LES MODIFICATIONS STRUCTURALES DU REIN CHEZ *LYMNAEA TRUNCATULA* Müller INFESTÉE PAR *FASCIOLA HEPATICA* L.

D. RONDELAUD et D. BARTHE*

RÉSUMÉ. Lorsque *Lymnaea truncatula* est infestée par *Fasciola hepatica*, le rein du mollusque présente des modifications structurales à partir du 21^e jour post-exposition à 20° C. Ces modifications portent sur la destruction des cellules épithéliales des cellules rénales, suivie par une hyperplasie compensatrice. Par la suite ces cellules hyperplasiées présentent à nouveau des destructions vers les 49^e et 70^e jours post-exposition. La signification de ces résultats est discutée.

The structural changes of the kidney in *Lymnaea truncatula* Müller infected by *Fasciola hepatica* L.

SUMMARY. The kidney of *Lymnaea truncatula* showed structural changes when infected by *Fasciola hepatica*. These changes first occurred at day 21 postexposure at 20° C and concerned a destruction of renal epithelial cells followed by an epithelial hyperplasia. These hyperplasiated epithelial cells again showed a destruction at days 49 and 70 post-exposure. The significance of these results is discussed.

Introduction

Lorsque le mollusque *Lymnaea truncatula* assure le développement des formes larvaires de *Fasciola hepatica*, ses viscères présentent des destructions tissulaires suivies de leur reconstitution.

Deux rapports (Rondelaud et Barthe, 1978, 1980b) ont décrit ces modifications structurales au niveau des appareils digestifs et génital chez les limnées parasitées. A la température de 20° C, les destructions tissulaires se produisent entre la 3^e et la 6^e semaine. La reconstitution débute vers la 7^e semaine postexposition et se reconnaît

* Laboratoire d'Histologie, Faculté de Médecine, 2, rue du Docteur Raymond-Marcland, F 87032 Limoges Cedex.

Accepté le 29 septembre 1982.

grâce à l'apparition d'une hyperplasie au niveau des épithéliums et/ou par une reprise de l'activité fonctionnelle des diverses glandes.

Ce travail a pour but de vérifier si le rein de *L. truncatula* présente des modifications structurales lorsque ce mollusque est parasité.

Matériel et méthodes

1 - Protocole expérimental

Le matériel animal est constitué par : a) des limnées ayant une infestation fasciolienne évolutive ; b) des témoins non exposés aux miracidiums. Ces mollusques proviennent d'une jonçaille de pente située au Châtenet, commune de Feytiat (Haute-Vienne) et mesurent $4 \pm 0,1$ mm de hauteur au départ de l'expérimentation.

Les limnées sont élevées sur des bacs standard (Rondelaud, 1974) à raison de 50 individus par bac. Le sédiment de nature siliceuse et l'eau utilisée proviennent de la localité d'origine où les mollusques sont récoltés. Cette eau est oxygénée par des pompes à air, maintenue à un niveau constant et changée partiellement deux fois par semaine. Les bacs sont placés dans une salle climatisée à 20° C et exposés à la lumière artificielle avec une photophase de 12 heures diurnes et une intensité de 3 000 lux. De la salade en lyse est ajoutée deux fois par semaine en complément des algues présentes sur ces bacs d'élevage.

Les limnées sont exposées chacune à un seul miracidium juste éclos pendant 5 à 6 heures. Les œufs de *F. hepatica* utilisés proviennent de la vésicule biliaire de bovins présentant une infestation importante ; ils sont tamisés, lavés et maintenus à 20° C pendant 20 jours à l'obscurité totale (Ollerenshaw, 1971).

La survie des mollusques infestés est de 10 à 12 semaines à la température de 20° C. Chaque semaine, cinq individus sont sacrifiés, sauf en fin d'expérience où les deux derniers sacrifices ne comprennent chacun que trois animaux. Quatre mollusques témoins sont sacrifiés par semaine.

Les limnées destinées au sacrifice sont plongées immédiatement dans le fixateur de Bouin ; leur coquille est aussitôt détruite sous loupe binoculaire de manière à laisser en place les parthenitae. Les individus fixés sont ensuite débités en coupes sérieées de 5 μ m d'épaisseur et colorés par l'hématoxyline de Harris — trichrome de Gabe modifié.

2 - Présentation des résultats

Ces résultats concernent :

- le nombre de cellules présentes sur une longueur d'épithélium rénal de 100 μ m ;
- la hauteur des cellules épithéliales établie par des mesures sur 100 cellules au moins pour chaque limnée.

Les diverses valeurs obtenues sont ramenées à une moyenne.

Résultats

1 - Les limnées témoins

Le rein se présente sous la forme d'un sac allongé dans le sens antéropostérieur. Ce sac est élargi dans la partie postérieure ; la partie antérieure est plus effilée et se continue par l'uretère. La lumière du rein communique avec celle de l'organe amibocyttaire.

De nombreuses lamelles rénales partent des parois de ce sac. Elles sont constituées chacune par : a) un axe « conjonctif » central et réduit avec un espace hémolymphatique le plus souvent collabé et quelques « fibroblastes » reconnaissables à leur noyau aplati ; b) un épithélium unistratifié superficiel avec des cellules prismatiques présentant chacune un noyau basal ovoïde et une vacuole apicale renfermant une concrétion ovoïde ou sphérique (*Pl. I, n° 1*).

L'aspect de ces lamelles est le même chez tous les témoins examinés. Le nombre des cellules épithéliales est toujours compris entre 16 et 17 pour une longueur d'épithélium de 100 μm ; leur hauteur est variable avec des valeurs comprises entre 13 et 15 μm (résultats non représentés). Quelques concrétions isolées sont parfois présentes dans la lumière de l'organe.

L'uretère est constitué par un épithélium unistratifié avec des cellules prismatiques reposant sur une membrane basale. Ces cellules épithéliales ont un noyau parfois central avec une forme ovoïde, le plus souvent en position apicale avec une forme aplatie.

2 - Les limnées infestées

Chez les limnées sacrifiées au 7^e et au 14^e jours post-exposition, la lumière rénale est vide. Les lamelles ont une disposition et une structure normales. Le « tissu conjonctif » axial est toujours réduit et présente parfois un ou deux amibocytes dans l'espace hémolymphatique. Les cellules épithéliales ont un aspect normal et leur nombre reste constant : 16 cellules en moyenne pour une longueur d'épithélium de 100 μm (*fig. 1 A*) ; la hauteur moyenne de ces cellules par contre s'accroît en passant de 12,6 μm au début de l'expérimentation à 14,4 μm au 14^e jour post-exposition (*fig. 1 B*).

Chez les limnées sacrifiées au 21^e jour post-exposition, la lumière rénale contient : a) des nodules de forme ovoïde ou sphérique mesurant 40 à 50 μm et constitués par des cellules épithéliales reconnaissables grâce à leurs concrétions et des « fibroblastes » disposés sans ordre (*Pl. I, n° 2*) ; b) des concrétions libres souvent nombreuses à côté de noyaux nus de cellules épithéliales et de fragments cellulaires en voie de lyse (*Pl. I, n° 3*). Les lamelles rénales sont plus rares, souvent dilatées et de longueur réduite. Leur « tissu conjonctif » est alors très visible avec la présence d'amibocytes à noyau excentré et ovoïde, de « fibroblastes » assez nombreux et de noyaux de cellules épithéliales avec une taille variable : la densité de ces cellules est alors très

PLANCHE I.

caractéristique (*Pl. I, n° 3*). Le nombre des cellules épithéliales ne varie pas (*fig. 1 A*), mais leur aspect change : les unes possèdent encore leurs concrétions et ont une hauteur de 16 à 17 μm ; par contre d'autres cellules ont perdu leurs concrétions et subissent un effondrement de leur hauteur avec une valeur comprise entre 13 et 14 μm (hauteur moyenne de 15,4 μm : *fig. 1 B*).

FIG. 1. — Les modifications cytologiques au niveau des cellules épithéliales rénales chez *L. truncatula* infestée par *F. hepatica* : a) Le nombre de cellules décomptées sur une longueur d'épithélium de 100 μm (*fig. 1 A*) ; b) La hauteur des cellules épithéliales (*fig. 1 B*). Les valeurs moyennes et extrêmes sont indiquées.

PLANCHE I.

- N° 1 : Cellules épithéliales rénales d'aspect normal. Limnée témoin sacrifiée au 14^e jour d'expérimentation. G. : $\times 370$.
- N° 2 : Nodule (flèche) dans la lumière rénale. Limnée infestée sacrifiée au 21^e jour postexposition. G. : $\times 400$.
- N° 3 : Concrétions libres (flèches) dans la lumière rénale. Limnée infestée sacrifiée au 21^e jour postexposition. G. : $\times 400$.
Noter l'épaississement du « tissu conjonctif » des lamelles rénales.
- N° 4 : Hyperplasie des cellules épithéliales rénales. Limnée infestée sacrifiée au 28^e jour postexposition. G. : $\times 400$.
- Abréviation = G. : grossissement.

Chez les mollusques sacrifiés au 28^e jour postexposition, la lumière rénale contient encore quelques concrétions libres ; les nodules sont alors exceptionnels. L'aspect des lamelles rénales change. Le « tissu conjonctif » axial est toujours dense, mais les cellules épithéliales montrent une hyperplasie avec une augmentation de leur nombre jusqu'à 21 cellules en moyenne (pour une longueur d'épithélium de 100 μm : fig. 1 A) et une hauteur réduite : 11,8 μm en moyenne (fig. 1 B). Leurs vacuoles apicales sont plus ou moins distinctes et les concrétions de petite taille (Pl. I, n° 4).

Chez les limnées sacrifiées entre les 35^e et 56^e jours post-exposition, le rein présente des modifications structurales identiques à celles déjà indiquées respectivement chez les animaux sacrifiés entre les 14^e et 28^e jours. Ces modifications affectent le rein de manière hétérogène. C'est ainsi qu'au 49^e jour postexposition, les cellules épithéliales de certaines lamelles rénales n'ont plus de concrétions tandis que d'autres lamelles présentent déjà des petites cellules à vacuole apicale réduite. Le nombre de ces cellules est toujours compris entre 20 et 21 unités en moyenne (pour une longueur d'épithélium de 100 μm : fig. 1 A) et leur hauteur est variable allant de 12,2 μm à 15,3 μm (hauteur moyenne de 14,2 μm : fig. 1 B).

Le rein des mollusques sacrifiés entre les 63^e et 84^e jours postexposition reproduit ces mêmes modifications structurales avec l'hétérogénéité déjà précitée.

L'uretère ne montre que des modifications mineures chez ces limnées parasitées. On note seulement la présence de noyaux pycnotiques en plages au niveau de l'épithélium. La lumière par contre montre souvent la présence de concrétions libres avec parfois des noyaux nus de cellules épithéliales encore identifiables.

Discussion

Chez les limnées infestées par *F. hepatica*, le rein montre des modifications structurales à partir du 14^e jour postexposition. Les nodules, les concrétions libres et les noyaux nus témoignent de la destruction des cellules épithéliales ; une hyperplasie compensatrice s'observe par la suite. Ces cellules hyperplasiées présentent à nouveau des destructions vers le 49^e jour et le 70^e jour postexposition. La survenue de ces destructions cellulaires dans un tissu déjà hyperplasié implique la persistance du facteur à l'origine de cette hyperplasie.

La présence de lésions rénales a été signalée par Barber (1962) chez *L. columella* infestée par *F. hepatica* : cet auteur rapporte la destruction de certaines cellules épithéliales, mais ne note pas d'hyperplasie compensatrice. Nos résultats confirment et complètent ces observations. Ces modifications structurales ne sont cependant pas spécifiques du genre *Lymnaea*, puisqu'elles se retrouvent chez d'autres espèces de mollusques lorsqu'ils sont infestés par des parasites (*Anodonta* sp. infestée par *Aspidogaster conchicola* : Pauley et Becker, 1968 ; *Batillus cornutus* infestée par *Proctoeces ichiharai* : Shimura, 1980).

La présence de nodules au niveau du rein des limnées infestées soulève le problème de leur formation. Ces nodules sont constitués par des cellules épithéliales rénales reconnaissables à leurs concrétions et par des « fibroblastes » à noyau aplati ;

l'ensemble est cependant plus basophile que les lamelles rénales avoisinantes. L'existence de ces deux contingents cellulaires au niveau du nodule autorise l'hypothèse suivante : le nodule proviendrait de la destruction totale ou partielle d'une lamelle rénale qui se serait détachée de la paroi. Cette hypothèse permettrait ainsi d'expliquer le faible nombre des lamelles rénales parfois observé chez les limnées en fin d'expérimentation.

Sur la figure 2, nous avons indiqué les trois cycles de destruction cellulaire que présente le rein de *L. truncatula* en fonction de la durée de l'infestation fasciolienne. Dans un but de comparaison, nous avons précisé en plus : a) les modifications structurales présentées par les appareils digestif et génital du mollusque (Rondelaud et Barthe, 1978, 1980b) ; b) l'intensité de la réaction ambibocyttaire généralisée (Rondelaud et Barthe, 1980a). L'examen de cette figure appelle les commentaires suivants :

— La première période où s'observent les destructions de cellules épithéliales rénales se situe vers les 21^e-28^e jours postexposition. C'est également vers cette période que débutent les premières destructions au niveau de l'appareil digestif de la limnée. L'intensité de la réaction ambibocyttaire est encore faible ;

FIG. 2. — L'évolution (schématisée) des modifications structurales au niveau de divers organes chez *L. truncatula* infestée par *F. hepatica* à 20°C.

Abréviation : app. = appareil. Symboles : N = aspect normal ou subnormal de l'organe ; P = nécrose cellulaire ou tissulaire ; R = reconstitution avec hyperplasie ; IRA = intensité de la réaction ambibocyttaire.

— Les cellules rénales hyperplasiées présentent à nouveau des destructions cellulaires du 49^e jour au 56^e jour postexposition. Cette période coïncide avec la fin des destructions tissulaires au niveau des épithéliums digestif et génital ; la réaction amibocytaire présente alors une intensité maximale.

— Une autre destruction de cellules rénales hyperplasiées s'observe vers les 77^e-84^e jours postexposition alors que la reconstitution des divers appareils avec hyperplasie épithéliale est déjà réalisée. La réaction amibocytaire est alors très faible.

Il existe donc des corrélations entre les modifications structurales survenant au niveau de ces divers appareils chez le mollusque parasité. Il importe de préciser la nature des facteurs qui entraînent le développement de ces modifications.

BIBLIOGRAPHIE

- BARBER I. W. : The pathology produced in the snail, *Lymnaea columella* Say, 1817, by the larval stages of *Fasciola hepatica* L., 1758. Ph. D. Thesis, Ann Arbor (U.S.A.), 1962, 1-159.
- OLLERENSHAW C. B. : Some observations on the epidemiology of fascioliasis in relation to the timing of molluscicide applications in the control of the disease. *Vet. Rec.*, 1971, 88, 152-164.
- PAULEY G. B., BECKER C. D. : *Aspidogaster conchicola* in molluscs of the Columbia river system with comments on the host's pathological response. *J. Parasitol.*, 1968, 54, 917-920.
- RONDELAUD D. : Recherches sur l'influence de quelques facteurs physiques sur les migrations quotidiennes de *Galba truncatula* Müller. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 1974, 49, 417-425.
- RONDELAUD D., BARTHE D. : La reconstitution de l'épithélium digestif chez *Lymnaea* (*Galba*) *truncatula* Müller après infestation par les formes larvaires de *Fasciola hepatica* L. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 1978, 53, 255-264.
- RONDELAUD D., BARTHE D. : Étude descriptive d'une réaction amibocytaire chez *Lymnaea* (*Galba*) *truncatula* Müller infestée par *Fasciola hepatica* L. *Z. Parasitenkd.*, 1980a, 61, 187-196.
- RONDELAUD D., BARTHE D. : Données histopathologiques sur l'épithélium génital de *Lymnaea truncatula* Müller infestée par *Fasciola hepatica* L. *Bull. Soc. Zool. Fr.*, 1980b, 105, 481-490.
- SHIMURA S. : Histopathological effects of the adult digenetic trematode *Proctoeces ichiharai* on the kidney of top shell *Batillus cornutus*. *Helgoländer Meeresunters.*, 1980, 34, 85-90.