

COMPOSITION PROTÉIQUE DE L'HÉMOLYMPHE DE *BIOMPHALARIA GLABRATA* (MOLLUSQUE GASTÉROPODE)

Influence de la méthode de prélèvement et relation avec la composition protéique des différents organes

C. HERBERTS*, J. DE FRESCHVILLE**, M. QUIGNON*,
Y. J. GOLVAN*

Proteic composition of the haemolymph from *Biomphalaria glabrata*. Incidence of the sampling methods and relations with the proteic composition of different organs.

SUMMARY. The blood composition of *B. glabrata* is analyzed by electrophoresis. Its proteic composition differs in relation with the blood sampling method. Most of the supplementary fractions also have been found in the gut, some proteins possibly come from the hepatopancreas, whereas others could have their origin in the albumen gland. The sampling method must be selected according to these observations.

Key-words: *B. glabrata*. Hemolymph. Proteic composition.

Les relations hôte-parasite ont été très étudiées dans le couple *Biomphalaria glabrata-Schistosoma mansoni*. Un certain nombre de travaux, analysant la composition protéique de l'hémolymph et l'influence de l'infestation parasitaire (Lee et Cheng, 1972 ; Gress et Cheng, 1973) mettent en évidence une grande diversité des hémogrammes, rendant malaisées les études comparatives. Mais les méthodes de prise de sang diffèrent sensiblement selon les auteurs (Michelson, 1966 ; Sminia, 1972 ; Figueiredo *et al.*, 1973 ; Gress et Cheng, 1973 ; Bayne, 1980 ; Jeong *et al.*, 1981 ; Herberts *et al.*, 1986). Nous avons donc réalisé une étude de la composition du sang chez *B. glabrata* en comparant les divers modes de prélèvements, afin de définir les protéines variables et d'expliquer leurs variations.

Nous avons étudié le sang d'individus adultes (8 à 15 mm de diamètre), sains. Le sang est prélevé selon diverses méthodes indiquées dans la littérature :

— La coquille séchée est ouverte sur le côté droit, au niveau de la jonction hépatopancréas-gonade, sans léser les organes. L'hémolymph qui s'écoule est recueillie. Puis les mollusques sont légèrement écrasés afin de briser la coquille et soumis à une centrifugation ménagée (60 *g*) qui permet de récolter le reste du sang. Les deux fractions obtenues sont étudiées séparément.

— La ponction intracardiaque s'effectue à la seringue Hamilton ou avec une pipette effilée.

* Laboratoire de Parasitologie, C. H. U. Saint-Antoine, 27, rue de Chaligny, F 75571 Paris Cedex 12.

** Laboratoire de Zoologie, Université Pierre-et-Marie Curie, 7, quai Saint-Bernard, F 75005 Paris.

Accepté le 9 décembre 1987.

— Le prélèvement au niveau du pied est réalisé selon la méthode de Sminia (1972) après avoir très soigneusement séché l'intérieur de la coquille autour du mollusque.

Dans tous les cas, l'analyse ultérieure a porté sur le mélange du sang de cinq à dix individus.

Pour la comparaison avec des broyats d'organes, le sang est recueilli après bris de la coquille selon le premier protocole ; puis les organes sont disséqués séparément, broyés dans un volume minimal de liquide et centrifugés (1 500 *g* pendant 10 mn) ; de plus, un « pool » d'organes est reconstitué à partir de fractions aliquotes des extraits précédemment préparés.

Les hémolymphes, les extraits d'organes ou des mélanges de ces extraits sont soumis à l'électrophorèse en acrylamide à 6 %, tampon Tris-glycine pH 8,5. Le volume d'échantillon est de 15 ou 20 μ l. Nous avons comparé les images électrophorétiques obtenues à partir de sangs prélevés selon les différentes méthodes indiquées ci-dessus à celles d'extraits d'organes isolés et de mélange de ces extraits.

La composition du sang prélevé au niveau hépatique (Herberts *et al.*, 1986) montre deux schémas type d'hémolymphes, contenant ou non un grand nombre de protéines. La concentration protéique de ces hémolymphes est du même ordre (15 μ g/ml), l'hémoglobine représentant toujours la fraction majoritaire (Figueiredo *et al.*, 1973).

Le prélèvement intracardiaque donne une image de sang faiblement chargé. L'électrophorégramme du sang prélevé par excitation du pied semble identique au précédent ; mais un dosage spectrophotométrique montre que, malgré un séchage soigné du mollusque, ce sang est dilué de 10 % à 20 % par rapport à l'hémolymphe obtenue par ponction cardiaque.

Les électrophorégrammes de sang recueilli par écrasement ménagé et centrifugation présentent en général de nombreuses bandes protéiques plus ou moins fortes (*fig. 1 d*) alors que, prélevé par ponction, le sang du même mollusque ne présente que peu de bandes (*fig. 1 e*).

Nous avons cherché à préciser l'origine des fractions supplémentaires observées ; l'image du sang obtenu par bris de la coquille est comparée à celle fournie par les principaux organes du mollusque. Les électrophorégrammes des extraits d'organes diffèrent nettement les uns des autres, sauf ceux de la gonade et de l'hépatopancréas qui présentent une certaine ressemblance.

— Gonade (*fig. 1 a*) : on observe des bandes migrant au même niveau que des fractions existant dans l'hémolymphe. Ces fractions n'ont souvent pas le même aspect et sont parfois moins abondantes dans cette glande que dans le sang. De plus, des protéines importantes de la gonade ne sont pas observées dans l'hémolymphe.

— Hépatopancréas (*fig. 1 f*) : dans la partie supérieure du gel, l'aspect de l'électrophorégramme ne correspond pas à celui du sang : certaines fractions migrent de la même manière dans les deux cas mais sont nettement plus concentrées dans l'hémolymphe. Par contre, dans la partie inférieure du gel, les images sont comparables.

— Glande de l'albumine (*fig. 1 g*) : l'albumine migre au même niveau qu'une fraction du sang. Pour le reste, les images électrophorétiques sont nettement différentes.

— Céphalodium (*fig. 1 b*) : on n'observe rien de comparable entre l'hémolymphe et les tissus de cette région du corps.

— Tube digestif (*fig. 1 e*) : les fractions du tube digestif dont le Rf est supérieur ou égal à 0,69 semblent homologues de protéines observées dans le sang. L'analyse comparative de la paroi du tube digestif et de son contenu montre qu'elles proviennent essentiellement de ce dernier.

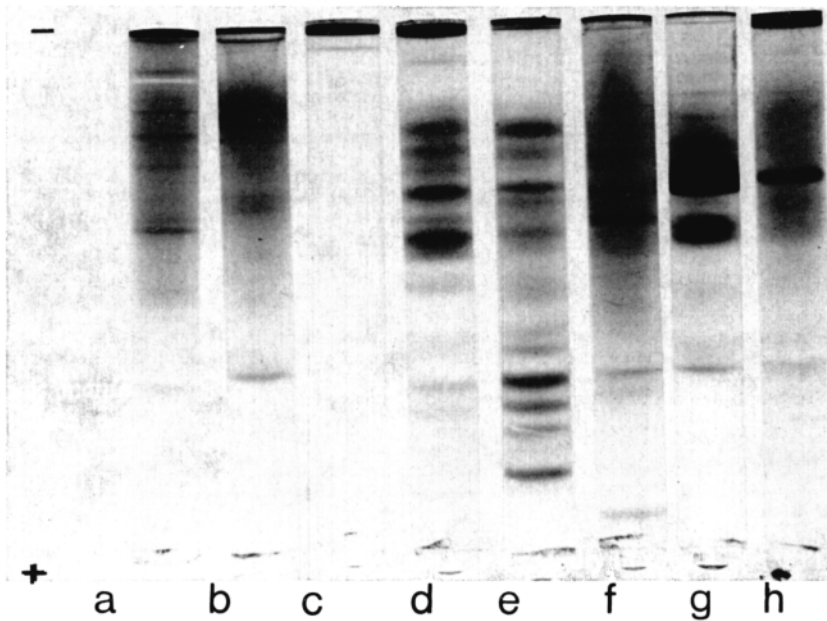


FIG. 1. — Électrophorèse de *B. glabrata* : sang et différents tissus. Sens de migration : - → +. a : gonade ; b : région antérieure ; c : sang prélevé par ponction ; d : sang obtenu par fracture de la coquille et centrifugation ; e : tube digestif ; f : hépatopancréas ; g : glande de l'albumine ; h : mélange d'extraits d'organes.

Plusieurs protéines de faible mobilité observées dans l'extrait de tube digestif migrent au même niveau que des protéines de l'hémolymphe, mais un certain nombre d'entre elles apparaissent moins concentrées que les fractions correspondantes du sang.

Les divers modes de prélèvement du sang conduisent à des compositions protéiques différentes. Certains organes ne peuvent être à l'origine des fractions supplémentaires observées ; c'est le cas de la gonade et des tissus de la région antérieure. On pourrait retrouver dans le sang une contamination par l'albumine. Mais les analogies les plus nettes s'observent avec le tube digestif, notamment avec son contenu.

Il existe une ressemblance partielle avec l'image donnée par l'hépatopancréas. Les fractions qui semblent communes à l'hépatopancréas et au sang fortement chargé en protéines sont aussi celles que l'on observe dans le tube digestif. Cette similitude pourrait s'expliquer par le fait que le contenu du tube digestif circule également dans les canaux hépatiques.

Nous désirons donc attirer l'attention sur le fait que la méthode de prélèvement de l'hémolymphe n'est pas indifférente ; les résultats obtenus avec certaines d'entre elles doivent être interprétées avec précaution.

BIBLIOGRAPHIE

- BAYNE C. J. : Humoral factors in Molluscan parasite immunity. *In*: Aspects of Developmental and Comparative Immunology, 1980, 1, 113-124.
- FIGUEIREDO E. A., GOMEZ M. V., HENEINE I. F., SANTOS I. O., HARGREAVES F. B. : Isolation and physical properties of the hemoglobin of *Biomphalaria glabrata* Mollusca Planorbidae. *Comp. Biochem. Physiol.*, 1973, 44 B, 481-491.
- GRESS F. M., CHENG T. C. : Alterations in total serum proteins and protein fractions in *Biomphalaria glabrata* parasitized by *Schistosoma mansoni*. *J. Inv. Pathol.*, 1973, 22, 382-390.
- HERBERTS C., QUIGNON M., GOLVAN Y. J., DE FRESCHVILLE J. : Étude des réactions de *Biomphalaria glabrata* à l'infestation par *Schistosoma mansoni*. I. Composition protéique de l'hémolymphe de mollusques sains. Comparaison entre les populations sauvages et les souches de laboratoire. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 1986, 61, 227-233.
- JEONG K. H., SUSSMAN S., ROSEN S. D., LIE K. J., HEYNEMAN D. : Distribution and variation of hemagglutinating activity in the hemolymph of *Biomphalaria glabrata*. *J. Inv. Pathol.*, 1981, 38, 256-263.
- LEE F., CHENG T. C. : *Schistosoma mansoni*: Alteration in total protein and hemoglobin in the hemolymph of infected *Biomphalaria glabrata*. *Exp. Parasitol.*, 1972, 31, 203-216.
- MICHELSON E. H. : Specificity of hemolymph antigens in taxonomic discrimination of medically important snails. *J. Parasitol.*, 1966, 52, 466-472.
- SMINIA T. : Structure and function of blood and connective tissue cells of the fresh water pulmonate *Lymnaea stagnalis* studied by electron microscopy and enzyme histochemistry. *Z. Zellforsch.*, 1972, 130, 497-526.

DES MICROFICHES ET DES MICROFILMS DE CETTE PUBLICATION PEUVENT ÊTRE OBTENUS AUPRES DE

This publication is available in Microform from :

MASSON - SPPIF (réf. MIMC)
120, boulevard Saint-Germain, 75280 Paris Cedex 06

© Masson, Paris, 1988.

Le Directeur de la Publication : Dr J. TALAMON

Tous droits de traduction, d'adaptation et de reproduction par tous procédés réservés pour tous pays.

La loi du 11 mars 1957 n'autorisant, aux termes des alinéas 2 et 3 de l'article 41, d'une part, que les « copies ou reproductions strictement réservées à l'usage privé du copiste et non destinées à une utilisation collective » et, d'autre part, que les analyses et les courtes citations dans un but d'exemple et d'illustration, « toute représentation ou reproduction intégrale ou partielle, faite sans le consentement de l'auteur ou de ses ayants droit ou ayants cause, est illicite » (alinéa 1^{er} de l'article 40).

Cette représentation ou reproduction, par quelque procédé que ce soit, constituerait donc une contrefaçon sanctionnée par les articles 425 et suivants du Code pénal.

Masson, éditeur, Paris.

Dépôt légal : 1988.

N° d'ordre : 5945.

mai 1988

IMPRIMÉ PAR IMPRIMERIE BARNÉOUD, A LAVAL. — 9345.

Commission paritaire n° 54169

Printed in France.