Cellule R_1 et musculature des Filaires; analyse ultrastructurale (1)

par G. PETIT

Laboratoire de Zoologie-Vers, associé au C.N.R.S.,
Muséum national d'Histoire naturelle, 43, rue Cuvier, F 75231 Paris Cedex 05.

RESUME. L'étude ultrastructurale de l'ontogénèse d'une Filaire, *Dipetalonema* (*Molinema*) *desseetae*, confirme l'hypothèse de Bain (1970), selon laquelle la cellule R_1 intervient dans la formation de la musculature de la Filaire adulte.

L'analyse anatomique du fourreau épithélio-musculaire, les jonctions entre les divers types de cellules, l'existence de cellules intermédiaires entre les cellules embryonnaires issues de R_1 et les cellules musculaires, montrent que les cellules-filles de R_1 , disposées en 4 files longitudinales, donnent naissance successivement, du 5^e au 13^e jour, à une dizaine de files de cellules musculaires, dans chaque champ submédian.

La musculature primordiale de la microfilaire, constituée d'une file de cellules musculaires par champ, n'est pas de nature ectodermique, comme il avait été supposé, mais mésenchymateuse.

Au contact des cellules issues de la R_1 , elle subit une légère dédifférenciation (environ 5 rangées de myofilaments, au lieu de 10-20 chez la microfilaire et la L_3), puis son évolution s'aligne sur celle des cellules musculaires néoformées.

La cellule R_1 , dont l'existence et la destinée paraissent constantes chez tous les Nématodes Phasmiens complètement hétéroxènes, présente donc une certaine analogie avec les disques imaginaux des Insectes holométaboles.

R_1 cell and musculature of *Filariae* ; ultrastructural analysis.

SUMMARY. Ultrastructural study of ontogenesis of a filaria, *Dipetalonema* (M.) *desseetae*, confirms Bain's (1970) hypothesis, following which the R_1 cell plays a role in the elaboration of the musculature of the adult filaria.

(1) Ce travail a pu être effectué grâce à une subvention de l'Organisation Mondiale de la Santé.
Accepté le 23 mai 1980.

Anatomical observations related to the hypodermis and musculature of the larva (distribution of the cells, nature of their junctions, presence of intermediate cells between embryonic cells derived from R_1 cell and muscle cells) show that the cells derived from R_1 , which form four longitudinal files, produced successively, from 5th to 13th day, about ten files of muscle cells in each submedian field.

The primary musculature of the microfilaria, which corresponds to a single file of muscular cells in each field, is not ectodermic, as supposed before, but mesenchymatic. At the vicinity of R_1 daughter cells, this musculature is slightly dedifferentiated (about 5 files of myofilaments instead of 10-20 in the microfilaria and the L_3); then its evolution becomes identical to this of new formed muscle cells.

The presence as well as the evolution of the R_1 cell seem to be identical in every totally heteroxenous Phasmodian Nematodes; both suggest analogy with the imaginal discs of the holometabolic Insects.

Introduction

La microfilaire est un jeune stade I en semi-diapause, qui possède quelques cellules remarquables par leur grande taille : la cellule excrétrice et les 4 cellules R (ou G).

Alors qu'il est établi que les cellules R_2 , R_3 et R_4 donnent les 3 glandes rectales de la Filaire (Schacher et Khalil, 1968; Bain, 1970 et 1972; Laurence et Simpson, 1971), le rôle de la cellule R_1 reste controversé.

Bain (1970) observe que la cellule R_1 est située entre le bourgeon rectal ectodermique et le bourgeon intestinal endodermique, et qu'elle subit une série de divisions pour former 4 files longitudinales de cellules, situées dans les 4 axes submédiens de la larve. Ces deux faits l'amènent à supposer que la cellule R_1 est une initiale mésenchymateuse, qui engendre la musculature de la Filaire et elle pose comme hypothèse que les cellules contractiles de la microfilaire sont ectodermiques.

Cette dernière hypothèse n'est pas vérifiée, car les analyses ultrastructurales (Kozek, 1971; Mac Laren, 1972; Johnston et Stehbens, 1973; Kanagasuntheram et coll., 1974; Laurence et Simpson, 1974) montrent que les 4 files longitudinales de cellules musculaires de la microfilaire reposent sur l'ectoderme et n'en font pas partie.

L'origine de la musculature semble donc complexe, non seulement chez les Filaires, mais chez d'autres Nématodes hétéroxènes pour lesquels l'ontogénèse et les divisions de la cellule R_1 sont identiques à ce qui a été décrit par Bain :

Diplotriaenoidea : Bain et Vaucher, 1973; Aprocotoidea : Quentin et coll., 1976; Spiruroidea : Bain, 1972; Quentin et Poinar, 1973; Camallanoidea : Vaucher et Bain, 1973; Seuratoidea : Quentin et Poinar, 1973; Subuluroidea : Quentin et Poinar, 1973.

Nous nous proposons donc de suivre l'évolution de la cellule R_1 en microscopie électronique, en prenant comme exemple la Filaire de laboratoire *Dipetalonema (Molinema) dessetae* Bain, 1973.

MATÉRIEL ET TECHNIQUES.

L'entretien de *D. (M.) dessetae* chez *Aedes aegypti*, (souche Gkep) permet d'obtenir de fortes infestations, avec un développement synchrone et rapide des larves en 15 jours, à 27°.

Le tissu adipeux des *Aedes* parasités est fixé et contrasté pour la microscopie électronique suivant les techniques décrites précédemment (Petit et Spitalier-Kaveh, 1979).

L'analyse morphologique des larves est faite sur des coupes transversales sériées, effectuées d'arrière en avant, à partir du pore anal.

I. — MISE EN PLACE DES FILES LONGITUDINALES DE CELLULES EMBRYONNAIRES ISSUES DE LA CELLULE R_1 .

La microscopie électronique confirme les observations faites en microscopie optique.

Au 5^e jour, la cellule R_1 s'est divisée 2 fois dans le sens transversal et a donné naissance à 4 cellules occupant chacune un des champs latéromédians, en avant des cellules rectales (fig. 1 B, 2 B et fig. 3). Chacune de ces 4 initiales donne naissance, par divisions successives dans le sens longitudinal, à 4 files qui progressent d'arrière en avant et atteignent la région œsophagienne dès le 6^e jour. Il apparaît que ces files longitudinales ont une situation un peu variable, car elles sont tantôt accolées aux cordes médianes, tantôt aux cordes latérales; elles restent toujours séparées de ces formations ectodermiques par une lame basale.

Au cours du développement, la cellule R_1 et ses descendants sont faciles à identifier par leur aspect ultrastructural: gros noyau à chromatine complètement dispersée et nucléole bien individualisé; cytoplasme avec ribosomes souvent sous forme de polysomes, granules de glycogène, corps de Golgi; il y a peu de réticulum endoplasmique.

Ce sont des cellules indifférenciées, qui ne forment jamais d'attaches fixes (hemidesmosomes ou desmosomes) ni avec l'ectoderme, ni avec les cellules musculaires; elles conservent l'aspect de cellules embryonnaires.

II. — FORMATION DES CELLULES MUSCULAIRES ISSUES DE LA LIGNEE R_1 .

Plusieurs images histologiques indiquent clairement que les cellules musculaires sont formées les unes après les autres par les divisions transversales successives des files des cellules R_1 . La preuve de ce phénomène est apportée par les observations suivantes:

a. Dans chaque champ submédian, les cellules filles de R_1 sont étroitement accolées aux cellules musculaires (fig. 2 B, C, D, E et fig. 3, 4, 5 et 6) pour former un ensemble bien individualisé, nettement séparé de l'ectoderme par une lame basale.

b. Dans quelques cas, il existe entre la cellule de type R_1 et les cellules musculaires une cellule d'aspect intermédiaire (fig. 2 E et fig. 6) : comme les cellules musculaires voisines, elle est accrochée à l'hypoderme par des hémidesmosomes et elle possède des microtubules à sa base ; mais, comme la cellule fille de R_1 , elle est toujours dépourvue de myofilaments.

La formation des cellules musculaires commence à partir du 5^e jour (2 cellules musculaires par champ submédian) (fig. 2 B, fig. 3) ; elle est terminée chez la larve en mue II âgée de 13 jours (fig. 7), qui a environ 11 cellules par champ submédian, toutes musculaires, la lignée R_1 n'étant plus morphologiquement distincte.

III. — EVOLUTION DE LA MUSCULATURE PRIMITIVE DE LA MICROFILAIRE.

Comme il a été montré chez les microfilières de différentes espèces, la musculature est constituée de 4 files longitudinales de cellules musculaires.

Sur une coupe du 5^e jour située juste en avant du rectum, nous voyons la cellule de la lignée R_1 (R_1) accolée à 2 cellules musculaires (M_1) et (M_2) (fig. 2 B et fig. 3). La cellule M_1 a un cytoplasme clair ; la cellule M_2 , bien que déjà pourvue de myofilaments, a un cytoplasme identique à celui de la R_1 . Nous pensons donc que la cellule claire correspond à la cellule musculaire primordiale et que la M_2 vient d'apparaître par division de la R_1 .

Sur une coupe correspondante du 6^e jour, nous observons au contraire une cellule R_1 englobant 2 cellules musculaires identiques entre elles (fig. 2 C et fig. 4).

Il semble donc que les cellules musculaires primordiales restent en place et soient simplement remaniées au contact des cellules nouvelles-nées. Aucune image de lyse de la musculature primordiale et aucune image de phagocytose n'a jamais été rencontrée.

L'ultrastructure des muscles de la microfilaire montre l'existence de 10 à 15 rangées de myofilaments épais ; lors du développement de la Filaire, les cellules musculaires, aussi bien la primordiale différenciée que les néoformées, n'ont plus que 5 rangées environ de myofilaments.

Au 13^e jour, les cellules musculaires ont développé leur partie contractile et possèdent une vingtaine de rangées de myofilaments épais.

Conclusion

La musculature de la Filaire *Dipetalonema* (*Molinema*) *dessetae* et, semble-t-il, celle de tous les Nématodes Phasmidiens complètement hétéroxènes (1), est mise en place en deux temps successifs.

(1) Nous entendons par là, les Nématodes dont le cycle évolutif, du début de la L_1 jusqu'à la L_3 , s'effectue chez un hôte intermédiaire.

L'essentiel de la musculature (environ 10 files de cellules musculaires sur 11, dans chacun des quatre champs) provient des cellules issues de la division de la R₁.

La musculature primordiale de la microfilaire, réduite à une file de cellules musculaires par champ, ne dégénère pas. Elle subit une légère dédifférenciation et son développement s'aligne ensuite sur celui des cellules musculaires néoformées.

La cellule R₁, la plus grande des cellules existant chez une microfilaire, qui reste à l'état quiescent jusqu'au 3^e jour du développement chez le vecteur, évoque donc, à une échelle réduite, les cellules embryonnaires des disques imaginaux qui interviennent dans la métamorphose des Insectes holométaboles.

Symboles des légendes des figures

CD, corde dorsale ; Ci, cellule intermédiaire ; CL, corde latérale ; D, desmosome ; Exc, cellule excrétrice ; Gn, cellule nerveuse ; H, Hémocèle ; h, hypoderme ; HD, hemidesmosome ; I, intestin ; LB, lame basale ; M, cellule musculaire ; M₁, cellule musculaire primordiale ; M₂, cellule musculaire néoformée ; m, mue ; mt, microtubule ; my, myofilaments ; N, noyau ; n, filet nerveux ; Œ, œsophage ; Pr, prérectum ; R₁, cellule R₁ ou de la lignée R₁ ; TA, tissu adipeux du moustique.

Bibliographie

- Bain O. : La cellule R₁ des microfilaries (Nematoda) initiale du mésenchyme. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 1970, 45, 227-235.
- Bain O. : Recherches sur la morphogénèse des Filaires chez l'hôte intermédiaire. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 1972, 47, 251-305.
- Bain O. : Une nouvelle Filaire de Rongeur sud-américain, *Dipetalonema dessetae* n. sp. (Nematoda, Filarioidea). *Bull. Mus. Nat. Hist. Nat.*, Paris, 3^e sér., 1973, 116, 309-316.
- Bain O. : Développement larvaire de *Dipetalonema dessetae*, Filaire de Rongeur entretenue au laboratoire. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 1974, 49, 451-466.
- Bain O., Vaucher Cl. : Développement larvaire de *Diplotriaena tridens* (Nematoda : Filarioidea) chez *Locusta migratoria*. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 1973, 48, 81-89.
- Johnston M. R. L., Stehbins W. E. : Ultrastructural studies on the microfilaria of *Cardianema* sp. Alicata, 1933 (Nematoda ; Onchocercidae). *Int. J. Parasitol.*, 1973, 3, 243-250.
- Kanagasuntheram R., Singh M., Ho B. C., Chan H. L. : Some ultrastructural observations on the microfilaria of *Brelinia sergenti* — the excretory complex, rectal cells and anal vesicle. *Int. J. Parasitol.*, 1974, 4, 7-15.
- Kozek W. J. : Ultrastructure of the microfilaria of *Dirofilaria immitis*. *J. Parasitol.*, 1971, 57, 1052-1067.
- Laurence B. R., Simpson M. G. : The Microfilaria of *Brugia* : a first stage Nematoda Larva. *J. Helminth.*, 1971, 45, 23-40.
- Laurence B. R., Simpson M. G. : The ultrastructure of the microfilaria of *Brugia* (Nematoda : Filarioidea). *Int. J. Parasitol.*, 1974, 4, 523-536.
- Mac Laren D. J. : Ultrastructural studies on microfilariae (Nematoda : Filarioidea). *Parasitology*, 1972, 65, 317-332.
- Petit G., Spitalier-Kaveh H. : La Filaire *Dipetalonema dessetae* chez *Aedes aegypti* ; étude du tissu adipeux parasité. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 1979, 54, 81-92.

- Quentin J. C., Poinar G. O. : Comparative study of the larval development of some heterexenous subulurid and spirurid Nematodes. *Int. J. Parasitol.*, 1973, 3, 809-827.
- Quentin J. C., Troncy P. M., Barre N. : *Aprocta cylindrica* Linstow, 1883, Filaire ovipare parasite d'oiseaux Plocéides au Tchad. Morphogénèse larvaire du Nématode. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 1976, 51, 83-93.
- Schacher J. F., Khalil G. M. : Development of *Foleyella philistinae* Schacher and Khalil, 1967 (Nematoda : Filarioidea) in *Culex pipiens molestus* with notes on pathology in the Arthropod. *J. Parasitol.*, 1968, 54, 869-878.
- Vaucher C., Bain O. : Développement larvaire de *Dracunculus doi* (Nematoda), parasite d'un serpent malgache, et description de la femelle. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 1973, 48, 91-104.
-

Fig. 1. Morphologie des larves de *D. (M.) dessetae* correspondant aux coupes représentées (les flèches indiquent le niveau de ces coupes). A : stade 1 à 3 jours : cellule R_1 non divisée et début d'apparition de l'ébauche intestinale (2 cellules) ; B : stade I de 5 jours : premières divisions de la R_1 , ébauches rectale, intestinale et œsophagienne formées. C : stade I de 6 jours au début de la mue I : cordon digestif mis en place ; D : larve de 9 jours au stade II ; E : larve de 11 jours au début de la mue II (d'après Bain, 1974 ; l'âge indiqué pour les larves correspond au développement chez *Aedes aegypti*, à 27°).

Fig. 2. Evolution de la cellule R_1 et de la musculature ; représentation schématique des coupes transversales ultrafines. A : larve de 3 jours : cellule R_1 non divisée et cellules musculaires primordiales M_1 (une par champ). B : larve de 5 jours, au niveau du prérectum ; les premières divisions de la R_1 ont donné dans chaque champ une cellule embryonnaire (R_1) et une nouvelle cellule musculaire (M_2) accolée à la cellule musculaire primordiale (M_1). C : larve de 6 jours, au niveau de l'extrémité postérieure de l'intestin ; D : larve de 9 jours, au niveau de l'oesophage et de la cellule excrétrice : augmentation du nombre des cellules musculaires. E : larve de 11 jours, au niveau de l'intestin : présence d'une cellule intermédiaire (C_i) entre les cellules de type R_1 et les cellules musculaires. [L'hypoderme et les éléments nerveux sont en grisé ; les cellules musculaires ont une base striée, haute à 3 jours, plus basse ensuite quand les cellules musculaires sont peu contractiles ; la cellule R_1 et ses descendants non contractiles sont ponctués ; la cellule intermédiaire est ponctuée et a des croix à sa base ; éch., 5 µm].

Fig. 3. Deux champs latérodorsaux correspondant à la figure 2 B (5^e jour) : les cellules musculaires primordiales M_1 , plus claires, sont en cours de dédifférenciation ($\times 28.000$).

Fig. 4. Un des champs submédians de la figure 2 C (6^e jour) : les cellules musculaires M_1 et M_2 sont maintenant identiques ($\times 40.000$).

Fig. 5. Un champ submédian de la figure 2 D (9^e jour) : la cellule de type R_1 et les 4 cellules musculaires M forment un ensemble, nettement séparé de l'ectoderme par une lame basale ($\times 84.000$).

Fig. 6. Un champ submédian de la figure 2 E (11^e jour) : il comprend une cellule de type R₁, une cellule intermédiaire (Ci) et des cellules musculaires ; ces deux derniers types sont fixés à l'hypoderme par des hemidesmosomes ($\times 76.000$).

Fig. 7. Un champ submédian d'une larve de 14 jours dans la mue II : toutes les cellules du champ (11) sont musculaires, à partie contractile développée ($\times 20.000$).