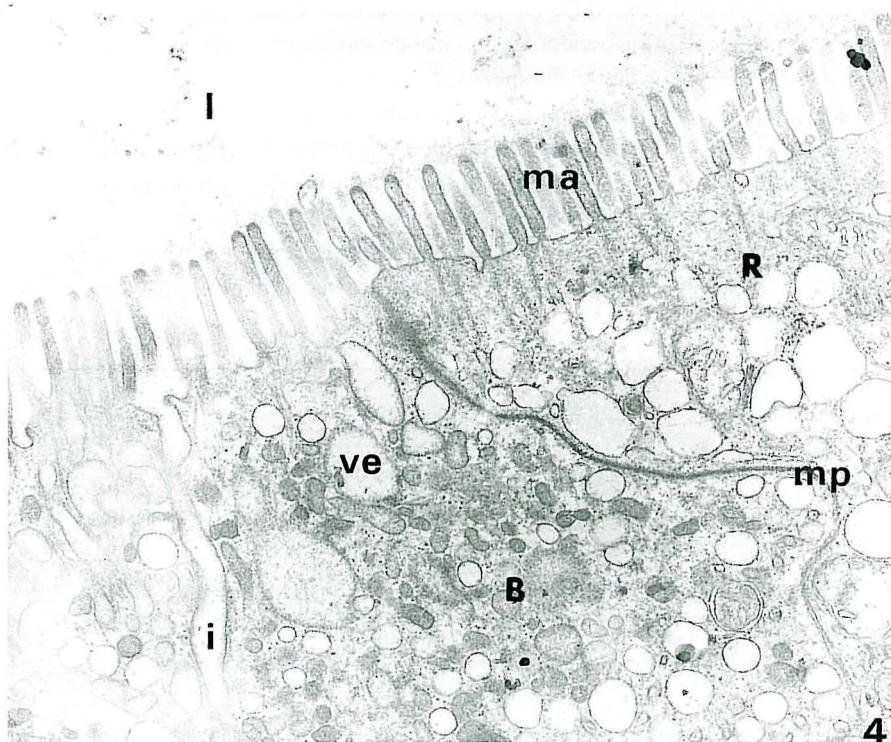
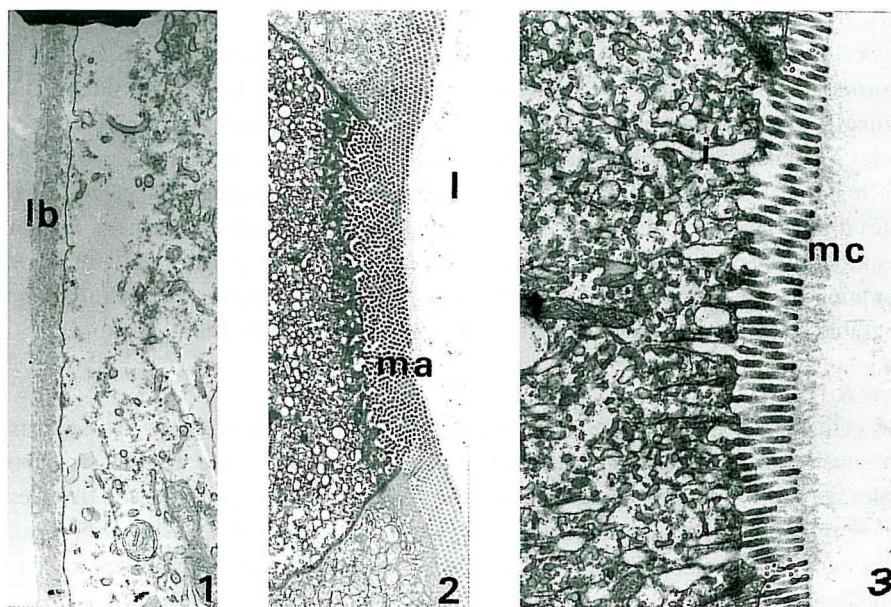
lb : lame basale

R : cellules de type R

ma : microvillosités apicales

B : cellules de type B

mc : manteau cellulaire



Type B

Les cellules de type B sont caractérisées par une bordure en brosse apicale bien développée, surmontée d'un manteau cellulaire important. A la base de la bordure, de nombreuses invaginations se distinguent et conduisent à la formation de vacuoles d'endocytose. Ces vacuoles fusionnent entre elles pour former une seule et unique vacuole, occupant 90 % de l'espace intracellulaire. Ces particularités conduisent tout naturellement à conclure aux facultés d'incorporation puis de digestion de nutriments provenant directement de la lumière des tubules digestifs. L'épaisseur et les caractéristiques du manteau cellulaire favorisent l'absorption des nutriments, juste avant l'endocytose. C'est donc ce type cellulaire qui est responsable de l'incorporation puis de la digestion des nutriments d'origine exogène.

Type R

Les cellules de type R, bien que possédant également une bordure en brosse dans leur partie supérieure, ne sont pas capables (ou très peu) d'endocytose apicale. Très peu de vacuoles de pinocytose sont notées à ce niveau. L'essentiel de l'incorporation dans les cellules résorptives provient donc d'une accumulation basale, à partir de l'hémolymph. Ces cellules auraient donc un rôle de résorption des éléments nutritifs à partir du milieu intérieur de l'animal.

D'autres auteurs analysent différemment les facultés d'incorporation des cellules R. Monin et Rangneker (1974) associent la présence de mucopolysaccharides dans la bordure en brosse des cellules R à des phénomènes d'endocytose. Les mêmes auteurs, en 1975, montrent des activités enzymatiques (lipases et stérases) dans la bordure en brosse, et leur attribuent un rôle dans l'hydrolyse et l'absorption des nutriments. Barker et Gibson (1977) associent l'absence de phosphatases dans la bordure en brosse à un phénomène passif de diffusion plutôt qu'à des processus d'endocytose. En fait, toutes ces conclusions contradictoires avaient pour but d'analyser la prise de nutriments par les cellules R, considérées alors comme seules responsables des phénomènes digestifs intracellulaires.

PLANCHE VII

Étude en MET d'une cellule de type B : particularités cytoplasmiques.

Photo 1 (x 11 680)

Les nombreuses vacuoles d'endocytose observées en planche VI fusionnent entre elles pour donner une seule et unique vacuole supranucléaire.

Photo 2 (x 20 800)

L'appareil de Golgi des cellules B est très peu développé, comparativement à celui observé dans le cytoplasme des cellules F (Planche I) ou R (Planche III).

Photo 3 (x 6 680)

Fusion des vacuoles d'endocytose au niveau de la vacuole supranucléaire.

Les vacuoles contiennent toutes du matériel d'origine exogène.

Photo 4 (x 5 760). *Noyau des cellules B*

Le noyau des cellules B est compressé dans la partie basale de la cellule par la vacuole supranucléaire.

g : golgi

v : vacuole

mp : membrane plasmique

vs : vacuole supranucléaire

n : noyau

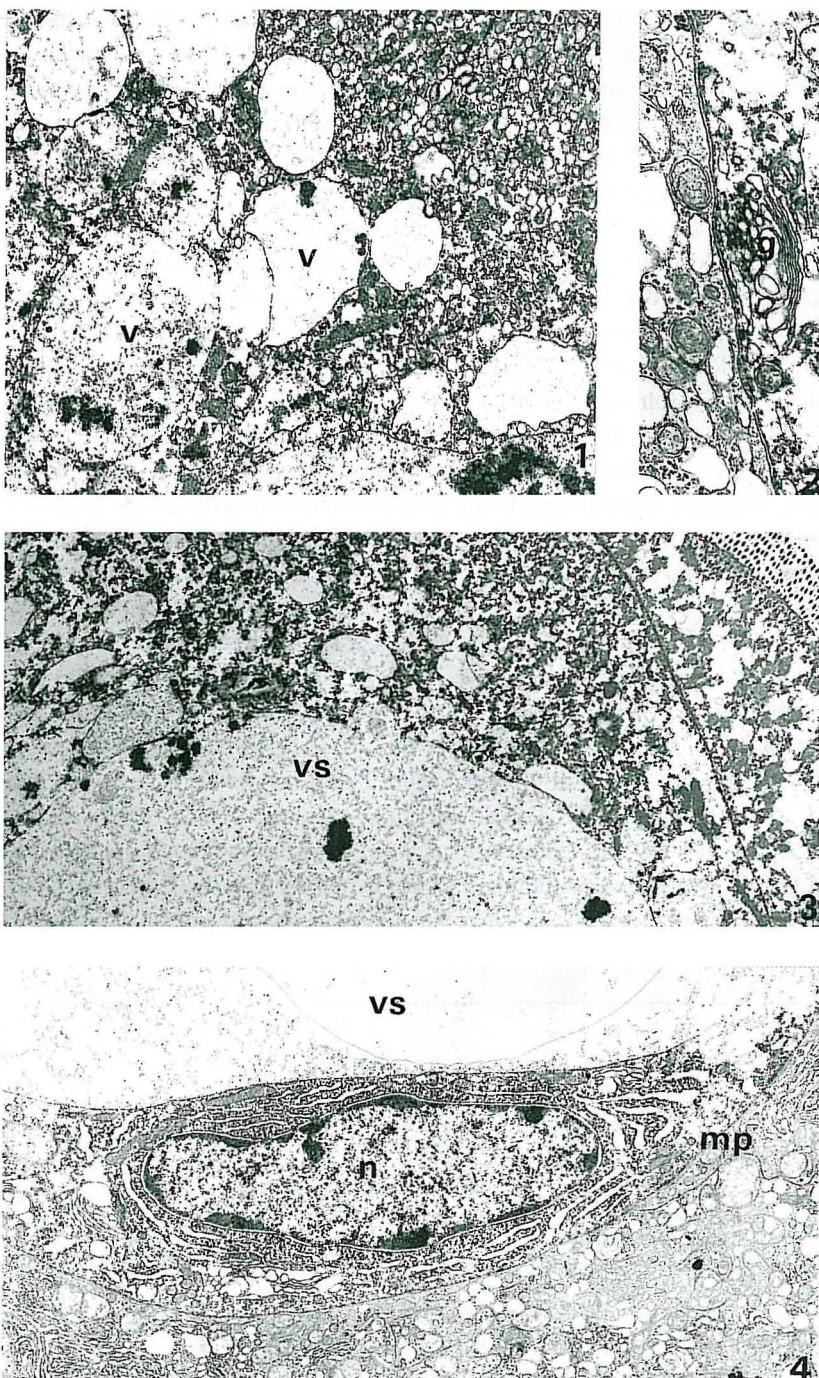


PLANCHE VII

Au cours de leur évolution, ces cellules stockent d'abord du glycogène avant d'entamer les processus de lipogenèse (Loizzi, 1971). Lors du vieillissement cellulaire, un certain nombre de structures se développent au sein du cytoplasme, pour former les corps résiduels. Ces corps résiduels relevés dans notre étude (Pl. IV) sont en tous points identiques à ceux décrits par Bunt (1968). Leur nombre, leur taille et leur forme sont variables, mais ces inclusions ne se retrouvent que dans les cellules de type R. Bunt apparentait ces vacuoles à des phagosomes, résultant du compartimentage de matériel non digestible. Il est possible en fait que ces vacuoles représentent des vacuoles soit d'autophagie, soit d'hétérophagie. La "structure myélinique" des composés observés est caractéristique de ce genre de phénomène. Ces corps résiduels peuvent être ou ne pas être évacués hors de la cellule, selon l'animal et l'organe considérés. En plus de facultés de résorption, ces cellules ont donc des potentialités de stockage. Ce sont ces cellules âgées que l'on observe dans la partie proximale des tubules. Elles contiennent alors peu ou pas de glycogène, de nombreux lipides et de nombreux corps résiduels. L'abondance de lipides et corps résiduels d'une part, et de glycogène d'autre part, semblent respectivement être proportionnels ou inversement proportionnels à la distance les séparant du fond du tubule (Paquet, 1991). Cette absence de glycogène à certains stades a conduit Anger *et al.* (1985) à penser que ces cellules n'en accumulaient jamais.

Les cellules R sont réunies à leur base par des interdigitations de la membrane plasmique, comparables à ce que l'on observe dans l'intestin des mammifères. Ces interdigitations permettent un solide ancrage de ce type cellulaire dans l'assise cellulaire des tubules, contrairement à ce qui est observé dans les cellules B. Cette différence de structure entre les deux types cellulaires est en relation directe avec leur durée de vie au sein de l'hépatopancréas. Aux durées de vie limitées des cellules B (Al-Mohanna & Nott, 1986), s'oppose donc le taux de renouvellement très lent des cellules de type R. Il est à noter que ce type d'interdigitation était considéré comme impossible par de récents travaux (Caceci *et al.*, 1988) qui concluaient alors à des processus digestifs très différents de ceux décrits dans cette étude.

PLANCHE VIII

Étude en MET des cellules de type M. Photo 1 (x 9 600)

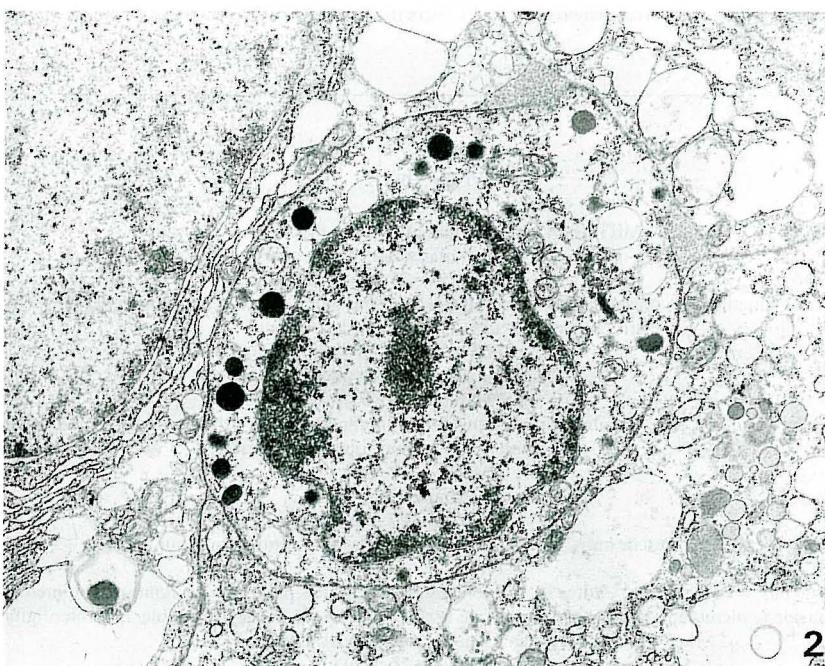
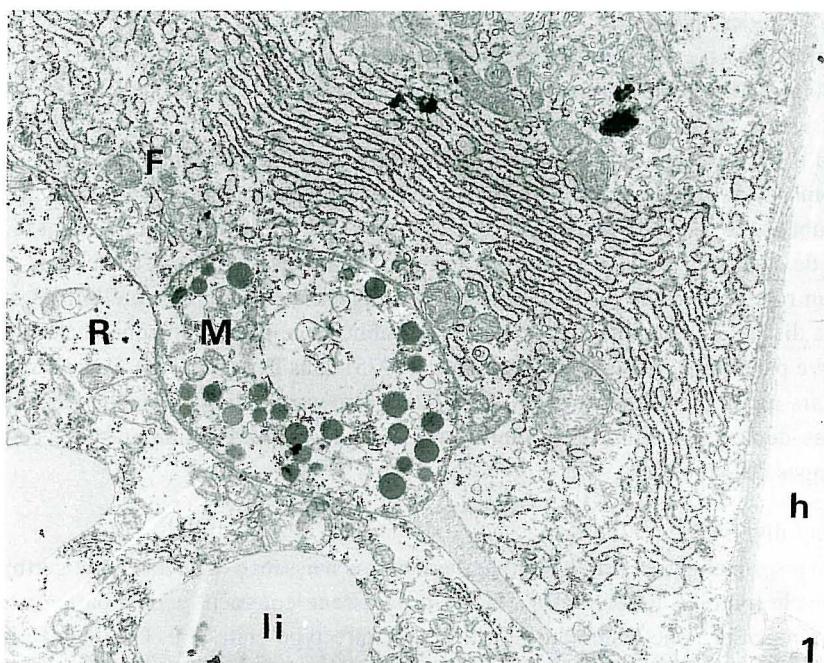
Les cellules M sont de très petites cellules situées près de la lame basale des tubules et s'insinuant entre deux autres types cellulaires (ici F et R). Ces cellules présentent de nombreux granules dispersés dans tout le cytoplasme. La membrane plasmique ne possède pas de bordure en brosse, et, du reste, n'a aucun contact, ni avec la lumière des tubules, ni avec l'hémolymphé. Il est possible de noter, par endroits, l'élaboration de pseudopodes, qui se déplient au détriment de cellules voisines (ici F).

Photo 2 (x 9 600)

Les cellules de type M sont de taille variable, toujours inférieure à 20 μm . Le cytoplasme est limité et est occupé par un volumineux noyau et de nombreux granules. Ces cellules sont surtout présentes dans la partie médioproximale des tubules.

h : hémolymphé
li : lipides
F : cellules de type F

M : cellules de type M
R : cellules de type R



Cas particulier des cellules M

Les cellules M n'entrent volontairement pas dans ce schéma digestif. Nous pensons en effet comme Bauchau (1986) que ces cellules ne sont pas des cellules de l'hépatopancréas. Elles ont tout à fait la morphologie de cyanocytes et les clichés de la planche X laissent penser qu'il y a intrusion de ces cellules dans les tissus de l'hépatopancréas.

De nombreuses cellules sanguines se fixent souvent au niveau du tissu conjonctif entourant les tubules de l'hépatopancréas. Ces cyanocytes sont considérés comme étant le lieu de synthèse de l'hémocyanine, stockée sous forme de granules sombres. Ces cellules auraient de plus un rôle dépurateur par hétérophagie des éléments destinés à être éliminés, mais ce point sera discuté en détail dans une prochaine publication. Un phénomène analogue a déjà été observé par Chassard-Bouchaud et Hubert (1975) dans l'organe Y de *Carcinus maenas*. Ces auteurs montraient une intrusion de cellules sanguines dans les glandes de mue. Les hémocytes déployaient alors une intense activité phagocytaire, comparable à celles des macrophages des vertébrés.

Origine des divers types cellulaires

Les diverses catégories cellulaires prennent toutes naissance dans une zone germinative, située dans le fond des tubules. Ces cellules progressent lentement vers la partie proximale en se différenciant ponctuellement en l'un ou l'autre type cellulaire. Ces transformations cellulaires dans l'hépatopancréas des crustacés sont supputées depuis longtemps. Toutefois, la fréquence et la détermination de la différenciation sont très discutées. L'origine des

PLANCHE IX

Étude en MET des jonctions cellulaires et des membranes plasmiques des divers types cellulaires de l'hépatopancréas.

Photo 1 (x 25 000)

Les membranes plasmiques sont rectilignes dans leur partie apicale et terminées par une structure proche des desmosomes des mammifères.

Photo 2 (x 12 800)

Voir commentaires de la photo 1.

Photo 3 (x 44 800)

À certains endroits de la membrane plasmique, les membranes de deux cellules contiguës fusionnent pour former une "gap junction" ou jonction serrée.

Photo 4 (x 20 800)

Voir commentaires de la photo 3.

Photo 5 (x 27 200)

Détail d'un desmosome dans la partie apicale de la membrane plasmique.

Photo 6 (x 20 800)

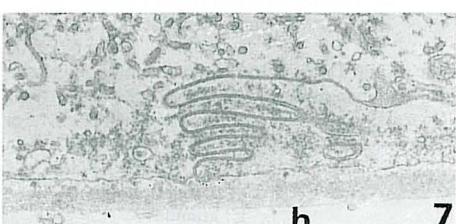
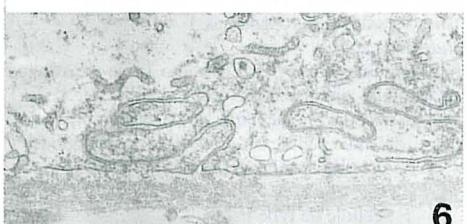
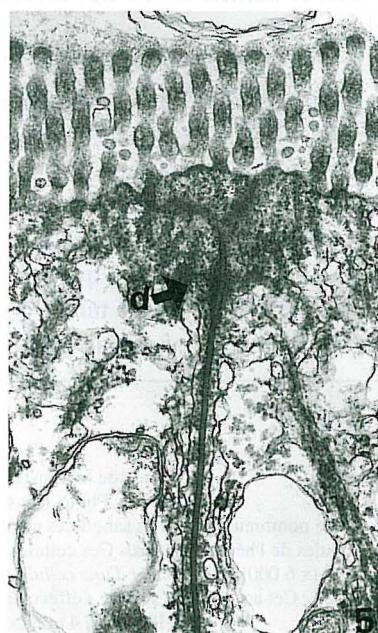
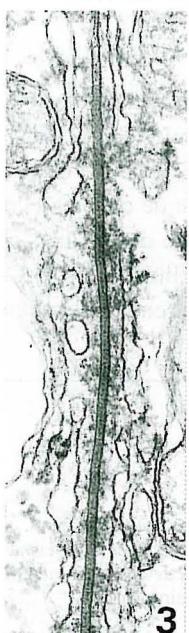
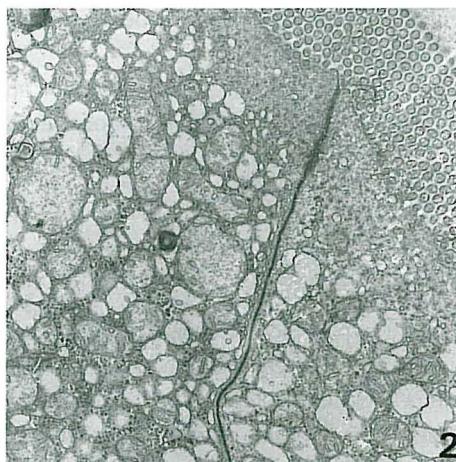
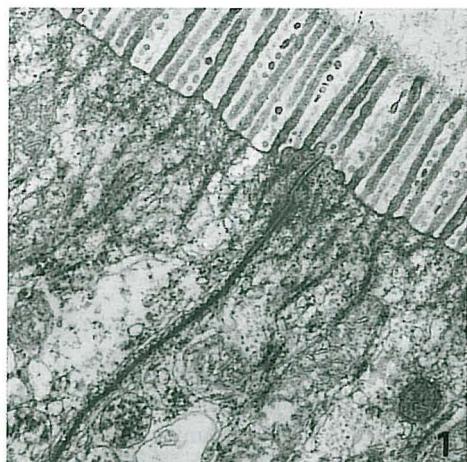
Dans la partie basale de certaines cellules R, les membranes plasmiques présentent de nombreuses interdigitations. Ces replis de la membrane favorisent l'ancrage de la cellule et la stabilité de l'ensemble. Ces interdigitations ne s'observent jamais au niveau des cellules B.

Photo 7 (x 16 000)

Voir commentaires de la photo 6.

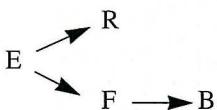
d : desmosome

h : hémolymphé



débats est l'existence de 3 types cellulaires distincts pour une seule catégorie de cellule souche.

Les premiers travaux effectués sur le sujet par Apathy et Farkas (1908) ont estimé que les cellules souches pouvaient donner naissance à deux lignées, selon le mode :



Cette hypothèse a été reprise 20 ans plus tard par Hirsch et Jacobs (1930) et il semble aujourd'hui que ce schéma soit communément admis (Friesen *et al.*, 1986). Toutefois, depuis près de 90 ans, toutes les possibilités ont été passées en revue (Jacob, 1928, Van Weel, 1955 ; Ogura, 1959 ; Davis et Burnet, 1964 ; Bunt, 1968 ; Stanier *et al.*, 1968 ; Gibson et Barker, 1979). Les derniers travaux en date postulent même une différenciation selon le type :

$E \rightarrow R \rightarrow F \rightarrow B$ (Caceci *et al.*, 1988).

Les résultats présentés ici rendent caduque cette possibilité. La position relative des cellules R et F dans les tubules, associée aux fonctions de stockage des cellules R, en font le stade terminal d'une éventuelle différenciation successive. Par ailleurs, on distingue dans la zone distale des tubules une région où les cellules n'ont ni la morphologie de cellules F, ni celle de cellules R (Paquet, 1991). En fait, cette zone de transition renferme des cellules en cours de différenciation et qui possèdent des caractères communs aux cellules F et R. Ce n'est que plus loin dans le tubule que ces cellules se transforment vraiment en cellules F ou R. Pour cette raison, nous les appellerons les cellules F/R.

PLANCHE X

Étude de la transformation d'une cellule sanguine en cellule M.

Photo 1 (x 6 000). Détail d'une cellule sanguine

De nombreuses cellules sanguines sont observables dans l'hémolymphé, à proximité de la lame basale des tubules de l'hépatopancréas. Ces cellules ont un noyau important et de nombreux granules dans le cytoplasme.

Photo 2 (x 6 000). Accrolement d'une cellule sanguine au niveau de la lame basale des tubules de l'hépatopancréas

Cet accrolement semble s'effectuer préférentiellement au niveau des fibres musculaires (mc).

Photos 3, 4 et 5 (x 6 000). Internement de la cellule sanguine

Les cellules semblent passées au travers de la lame basale des tubules. À ce niveau, elles peuvent être confondues avec des cellules constitutives de l'hépatopancréas.

Photo 6 (x 6 000). Cellule de type M

Cette cellule a exactement la même morphologie que la cellule sanguine observée sur la photo 1. On y distingue les mêmes granules et les mêmes caractéristiques cytoplasmiques (inclusions diverses, volume, etc.).

Un canal résiduel (cr) est observable sur le cliché et témoigne du passage de la cellule, de l'hémolymphé vers la lumière des tubules de l'hépatopancréas. La cellule sanguine, devenue cellule M, déploie des pseudopodes au détriment des cellules voisines (ici cellule F) (voir détails Planche VIII, photo 1).

cr : canal résiduel

g : granules

h : hémolymphé

lb : lame basale

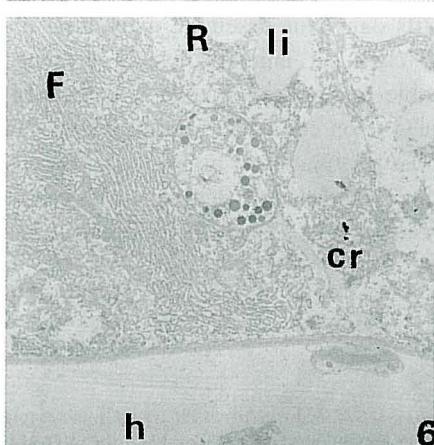
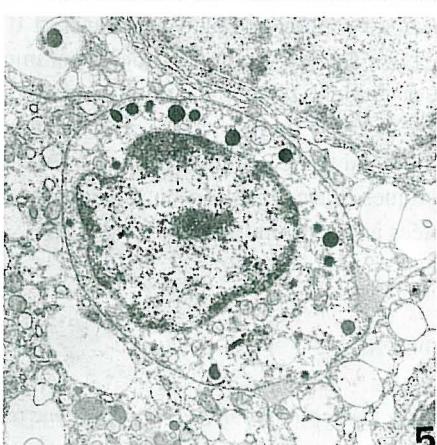
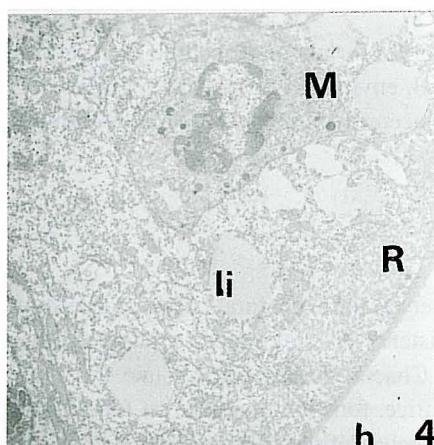
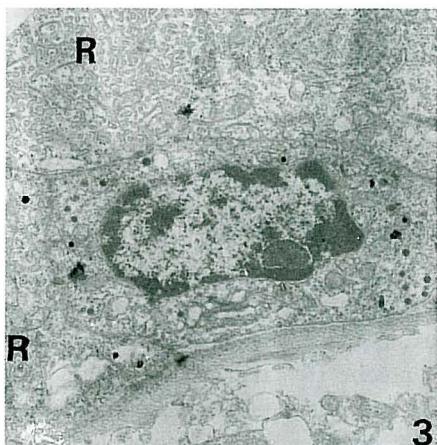
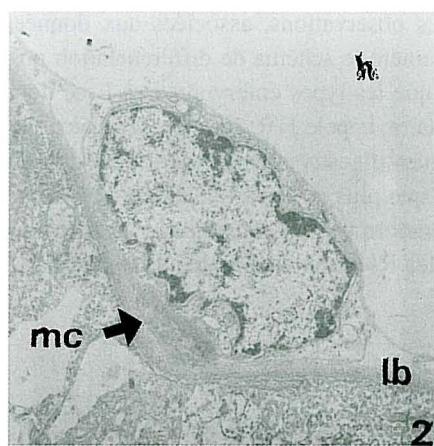
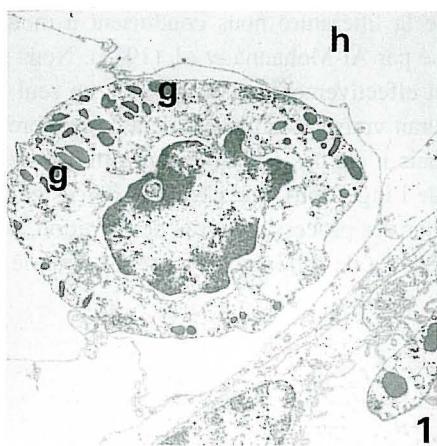
li : lipides

mc : muscles circulaires

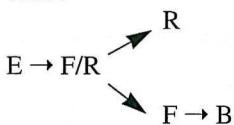
F : cellule de type F

M : cellule de type M

R : cellule de type R



Ces observations, associées aux données de la littérature nous conduisent à modifier légèrement le schéma de différenciation proposé par Al-Mohanna *et al.* (1985). Nous pensons que les types embryonnaires E ne donnent effectivement naissance qu'à un seul type cellulaire, appelé F/R. Ce type cellulaire sécrèterait vraisemblablement déjà de nombreuses enzymes digestives (R.E.R. très développé), mais n'est pas véritablement différencié. Ce n'est que plus tard (probablement au moment de l'ingestion), que certaines de ces cellules se transformeront en cellules F, caractérisées par des processus accus de sécrétion, ou en cellules R, capables d'endocytose basale. Le schéma de différenciation serait donc le suivant :



La transformation de cellule E en cellule F/R, puis F se ferait lors de l'extrusion des cellules B, environ 24 heures après l'ingestion (Hopkin & Nott, 1980). Ce processus permet le remplacement de toutes les cellules éliminées.

CONCLUSIONS

L'étude ultrastructurale de la glande digestive du homard *Homarus gammarus* montre la coexistence de quatre types cellulaires principaux, impliqués lors du cycle digestif de l'animal. Chacun de ces types a une fonction bien précise (fonction embryonnaire, fonction sécrétrice, fonction digestive ou fonction de stockage) et une position dans le tubule rigoureusement définie. Cette étude permet de mieux comprendre maintenant les processus digestifs dans leur ensemble mais aussi d'affiner d'éventuelles études de transfert d'éléments chez cet animal. Jusqu'à présent l'hépatopancreas était considéré comme un ensemble homogène, capable d'accumuler ou d'éliminer un certain nombre d'éléments toxiques selon certaines cinétiques bien étudiées. A partir de maintenant il conviendra de travailler non plus sur l'organe dans son ensemble, mais de considérer les types cellulaires un à un et de tâcher de déterminer les caractéristiques d'accumulation ou d'élimination qui leur sont propres, à l'aide de techniques empruntées à la biochimie et à la cytochimie.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

- AL-MOHANNA, S.Y. & J.A. NOTT, 1986. B-cells and digestion in the hepatopancreas of *Penaeus semisulcatus* (crustacea : Decapoda). *J. Mar. Biol. Ass. U.K.*, 66 : 403-414.
- AL-MOHANNA, S.Y. & J.A. NOTT, 1987a. M. "Midget" cells and moult cycle in *Penaeus semisulcatus* (crustacea : Decapoda). *J. Mar. Biol. Ass. U.K.*, 67 : 803-813.
- AL-MOHANNA, S.Y. & J.A. NOTT, 1987b. R. cells and the digestive cycle in *Penaeus semisulcatus*. *Mar. Biol.*, 95 :

- AL-MOHANNA, S.Y. & J.A. NOTT & D.J.W. LANE, 1985. Mitotic E and secretory F-cells in the hepatopancreas of the shrimp *Penaeus semisulcatus* (crustacea : Decapoda) *J. Mar. Biol. Ass. U.K.*, 65 : 901-910.
- ANGER, K., V. STORCH, V. ANGER & J.M. CAPUZZO, 1985. Effects of starvation on moult cycle and hepatopancreas of stage I lobster (*Homarus americanus*) larvae. *Helgol. Wiss. Meeresunters.*, 39 : 107-116.
- APATHY, S. & B. FARKAS, 1908. *Muz. Fiz. Kiadja. Erd. Muz. Egy.*, 1 : 117-150.
- BARKER, P.L. & R. GIBSON, 1977. Observations on the feeding mechanism, structure of the gut, and digestive physiology of the european lobster *Homarus gammarus* (L.). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 26 : 297-324.
- BARKER, P.L. & R. GIBSON, 1978. Observations on the structure of the mouthparts, histology of the alimentary tract, and digestive physiology of the mud crab *Scylla serrata*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 32 : 177-196.
- BAUCHAU, A.G., 1986. Données récentes sur les hémocytes des crustacés. *Cah. Biol. Mar.*, 28 : 279-287.
- BUNT, A.H., 1968. An ultrastructural study of the hepatopancreas of *Procambarus clarkii*. *Crustaceana*, 15 : 282-288.
- CACECI, T., K.F. NECK, D.H. LEWIS & R.F. SIS, 1988. Ultrastructure of the hepatopancreas of the Pacific white shrimp, *Penaeus vannamei* (crustacea decapoda). *J. Mar. Biol. Ass. U.K.*, 68 : 323-337.
- CHASSARD-BOUCHAUD, C. & M. HUBERT, 1975. Etude ultrastructurale des hémocytes présents dans l'organe Y de *Carcinus maenas*. *C.R. Acad. Sci. 281D* : 807-810.
- DAVIS, L.E. & A.L. BURNETT, 1964. A study of growth and cell differentiation in the hepatopancreas of the crayfish. *Dev. Biol.*, 10 : 122-153.
- FRIESEN, J.A., K.H. MANN & J.H. WILLISON, 1986. Gross anatomy and fine structure of the gut of the marine mysid shrimp *Mysis stenolepsis*. *Can. J. Zool.*, 64 : 431-441.
- GIBSON, R. & P.L. BARKER, 1979. The decapod hepatopancreas. *Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Rev.*, 17 : 285-346.
- HIRSCH, G.C. & W. JACOBS, 1930. Der arbeithrythmus der Mitteldarmdruse von *Astacus leptodactylus*. II. Wachstum als primärer faktor des rhythmus eines polyphasischen organigen sekretionssystem. *Z. Vgl. Physiol.*, 12 : 524-558.
- HOPKIN, S.P. & J.A. NOTT, 1980. Studies on the digestive cycle of the shore crab *Carcinus maenas* (L.), with special reference to the B cells in the hepatopancreas. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.*, 60 : 891-907.
- JACOB, W., 1928. Untersuchungen über die cytologie der sekretbildung in der Mitteldarmdruse von *Astacus leptodactylus*. *Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat.*, 8 : 1-62.
- LOIZZI, R.F., 1966. Cellular and physiological changes during secretion in crayfish hepatopancreas. Ph. D thesis. Iowa state university of science and technology, 187 p.
- LOIZZI, R.F., 1971. Interpretation of crayfish hepatopancreatic function based on fine structural analysis of epithelial cell lines and muscle network. *Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat.*, 113 : 420-440.
- MIYAWAKI, M. & S. TANOUYE, 1962. Electron microscopy of the hepatopancreas of the crayfish, *Procambarus clarkii*. *J. Sci.*, 6B : 1-4.
- MONIN, M.A. P.V. RANGNEKER, 1974. Histochemical localization of acid and alkaline phosphatases and glucose-6 phosphatase of the hepatopancreas of the crab, *Scylla serrata*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 14 : 1-16.
- OGURA, K., 1959. Midgut gland cells accumulating iron or copper in the crayfish *Procambarus clarkii*. *Ann. Zool. Jpn.*, 32 : 134-142.
- PAQUET, F., 1991. Etude expérimentale des biocinétiques de l'américium-241 chez le homard *Homarus gammarus*. Analyse des mécanismes d'accumulation et de détoxication au niveau subcellulaire. Thèse Doct., Université de Nantes, 402 p.
- STANIER, J.E., M.A. WOODHOUSE & R.L. GRIFFIN, 1968. The fine structure of the hepatopancreas of *Carcinus maenas*. *Crustaceana*, 14 : 56-66.
- TRAVIS, D.F., 1955. The molting cycle of the spiny lobster. *Panulirus argus*. II Pre-ecdysial histological and histochemical changes in the hepatopancreas and integumental tissus. *Biol. Bull. Mar. Biol. lab. Woods Hole*, 108 : 88-112.
- VAN WEEL, P.B., 1955. Processes of secretion, restitution and resorption in gland of mid-gut of *Atya spinipes*. *Physiol. Zool.*, 28 : 40-54.