

Analyse autoradiographique du renouvellement cellulaire dans le tube digestif et les autres compartiments somatiques de l'holothurie apode *Leptosynapta galliennei*

J.-P. Féral*

UA CNRS 699, Biologie des Invertébrés Marins,

Muséum national d'histoire naturelle, 55, rue Buffon, F- 75005 Paris.

*Adresse actuelle : université P. et M. Curie, Laboratoire Arago, F-66650 Banyuls-sur-mer.

Résumé : Les cellules en prémitose de *Leptosynapta galliennei* sont marquées par la thymidine tritiée et détectées par autoradiographie sur coupes semi-fines et épaisses (paraffine). Les populations cellulaires constituant l'épithélium digestif sont en expansion, y compris dans l'intestin où l'indice de marquage est élevé (5 %). Dans l'épithélium digestif de l'estomac, les divisions cellulaires sont très rares ; les cellules zymogènes ou calciformes ne se divisent pas (populations statiques ?). Les coelomocytes se divisent dans tous les tissus qu'ils infiltrent, ainsi que dans les liquides hémal et coelomique. Les vaisseaux hémaux peuvent être considérés comme un lieu de cytopoïèse pour les coelomocytes. Le marquage de l'épithélium tégumentaire, après injection intracoelomique du marqueur, démontre le rôle du liquide coelomique dans le transport des petites molécules, ainsi que le non-isollement trophique du tégument.

Abstract : The DNA-synthesizing cells of *Leptosynapta galliennei* were labelled with tritiated thymidine and detected with autoradiography on plastic semi-thin sections and on paraffine sections. Most of the digestive epithelia consist of expanding cell populations, including in the intestine where the label index is 5 %. In the stomach, mitosis in the digestive epithelium are very rare. Zymogen and calciform mucus cells do not divide (static populations ?). Coelomocytes are dividing in all the tissues they are infiltrating, as well in the hemal and coelomic fluids. Hemal vessels could be considered as cytopoietic organs for coelomocytes. The labelling of the external epithelium of the tegument after intracoelomic injection of thymidine demonstrates the coelomic fluid role in the transport of small molecular weight molecules and that the tegument is not trophically isolated from the rest of the organism as postulated before.

INTRODUCTION

La structure et l'ultrastructure du tube digestif d'Holothurie ont fait l'objet d'une synthèse récente (Féral & Massin, 1982). Une typologie cellulaire, mise au point sur *Leptosynapta galliennei*, a été proposée par Féral (1985). Le but de ce travail est de donner un aspect de la dynamique cellulaire en mettant en évidence d'éventuelles zones de prolifération dans le tube digestif de *L. galliennei*, particulièrement au niveau de l'intestin. Les figures de mitose sont rares et difficilement observables, même après utilisation d'un antimitotique comme la colchicine (Féral, 1985). La démonstration de cellules en prémitose nécessite donc l'utilisation de la technique autoradiographique, après incorporation de thymidine tritiée (^3H -thymidine) dans le noyau. A l'exception d'études embryologiques, cette technique a été peu utilisée chez les Invertébrés (cf. Anderson, 1965 a, b ; Holland *et al.*, 1965 ; Mix, 1971 ; Ermak, 1975, 1981 ; Anisimov, 1982). Il faut donc se référer aux résultats obtenus chez les Vertébrés. Chez ceux-ci, Messier et Leblond (1960) ont défini trois types de populations cellulaires en fonction de la capacité des cellules à se diviser : (1) *statiques*, dans lesquelles il n'apparaît pas de noyau marqué, après incubation en présence de ^3H -thymidine ; (2) *en expansion*, dans lesquelles on observe un nombre faible mais persistant de noyaux marqués

(l'indice de marquage, entre 0,4 et 1 %, ne change pas sur une assez longue période) ; (3) *en renouvellement*, dans lesquelles on observe un nombre élevé de noyaux marqués qui décroît rapidement. Cette prolifération est soit restreinte, et on observe une migration des *cellules filles* vers une zone fonctionnelle (production d'entérocytes dans les cryptes intestinales du tube digestif de Vertébrés supérieurs), soit diffuse (production d'hémocytoblastes dans la rate ou dans la moelle osseuse). La plupart de ces populations cellulaires ont un index de marquage supérieur ou égal à 3 % ; un tel index correspond à une production cellulaire dépassant celui de la simple croissance et sa diminution indique la perte de *cellules filles* (par exemple, desquamation dans l'intestin).

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Leptosynapta galliennei (Herapath, 1865) est une holothurie apode de la zone de balancement des marées, dans la région de Roscoff (Bretagne Nord, France). Les individus servant aux expériences sont maintenus en eau de mer courante pendant 15 à 24 heures après la récolte. Le marqueur est injecté dans le coelome à l'aide d'une seringue à aiguille hypodermique. Les holothuries sont ensuite mises à incuber en eau de mer courante.

MARQUAGE

La molécule utilisée pour le marquage spécifique de l'acide désoxyribonucléique - ADN - (pendant la *phase S* du cycle cellulaire, cf. Bisconte, 1979 pour les définitions) est la thymidine- (^3H) -méthyle (CEA, Gif-sur-Yvette, France ; A.S. = 25 Ci.mM⁻¹, soit 925 GBq.mM⁻¹). Deux expériences sont réalisées en injectant des doses différentes de thymidine diluée dans de l'eau de mer filtrée (Millipore 0,45 μm).

Expérience 1 : 7 à 10 μCi (259 à 370 kBq) de solution de thymidine sont injectées dans chaque holothurie, soit environ 2 à 3 μCi (74 à 111 kBq) par gramme de poids frais. Les animaux sont sacrifiés après 30 minutes, 1, 2, 3, 4, 5, 10, 12, 14, 16, 18, 22, 48 heures et 6 jours. Ils sont ensuite disséqués et des petits morceaux d'organes sont fixés au glutaraldéhyde tamponné au cacodylate de sodium (pH 7,4), additionné de NaCl (pour atteindre 1 100 à 1 200 mOsM). Les pièces sont incluses dans l'araldite (Durcupan AMC) et les blocs sont débités en coupes semi-fines. Les résultats présentés ici concernent l'intestin antérieur.

Expérience 2 : 1 à 2 μCi (37 à 74 kBq) sont injectées, soit environ 0,3 à 0,6 μCi (11 à 22 kBq) par gramme de poids frais. Les holothuries sont sacrifiées 1, 5, 10, 15 et 20 jours après l'injection, puis disséquées et fixées au liquide de Bouin. Les pièces sont incluses dans la paraffine et débitées à 5 μm . La dose injectée a été diminuée dans cette seconde expérience pour contrôler si le nombre extrêmement faible de mitoses marquées observées dans la première expérience n'était pas dû à des radiolésions. Le temps après l'injection a été augmenté pour vérifier la persistance du marquage observé précédemment. Les résultats concernent le tube digestif entier, ainsi que le tégument.

AUTORADIOGRAPHIE

L'émulsion photographique (Kodak NTB-2) est coulée selon la technique préconisée par Larra et Droz (1970). Le temps d'exposition le meilleur (marquage suffisant des noyaux et bruit de fond minimum) est d'une semaine pour les coupes semi-fines et d'un mois pour les coupes épaisses, à 4°C. Les premières sont colorées au bleu de toluidine, les secondes au trichrome de Masson, après développement dans le révélateur Kodak D-19.

Les comptages ne sont effectués que sur coupes semi-fines sans bruit de fond (expérience 1). Un noyau est considéré comme marqué à partir de la présence de 3 grains d'argent réduit dans l'émulsion photographique au-dessus de lui. Ce nombre de grains dépend de :

- la quantité de ^3H -thymidine incorporée dans l'ADN, dépendant elle-même du stade de duplication de l'ADN (et de sa durée) au moment où le précurseur radioactif est disponible dans la cellule. Seules seront marquées les fractions chromosomiques se renouvelant pendant cette période.
- l'épaisseur des coupes et celle de l'émulsion.
- la durée du développement.

Le nombre moyen de grains varie de $5,8 \pm 4,3$ à $31,9 \pm 16,0$ par noyau, selon le temps considéré. Cette densité est lisible par l'œil humain, la limite supérieure de lisibilité étant estimée à 35 grains par $100 \mu\text{m}^2$ (Rogers, 1973).

On remarquera que l'activité spécifique de la ^3H -thymidine utilisée est très élevée. Elle ne semble pas toxique pour les cellules l'ayant incorporée dans leur noyau, car certaines se sont divisées. Le but de ce travail est la recherche de l'existence de zones particulières de prolifération ; une étude cinétique du renouvellement cellulaire devrait être faite avec une molécule marquée d'activité spécifique plus réduite, bien qu'il semble que les Invertébrés soient moins sensibles que les Vertébrés de ce point de vue (Mix & Tomasovic, 1973 ; Tomasovic & Mix, 1974).

RÉSULTATS

Prolifération cellulaire dans l'épithélium digestif intestinal.

Une demi-heure après l'injection de ^3H -thymidine, des noyaux sont marqués dans l'épithélium intestinal. Ce marquage est visible à tous les temps observés au cours de l'expérience 1 (6 jours) et, jusqu'à 15 jours, au cours de l'expérience 2. Après 20 jours, le marquage est nettement plus faible. Les rares figures de mitose (planche 1-A, B, C) comme les noyaux ayant incorporé le précurseur radioactif (planche 1-D) sont observés aussi bien dans les cryptes que près du sommet des villosités. Celles-ci ne sont pas toutes marquées. On n'observe pas de zone particulière de prolifération, ni de migration des *cellules filles* vers des zones de différenciation et de maturation. Il n'y a pas non plus de secteur d'élimination cellulaire dans les villosités intestinales de *L. galliennei*. Aucun noyau marqué d'entérocytes granulaires n'a été observé. De rares mitoses marquées sont visibles dans l'épithélium, 20 heures après l'injection.

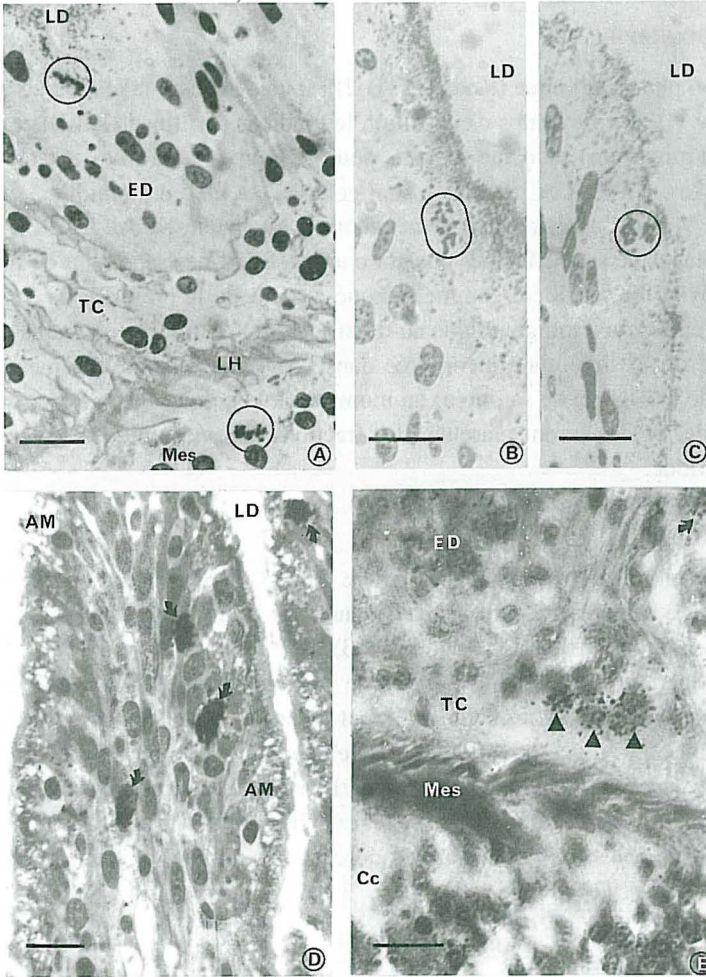


PLANCHE I - Renouveau cellulaire (A, B, C & D : glutaraldéhyde, cacodylate, araldite ; E : liquide de Bouin, paraffine). Autoradiographies après injection intracœlomique de thymidine - ^3H -méthyle.

A, B & C. Mitoses non marquées (24 heures après l'injection) dans l'épithélium digestif de l'intestin antérieur, à différents niveaux des villosités.

.A. dans une crypte (métaphase)

.B. à mi-hauteur (métaphase)

.C. près du sommet (anaphase)

Une mitose (métaphase) est également visible dans le mésothélium (Fig. A).

D. Entérocytes (intestin antérieur) marqués 1 heure après l'injection.

E. Intestin antérieur 5 jours après l'injection : on observe des coelomocytes (dans le tissu conjonctif) et des entérocytes marqués.

AM : apex muqueux, Cc : cavité cœlomique, ED : épithélium digestif,
LD : lumière digestive, LH : lacune hémale, Mes : mésothélium, TC : tissu conjonctif.

- figures de mitose
- ➡ noyaux marqués de l'épithélium digestif
- ▶ noyaux marqués de coelomocytes.

Échelle : 5 μm .

La figure 1 indique le nombre moyen de grains comptés sur les noyaux marqués et l'indice de marquage de l'épithélium digestif de l'intestin antérieur au cours de l'expérience 1. Ce dernier (rapport du nombre de noyaux marqués au nombre de noyaux comptés) permet d'apprécier le renouvellement cellulaire. Il est d'environ $5 \pm 2 \%$ sur une période d'une journée (valeurs extrêmes 2,8 et 9,7 %). Cet indice est de près de 10 %, 48 heures après l'injection de 3H-thymidine et de 3 % 6 jours après celle-ci. On peut le considérer comme relativement élevé et persistant. Le nombre moyen de grains par noyau marqué n'est pas significativement différent d'une observation à l'autre. Il n'y a pas de dilution apparente de la radioactivité pendant le temps de l'expérience.

Renouvellement des cellules en T

Chez les échinodermes, les *cellules en T* sont un type cellulaire caractéristique des épithéliums, tégumentaires et digestifs, d'origine ectodermique (Féral, 1985). Que ce soit sur la face digestive du pharynx, de l'œsophage, des constriction pré- et post-stomacales (planche 2-A,B), ou bien dans l'épithélium tégumentaire (planche 2-C), ces cellules prolifèrent de manière comparable à celles de l'épithélium intestinal. Les noyaux marqués sont observés dès le début de l'expérience 2 (24 heures) ; le marquage persiste au moins pendant 2 semaines (planche 2-A, C). L'absence quasi totale de marquage indique que les cellules stomacales ne se divisent que très rarement.

Renouvellement cellulaire dans les autres couches tissulaires du tube digestif et dans les autres tissus somatiques.

Les noyaux des coelomocytes incorporent la ^3H -thymidine dès la première heure après l'injection. On observe le plus souvent des *petits coelomocytes* (cf. Féral, 1985 pour la typologie) marqués, particulièrement dans les vaisseaux hémaux (planche 2-D) et dans les lacunes, ainsi que dans le tissu conjonctif, aussi bien du tube digestif (planche 1-E) que dans la paroi du corps ou de la gonade. Des *cellules morulaires de type I* sont également marquées. De même, des coelomocytes libres dans le liquide coelomique, observés sur des coupes histologiques faites sur des tronçons de *L. galliennei*, ont incorporé la ^3H -thymidine.

L'indice de marquage du mésothélium (cf. définition dans Jangoux, 1982) est inférieur à 1 %, au niveau de l'intestin postérieur. Les mitoses (planche 1-A) sont encore plus rares que dans les autres couches tissulaires. Aucune zone de prolifération cellulaire particulière, dans aucun organe, n'a été observée chez *L. galliennei* adulte.

DISCUSSION

Comportement et transfert de la thymidine dans les organes

Une demi-heure après l'injection intracoelomique de thymidine- (^3H) -méthyle, des cellules appartenant à toutes les couches tissulaires de l'intestin antérieur présentent un

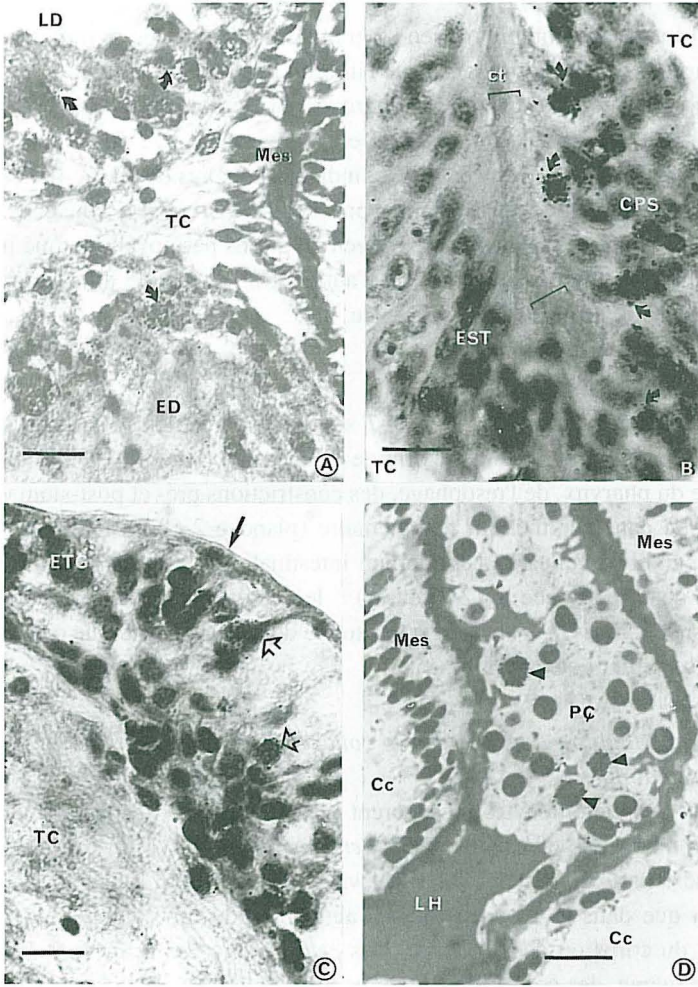


PLANCHE II - Renouveau cellulaire (A, B, C : liquide de Bouin, paraffine ; D : glutaraldéhyde, cacodylate, araldite). Autoradiographies après injection intracœlomique de thymidine - ³H-méthyle.

A. Noyaux marqués de cellules en T de l'épithélium digestif de l'oesophage 15 jours après l'injection.

B. Noyaux marqués dans l'épithélium digestif de la constriction post-stomacale 10 jours après l'injection.

C. Noyaux marqués dans l'épithélium tégumentaire 15 jours après l'injection.

D. Amas de petits coelomocytes dans un vaisseau hémal ; certains d'entre eux ont des noyaux marqués (4 heures après l'injection).

Cc : cavité coelomique, CPS : constriction poststomacale, ct : cuticule stomacale, ED : épithélium digestif, EST : estomac, ETG : épithélium tégumentaire, LD : lumière digestive, LH : liquide hémal, PC : petits coelomocytes, Mes : mésothélium, TC : tissu conjonctif.

- noyaux marqués de l'épithélium digestif
- ↪ noyaux marqués de l'épithélium tégumentaire
- ▶ noyaux marqués de coelomocytes.
- cuticule du tégument.

Échelle : 5µm.

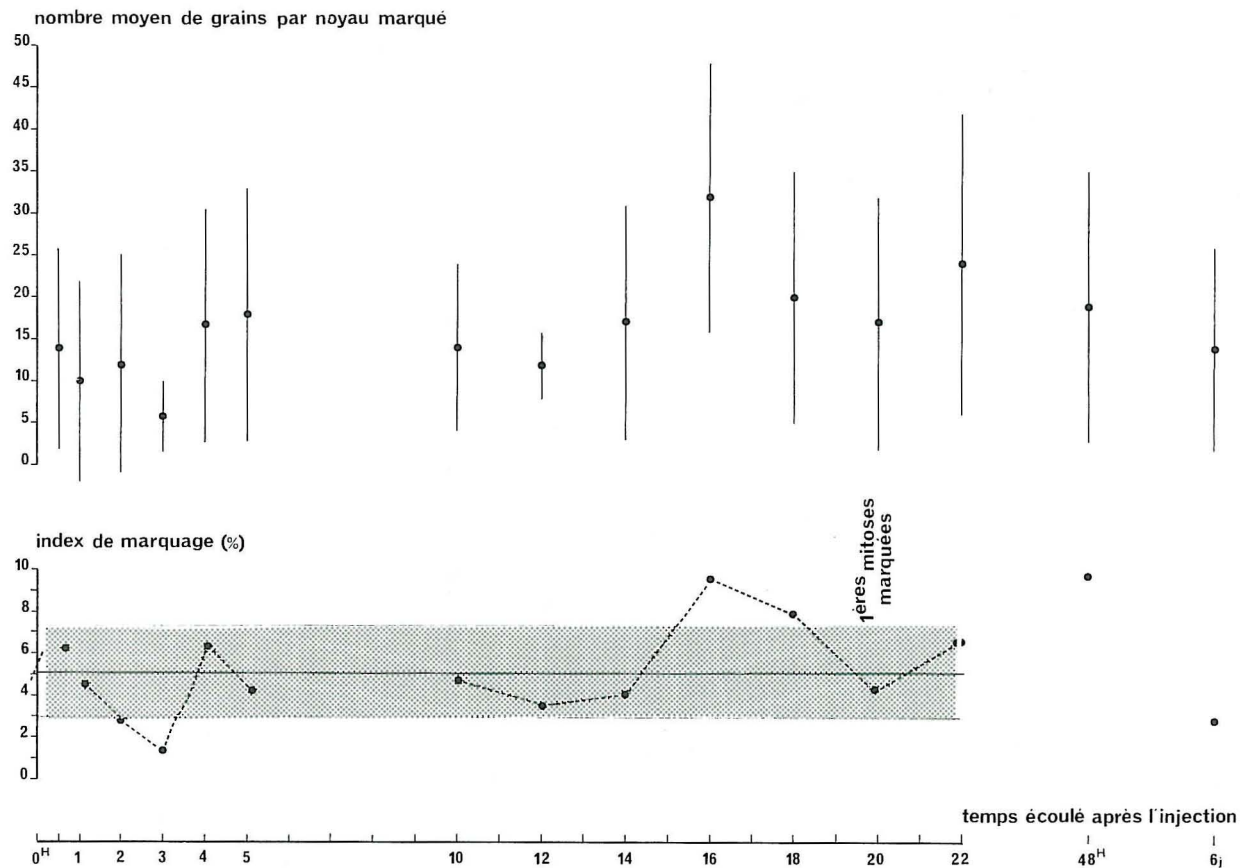


Fig. : Index de marquage et nombre moyen de grains d'argent compté par noyau marqué d'après les observations faites sur les coupes semi-fines lors de l'expérience 1 (cf. texte). La zone tramée représente la variabilité (écart-type) de l'index de marquage autour de sa valeur moyenne ($5,1 \pm 2,2$ %).

marquage nucléaire. Ceci indique une distribution et un métabolisme très rapides de la molécule injectée, comparables à ceux observés chez les Vertébrés (Messier & Leblond, 1960 ; Larra & Droz, 1970 ; Bisconte, 1979). Cette rapidité implique que la la ^3H -thymidine n'est disponible dans l'organisme que pour un temps relativement court. Les noyaux marqués sont ceux des cellules qui étaient en état prémitotique (*phase S*) au moment de l'injection.

Le marquage des noyaux des cellules des différentes couches tissulaires du tube digestif, de la paroi du corps ou de la paroi gonadique indique qu'une petite molécule, telle que la thymidine (p.m. 242 daltons), est efficacement transportée de la cavité coelomique vers tous les autres tissus. L'épithélium tégumentaire, qui est marqué (planche 2-C), n'est donc pas isolé ainsi que Ferguson (1970, 1982) en fait l'hypothèse en utilisant d'autres traceurs radioactifs (sur les Astéries). Ceci s'explique par le fait que la plupart des molécules marquées injectées dans un organisme sont transformées, voire dégradées dès leur entrée dans une cellule. Ces traceurs, ou bien leurs dérivés (marqués), sont utilisables au cours de synthèses pouvant se faire dans plusieurs compartiments cellulaires. Il en résulte une dilution plus ou moins rapide du marquage. La thymidine injectée, qui n'est pas un précurseur direct de l'ADN, n'est utilisable que pour la synthèse de cet acide nucléique, après transformation en nucléoside triphosphate, et seulement par des cellules en *phase S*. Une fraction ni dégradée, ni métabolisée de ce type de traceur a donc une possibilité plus importante qu'une autre d'atteindre la couche la plus externe (et la plus éloignée du point d'injection) de la paroi du corps. L'épithélium tégumentaire est marqué car une quantité suffisante de traceur a pu être transportée jusqu'à lui et utilisée sur place. Ceci confirme l'hypothèse du rôle important joué par le liquide coelomique dans le transport des nutriments (Féral, 1985).

Renouvellement de l'épithélium digestif

L'index de marquage de l'épithélium intestinal chez *L. gallienae* est estimé à environ 5 % pour les *entérocytes vésiculeux*. Ni mitose, ni noyau marqué n'ont été observés dans le cas des *entérocytes granulaires* (sans doute cellules zymogènes) ou des *cellules caliciformes* (cf. Féral, 1985). Ces deux dernières catégories cellulaires ne constituent probablement pas des populations *statiques*, mais plutôt des populations cellulaires *en expansion* à très faible taux de renouvellement. Elles ont vraisemblablement des *turn-over* indépendants les uns des autres. Ces cellules sécrétrices doivent donc persister relativement longtemps dans l'épithélium. Larra et Droz (1970) remarquent que cette stabilité des cellules sécrétrices n'est en fait qu'apparente ; la plupart des constituants cellulaires étant continuellement dégradés et remplacés. Selon Messier et Leblond (1960), ce serait le cas des cellules zymogènes (productrices d'enzymes) de l'estomac et du pancréas de Rat. Chen et Withers (1975) estiment, en revanche, que ces cellules très spécialisées n'ont pas de *turn-over*. Malgré son indice de marquage élevé, la population cellulaire constituée par les *entérocytes vésiculeux* se rapproche plus du type de population dit *en expansion* que de celui dit *en renouvellement* (même à zone de prolifération diffuse). On n'observe effectivement pas de décroissance significative de l'index de marquage 6 jours après l'injection de ^3H -thymidine (Fig. 1).

De plus des noyaux marqués sont encore observés 2 semaines après l'injection. La vitesse de renouvellement de ce type cellulaire est donc forcément faible.

La mesure de la durée des différentes phases du cycle cellulaire, basée sur le dénombrement des mitoses marquées, n'a pas été effectuée, ces mitoses étant beaucoup trop rares dans le tube digestif de *L. galliennei*. Seule la durée de la phase G_2 (repos prémitotique, cf. Bisconte, 1979) peut être évaluée. Les premières mitoses marquées, observables seulement sur quelques coupes, sont apparues 20 heures après l'injection. La ^3H -thymidine n'est incorporable à l'ADN que pendant la phase S (de synthèse). En supposant que le nucléoside fourni n'ait été utilisé qu'à la fin de la période de réplication de l'ADN, on peut estimer à 20 heures environ la durée maximale de la phase G_2 de cette cellule. Elle paraît nettement plus longue que dans le cas de cellules de Vertébrés où elle est comprise entre 1 et 7 heures (Grillo & Uros, 1968 ; Grant, 1978 ; Bisconte, 1979). Cependant, il a été montré que la ^3H -thymidine peut induire des radiolésions susceptibles de provoquer une modification de la durée de la phase G_2 ou bien d'empêcher la mitose (Larra & Droz, 1970 ; Bisconte, 1979). Ce temps maximum de repos prémitotique de 20 heures ne doit donc être considéré qu'à titre indicatif.

Les *entérocytes vésiculeux* se divisent dans l'épithélium digestif intestinal, sur toute la hauteur des villosités, et ne semblent pas migrer. Ces cellules se différencient donc sur place et sont fonctionnelles sur place, jusqu'à leur expulsion dans la lumière, à leur mort. La vitesse de ces phénomènes est vraisemblablement influencée par le cycle alimentaire et elle peut également varier au cours de l'année. L'index de marquage estimé à 5 % dans l'épithélium intestinal ne concerne donc que les holothuries de l'expérience 1 (maintenues en eau de mer courante, sans sédiment).

Les autres types cellulaires — *cellules en T* de l'œsophage et des constrictions pré- et post-stomacales et *cellules en massue* de l'estomac (cf. Féral, 1985) — n'ont fait l'objet que d'observations purement qualitatives. Les cellules de type *œsophagien* semblent avoir les mêmes caractéristiques de prolifération que les *entérocytes vésiculeux*. Le marquage des noyaux persiste également 15 à 20 jours après l'injection de ^3H -thymidine. La ou les populations cellulaires des épithéliums œsophagiens et des constrictions sont de type *en expansion*, à l'exception des cellules muqueuses, non marquées. Les noyaux des cellules de l'estomac incorporent très rarement de la thymidine tritiée. Ces *cellules en massue* ont certainement un *turn-over* extrêmement faible.

En se basant sur les quelques travaux publiés sur le renouvellement des cellules somatiques d'Invertébrés, on peut conclure que les populations cellulaires constituant leurs appareils digestifs sont du type dit *en expansion* (Huîtres Mix, 1971 ; Ascidies Ermak, 1975 ; 1981). De telles populations cellulaires ont également été décrites chez les Échinides (Holland *et al.*, 1965 ; Anisimov, 1982) et chez les astéries (Anderson, 1965 a, b). Les populations cellulaires *en expansion* caractérisent également certains Vertébrés : tube digestif des larves (Hansen & Youson, 1978) et des jeunes lamproies (Youson & Langille, 1981), ainsi que de la Carpe (Gas & Noiallac-Depeyre, 1974). Les populations cellulaires *en renouvellement* caractérisent les épithéliums digestifs de Vertébrés supérieurs (Grant, 1978 ;

Bisconte, 1979). Cependant, quelques cas de proliférations cellulaires de ce type ont été signalés chez les Ascidies (Ermak, 1975, 1981), mais aussi dans le cas des cellules productrices des dents des Oursins réguliers (Holland *et al.*, 1965).

Renouvellement des populations cellulaires somatiques non digestives

Les cellules du mésothélium se divisent dans une bien moins grande proportion que la plupart des cellules de l'épithélium digestif. Les mitoses y sont encore moins nombreuses et les noyaux sont peu souvent marqués après injection intra-cœlomique de ^3H -thymidine ; l'index de marquage est inférieur à 1 %. Le mésothélium a été considéré comme la seule source de cœlomocytes libres dans la cavité générale chez les Astéries (Vanden Bossche & Jangoux, 1976). Cette hypothèse contredit les résultats de Holland *et al.* (1965) et n'est pas confirmée par les présentes observations. Les cœlomocytes, y compris libres, sont observés (grâce au marquage) se divisant apparemment là où ils se trouvent, dans le tissu conjonctif, dans les lacunes hémales, dans les vaisseaux hémaux ou dans le liquide coelomique. L'accumulation, parfois importante, de petits cœlomocytes en prémitose (noyaux marqués) dans les vaisseaux hémaux (planche 2-D) soutient l'hypothèse de Prosser et Judson (1952) et de Hetzel (1965), selon laquelle on peut estimer que l'un des rôles du système hémal serait la production de cœlomocytes. Il n'est cependant pas possible de déterminer l'importance relative du système hémal en tant qu'organe cytopoiétique.

L'observation de cellules morulaires marquées, déjà faite *in vivo* et *in vitro* par Holland *et al.* (1965), est relativement surprenante dans la mesure où ces cœlomocytes sont très différenciés. Bisconte (1979) évoque la possibilité d'une incorporation de ^3H -thymidine dans certaines cellules en phase de repos G_0 , et celle d'un marquage cytoplasmique qui peut être attribué à une incorporation dans l'ADN mitochondrial ou bien à de la thymidine liée à des macromolécules. Cependant, ces phénomènes sont très rares et de plus la fixation, la déshydratation et l'inclusion éliminent la ^3H -thymidine non incorporée ainsi que ses produits métaboliques.

Cette étude de la dynamique cellulaire de *L. galliennei* montre que les populations de cellules somatiques sont en expansion (avec un index de marquage élevé) ou bien statiques. Chez ce détritivore, l'épithélium digestif, soumis à l'abrasion permanente du sédiment en transit, se renouvelle activement malgré la protection d'une cuticule, dans certains segments, et d'une très abondante sécrétion muqueuse (Féral, 1980, 1985).

REMERCIEMENTS

Ce travail n'aurait pas été mené à bien sans l'aide de C. Bernard et de P. Lévi pour la confection des coupes semi-fines et le coulage des autoradiographies, et de P. Lozouet pour le tirage des photographies. Je remercie également J. Bergerard et P. Lasserre pour l'accueil qu'ils m'ont réservé à la Station de Biologie Marine de Roscoff.

BIBLIOGRAPHIE

- ANDERSON, J.M., 1965 a. Studies on visceral regeneration in sea-stars. III. Regeneration of piloric caeca in Asteriidae, with notes on the source of cells in regenerating organs. *Biol. Bull.*, 128 : 1-23.
- ANDERSON, J.M., 1965 b. Studies on visceral regeneration in sea-stars. II. Regeneration of the cardiac stomach in *Asterias forbesi* (Desor). *Biol. Bull.*, 129 : 454-470.
- ANISIMOV, A.P., 1982. Étude de la prolifération de l'épithélium du tube digestif des oursins. *Biol. Moria*, 5 : 49-55 (en russe, résumé anglais).
- BISCONTE, J.C., 1979. Kinetic analysis of cellular populations by means of the quantitative radioautography. *Intn. Rev. Cytol.*, 57 : 75-126.
- CHEN, K.Y. & WITHERS, H.H., 1975. Proliferative capacity of parietal and zymogen cells. *J. Anat.*, 120 : 421-432.
- ERMAK, T.H., 1975. Cell proliferation in the digestive tract of *Styela clava* (Urochordata : Ascidiacea) as revealed by autoradiography with tritiated thymidine. *J. exp. Zool.*, 194 : 449-466.
- ERMAK, T.H., 1981. A comparison of cell proliferation patterns in the digestive tract of ascidians. *J. exp. Zool.*, 217 : 325-339.
- FÉRAL, J.-P., 1980. Cuticule et bactéries associées des épidermes digestif et tégumentaire de *Leptosynapta galliennei* (Heralpath) (Holothurioidea : Apoda).- premières données. *Echinoderms : present and past*, M. Jangoux (ed.), Balkema, Rotterdam : 285-290.
- FÉRAL, J.-P., 1985. Nutrition chez un invertébré marin détritivore : *Leptosynapta galliennei* (Holothurioidea : Echinodermata). Thèse de doctorat d'état, Université de Paris-VI et Muséum National d'Histoire Naturelle, 390 pp.
- FÉRAL, J.-P. & C. MASSIN, 1982. Digestive systems : Holothuroidea. *Echinoderm nutrition*, M. Jangoux & J.M. Lawrence (eds), Balkema, Rotterdam : 191-212.
- FERGUSON, J.C., 1970. An autoradiographic study of the translocation and utilization of amino acids by starfish. *Biol. Bull.*, 138 : 14-25.
- FERGUSON, J.C., 1982. Nutrient translocation. *Echinoderm nutrition*, M. Jangoux & J.M. Lawrence (eds), Balkema, Rotterdam : 373-393.
- GAS, N. & J. NOAILLAC-DEPEYRE, 1974. Renouvellement de l'épithélium intestinal de la Carpe (*Cyprinus carpio* L.) Influence de la saison. *C.R. Acad. Sci., Paris, (D)*, 279 : 1085-1088.
- GRANT, P., 1978. *Biology of developing system*, Holt, Rinehart & Winston, New-York, 720 pp.
- GRILLO, R.S. & P. URSO, 1968. An autoradiographic evaluation of the cell reproduction cycle in the newt *Triturus viridecens*. *Oncology*, 22 : 208-217.
- HANSEN, S.J. & J.H. YOUSON, 1978. Cell renewal in the epithelium of the alimentary tract of the larval lamprey *Petromyzon marinus* L. *J. Morph.*, 155 : 219-236.
- HETZEL, H.R., 1965. Studies on holothurian coelomocytes. II. The origin of coelomocytes and the formation of brown bodies. *Biol. Bull.*, 128 : 102-111.
- HOLLAND, N.D., J.H. PHILLIPS & A.C. GIESE, 1965. An autoradiographic investigation of coelomocyte production in the purple sea-urchin (*Strongylocentrotus purpuratus*). *Biol. Bull.*, 128 : 259-270.
- JANGOUX, M., 1982. Digestive system : general considerations. *Echinoderm nutrition*, M. Jangoux & J.M. Lawrence (eds), Balkema, Rotterdam : 185-186.
- LARRA, F. & B. DROZ, 1970. Techniques radioautographiques et leur application à l'étude du renouvellement des constituants cellulaires. *J. Microsc.*, 9 : 845-880.
- MESSIER, B. & C.P. LEBLOND, 1960. Cell proliferation and migration as revealed by radioautography after injection of thymidine-³H into male rats and mice. *Amer. J. Anat.*, 106 : 247-265.
- MIX, M.C., 1971. Cell renewal systems in the gut of the yoster *Crassostrea gigas* (Mollusca : Bivalva). *Veliger*, 14 : 202-203.
- MIX, M.C. & S.P. TOMASOVIC, 1973. The use of high specific activity tritiated thymidine and autoradiography for studying molluscan cells. *J. Invert. Pathol.*, 21 : 318-320.
- PROSSER, C.L. & C. JUDSON, 1952. Pharmacology of hemal vessels of *Stichopus*. *Biol. Bull.*, 102 : 249-252.
- ROGERS, A.W., 1973. *Techniques of autoradiography*, Elsevier, Amsterdam, 338 pp.
- TOMASOVIC, S.P. & M.C. MIX, 1974. Cell renewal in the gill of the freshwater mussel *Margaritifera margaritifera* : an autoradiographic study using high specific activity tritiated thymidine. *J. Cell. Sci.*, 14 : 561-569.
- VANDEN BOSSCHE, J.P. & M. JANGOUX, 1976. Epithelial origin of starfish coelomocytes. *Nature*, 261 : 227-228.
- YOUSON, J.H. & R.M. LANGILLE, 1981. Proliferation and renewal of the epithelium in the intestine of young adult anadromous sea lamprey *Petromyzon marinus* L. *Can. J. Zool.*, 59 : 2341-2349.