

Laboratorio de Ictiofisiología, Museo de La Plata, La Plata, Argentina

LE SYSTÈME NEURO-SÉCRÉTOIRE CAUDAL DU TÉLÉOSTÉEN
*JENYNSIA LINEATA**

Par

FEDERICO GARCÍA ROMEU

Avec 4 Figures dans le Texte

(Reçu le 23^e Mars 1962)

Introduction

La portion terminale de la moelle épinière des Téléostéens possède un renflement connu depuis longtemps (voir ENAMI 1959; HOLMGREN 1959a, 1960; SANO 1958); mais ce sont les travaux d'ENAMI (1955) qui ont démontré pour la première fois que cette région de la moelle épinière faisait partie d'un système neuro-sécréteur.

La terminologie appliquée à cette formation n'a pu être unifiée; HOLMGREN (1959a) l'a appelée *urophysis spinalis*. Nous-mêmes nous nous inclinons vers ce dernier nom, le considérant suffisamment expressif et direct; pour abrégé nous la dénominerons: urophyse.

Nous avons désiré confirmer les travaux concernant le rôle possible de la neurosécrétion urophytaire sur l'osmorégulation (ENAMI 1956; ENAMI, MIYASHITA et IMAI 1956; HOLMGREN 1958); nous avons choisi comme animal d'expérience le petit Cyprinodontiforme vivipare *Jenynsia lineata* (Jenyns). Nous avons choisi cette espèce en raison de son euryhalinité; ce poisson résistant dans notre laboratoire au passage brusque de l'eau douce à une eau contenant 20 gr de sels par litre, ceci sans aucun malaise apparent.

Après de nombreuses expériences en vue de la possible détection de variations du contenu de neurosécrétion en urophyse en relation avec les variations de la concentration saline du milieu (renseignements qui ne furent pas publiés) nous sommes arrivés à la conviction qu'on ne pouvait obtenir des conclusions satisfaisantes sans un examen histologique de l'organe et principalement sans une étude comparée des diverses réactions colorées permettant de mettre le mieux en relief la neurosécrétion urophytaire.

Matériel et Techniques

La région caudale des exemplaires de l'espèce *Jenynsia lineata* (Jenyns) des deux sexes a été fixée avec des fixateurs variés comme le liquide de Bouin, le Susa de Heidenhain, le formol calcique de Baker et l'alcool à 80%. Le Susa a démontré être un excellent fixateur avec lequel nous avons obtenu les meilleures fixations.

Après fixation les pièces ont été écaillées et décalcifiées par immersion dans une solution d'acide trichloracétique à 5% pendant 24 hs. Cette opération n'a pas été nécessaire lorsque le Susa a été utilisé.

Après passage dans le benzoate de méthyl-celloïdine, puis dans le chloforme, les pièces ont été incluses dans de la paraffine et coupées à 5 microns.

La neurosécrétion urophytaire a été mise en évidence grâce à l'hématoxyline chromique-phloxine de Gomori (BARGMAN 1949) soit sans mordantage préalable soit après utilisation

* Nous tenons à remercier le Dr. JUAN H. TRAMEZZANI de la lecture du manuscrit de ce travail, et des précieuses suggestions qu'il a bien voulu nous faire parvenir.

d'une solution d'alun de chrome à 4% dans le Bouin pendant 24 heures à 37° C (PEARSE 1960) ou à la température ambiante. Le coloration a été faite aussi soit à la température ambiante soit entre 37 et 45° C. Des colorations avec l'hématoxyline ferrique de Heidenhain ont été également employées.

Les colorations avec l'aldéhyde fuchsine de Gomori ont été faites en utilisant les tampons de Walpole et de McIlvaine, en faisant varier le p_H entre 0.9 et 2.4; le colorant a été habituellement utilisé sans tampon. Les coupes ont été oxydées dans un mélange à parties égales de solutions à 0.3% de $KMnO_4$ et de H_2SO_4 . Certaines coupes ont été oxydées à l'acide périodique ou à l'acide performique.

La méthode de Chèvremont et Frédéric (PEARSE *op. cit.*) a été utilisée pour mettre en évidence les groupes -SH, ayant pour contrôle des coupes immergées pendant 72 heures dans une solution saturée de nitrate de phenylmercure dans le butanol. La présence des groupes disulfure a été mise en évidence avec la méthode de Adams et Sloper à l'acide performique-Alcian blue et les polysaccharides avec l'acide périodique-Schiff (APS).

Cette recherche a été réalisé par l'étude du système neurosécréteur caudal de 300 exemplaires de l'espèce précitée.

Résultats

L'urophyse de *Jenynsia lineata* est piriforme et se trouve dans une concavité formée par la partie antérieure de la plaque hypurale (Fig. 1). Elle est située à

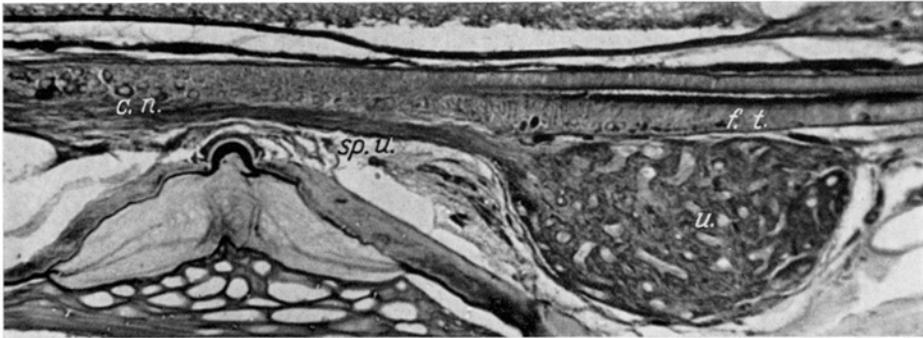


Fig. 1. Urophyse de *Jenynsia lineata*. On remarque le tractus spino-urophysaire et son entrée dans l'urophyse, ainsi qu'un groupe de cellules neurosécrétoires vers la gauche. Coloration: Aldéhyde fuchsine. $\times 240$ u urophyse; sp. u. tractus spino-urophysaire; c. n. groupe de cellules neurosécrétoires; f. t. filament terminal

l'extrémité caudale de la moelle épinière et est unie à sa partie ventrale par un pédoncule principal et par de nombreuses fibres qui traversent une membrane menagée APS positive, qui se colore fortement avec l'hématoxyline chromique de Gomori.

À la hauteur du pédoncule glandulaire naît le filament terminal. La fibre de Reissner se prolonge jusqu'au ventricule terminal de celui-ci et sort du canal épendymaire par un neuropore postérieur. L'urophyse est couverte, comme toute la moelle, par une méninge primitive formée de deux couches, l'une externe pigmentée et l'autre interne formée de cellules plates. Dans la fissure qui sépare le côté ventral du filament terminal du dos de la glande il ne pénètre que, à la façon d'un coin, la seconde couche de la méninge primitive, la couche pigmentée étant absente. Cette membrane est perforée en de nombreux endroits; et par là pénètrent les fibres du tractus spinal-urophysaire. De ce fait les fibres spineuses urophysaires entrent dans la glande par deux voies d'entrée: la plupart arrivent

par le pédoncule glandulaire (Fig. 2); les fibres n'ayant pas accès de ce côté contiennent un court trajet par le filament terminal et après s'être courbées et se diriger ventralement en direction à l'urophyse, y pénètrent par les perforations de la membrane méningée. Certaines fibres du tractus paraissent finir sur la membrane et présentent des gouttes colloïdales en contact avec elles (Fig. 2).

Il existe, dans cette espèce, deux types de neurosécrétion différenciables par leur taille et leur emplacement. Un de ceux-ci ressemble aux corps de Herring de la neurohypophyse et nous l'appellerons A; il est constitué par un matériel de type colloïdal, d'une grandeur appréciable et de forme ovoïde ou sphérique aux bords lisses. La plupart de ces corps est optiquement homogène mais certains sont constitués par l'agglutination d'autres corps de moindre dimension et de

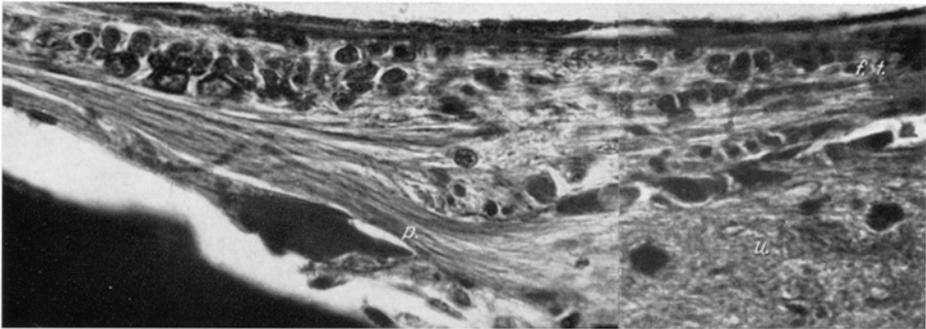


Fig. 2. Entrée du tractus spino-urophysaire dans l'urophyse. Au dos de la glande, sous la membrane méningée qui la borne, on remarque de grandes gouttes de neurosécrétion. Cette photographie a été composée par l'union de deux adjacentes. Coloration: Hématoxyline chromique — phloxine. $\times 950$.
u urophyse; p entrée dans l'urophyse du tractus spino-urophysaire (pédoncule principal);
f.t. filament terminal

moindre régularité. Ils se situent de préférence dans la région dorsale de la glande, mais il peuvent se trouver dans une autre partie de la zone glandulaire. Ces corps existent non seulement dans l'urophyse mais aussi dans le pédoncule glandulaire et dans le filament terminal, aussi bien dans la partie de celui-ci attendant au dos de l'urophyse que dans la région qui la surplombe immédiatement.

L'autre type de neurosécrétion, que nous appellerons B, est granuleuse et s'observe dans toute la glande.

Les granules A comme les B donnent une réaction positive avec l'aldehyde fuchsine après oxydation au permanganate mais pas après oxydation avec l'acide périodique ou l'acide performique. L'affinité de la neurosécrétion de l'urophyse pour ce colorant, particulièrement celle des granules A, se manifeste jusque dans des solutions avec une haute concentration en ions hydrogène; des réactions positives ont été obtenues jusqu'à un p_H 0.9 dans un tampon de Walpole.

La réaction à l'acide périodique — Schiff a donné des résultats négatifs et il en a été de même du test de l'acide performique — Alcian blue et de la réaction de Chèvremont et Frédéric.

Avec l'hématoxyline chromique de Gomori nous avons obtenu des résultats différents suivant que les sections aient été préalablement mordancées dans une solution d'alun de chrome dans le liquide de Bouin ou qu'elles aient été colorées directement sans mordantage. Dans le premier cas l'hématoxyline colore quoique

faiblement la neurosécrétion urophysaire et se soumet à une légère coloration phloxinophile. L'intensité de la coloration par l'hématoxyline chromique peut augmenter si on emploie le mordant à 37° C et en oxydant pendant 5 minutes, mais dans ce cas, les structures qui se colorent fortement avec cette technique se font plus nombreuses et on perd presque complètement les détails cytologiques. Parmi les structures cellulaires qui se colorent par l'hématoxyline chromique se trouvent les grains de Nissl. Quand on évite la mordançage les résultats sont différents; la neurosécrétion urophysaire apparaît dans ce cas comme fortement acidophile et se colore exclusivement par la phloxine.



Fig. 3. Partie postérieure de la glande et filament terminal avec des cellules neurosécrétoires éparses. Coloration: Aldéhyde fuchsine. $\times 950$. *u* partie postérieure de l'urophyse; *c.n.f.* cellules neurosécrétoires dans le filament terminal

Les granules A comme les B se colorent distinctement avec l'hématoxyline ferrique de Heidenhain.

On observe une riche zone capillaire dans l'urophyse parmi les accumulations de neurosécrétion.

Les neurones à l'origine du tractus spinal-urophysaire dépendent de la partie caudale de la moelle et se trouvent proches du canal de l'épendyme, quelquefois entre les mêmes cellules épendymaires. Elles se situent aussi bien dans les zones spino-dorsales et ventrales que dans les zones latérales; à l'extrémité postérieure de la moelle, où est disparue la claire délimitation des cornes médullaires, les corps des cellules nerveuses entourent le canal de l'épendyme sans conserver l'ordre que l'on observe dans les zones plus antérieures de la moelle. Les neurones du système neurosécréteur caudal ne se trouvent pas seulement dans la partie antérieure du pédoncule urophysaire; il y en a, quoique peu, dans la partie ventrale du filament terminal attenant au dos de l'urophyse et même dans certaines parties du filament ayant dépassé l'extrémité postérieure de la glande (Fig. 3). Les axones de la plupart de ces cellules pénètrent dans la glande par les discontinuités de la membrane méningée.

Les cellules neurosécrétoires sont de forme et de dimensions diverses. On distingue deux groupes de cellules neurosécrétoires: un groupe antérieur et un autre postérieur. Le groupe postérieur est constitué par des neurones polygonaux avec un grand noyau en relation avec un péricaryone assumant l'apparence d'une mince

bande (Fig. 4). Nous n'avons pu démontrer chez elles les grains de Nissl typiques; ils sont remplacés par une substance basophile homogène et continue qui entoure le noyau et occupe tout le péricaryone dans les zones où la distance entre la membrane cellulaire et la membrane nucléaire est moindre. Dans les autres régions du péricaryone la substance basophile présente le même aspect; il est courant qu'elle s'adosse à la membrane cellulaire et constitue une bande continue ou apparemment interrompue possédant, en général, une limite interne irrégulière. Certaines cellules de ce type ne possèdent aucune substance basophile ou, si elles en ont, elles présentent une coloration très faible. Le noyau des cellules neuro-sécrétoires présente des invaginations de sa membrane d'ampleur variable. Les noyaux polymorphes ne sont pas communs, mais certaines présentent ces caractéristiques, qui ne sont pas très développées. Dans le groupe antérieur prédominant



Fig. 4. Groupe de cellules neurosécrétoires. Coloration: Aldéhyde fuchsine. $\times 1425$

les cellules fusiformes, à noyaux ovales, elliptiques ou fusiformes. Dans ces cellules la relation péricaryone-noyau est plus grande que dans celles du groupe postérieur. La distribution et l'aspect de la substance basophile concordent avec ceux décrits à propos des neurones du groupe postérieur.

Il existe d'autres types de neurones dont la nature n'est pas claire. L'un d'eux se voit assez fréquemment; il est formé par des cellules de section approximativement elliptique, à noyau excentrique et à substance basophile pulvérulente et peu abondante.

Dans le soma neuronal la neurosécrétion se présente avec un aspect de masses généralement homogènes, quelquefois vacuolisées et grumeleuses; elle est rarement granuleuse. Ses réactions sont similaires à celles de la neurosécrétion urophysaire. L'hématoxyline chromique-phloxine, avec mordantage préalable, les colore de tons variant entre le rose pâle et le pourpre vif, presque violet. Elles se situent entre la substance basophile, qui se colore en violet obscur avec l'hématoxyline, et la limite du soma.

Dans les axones du tractus spinal — urophysaire nous avons été incapables de mettre en évidence la neurosécrétion en forme de particules discrètes pouvant se discerner au microscope optique: seulement dans le pédoncule urophysaire et dans les fibres qui parcourent la face ventrale du filament terminal il est possible de l'observer de nouveau.

Discussion

La morphologie et les caractères histologiques de l'urophyse de *Jenynsia lineata* s'accordent partiellement ou totalement avec ceux des espèces décrites

par d'autres auteurs (ENAMI 1955; ENAMI et IMAI 1956a et b; SANO 1958, 1959; SANO et KAWAMOTO 1959; HOLMGREN 1959a et b, 1961).

ENAMI et IMAI, qui ont étudié la glande de nombreuses espèces de Téléostéens, ont décrit (ENAMI et IMAI 1956b) deux types extrêmes d'individualisation de la glande en corrélation avec la moelle épinière: celui qui s'observe chez l'*Astroconger* et celui représenté par l'urophyse de *Fugu*; entre ces types se trouveraient toute une série d'autres intermédiaires. Ces auteurs distinguent trois formes d'entrée des fibres du tractus spinal — urophysaire dans l'urophyse ou de relation entre celle-ci et la moelle: celle où il existe une continuité complète entre le système neurosécréteur caudal et les autres formations médullaires de la zone; celle où s'interpose une membrane discontinue entre l'urophyse et la moelle (*Mugil cephalus*, *Capsilurus agoo*, *Sigamus fluscenscens*) et la troisième, qu'ils considèrent comme une autre forme de séparation, caractérisée par la contraction de la superficie de transition entre la glande et la moelle (*Sphyraena pinguis*, *Psenopsis anomala*, etc.).

Des données que nous possédons, nous pouvons déduire la suite des événements qui ont abouti à la constitution d'une urophyse individualisée. Dans un premier stade les axones des neurones neurosécrétoires ainsi que leurs terminaisons formeraient une partie inséparable de la moelle caudale. Dans un deuxième stade il s'interposerait une membrane méningée perforée dont les discontinuités permettraient de nombreux points de contact entre l'urophyse et le filament terminal; ceci peut être ou non accompagné d'une contraction plus ou moins profonde de la superficie de transition (à ce stade, que nous dénominerons pluripédonculaire, se trouve l'urophyse de *J. lineata*). Le stade final sera le résultat de l'étranglement complet des pédoncules secondaires qui servent de pont entre le filament et l'urophyse pour atteindre le stade monopédonculaire.

Tous les auteurs cités sont d'accord au sujet de l'acidophilie de la neurosécrétion caudale et de sa réaction négative à l'hématoxyline de Gomori. Malgré la possibilité d'obtenir des réactions faiblement positives avec l'hématoxyline prénommée en recourant à de petites variations des conditions de coloration, nous ne croyons pas que ce fait ait une signification spéciale ou, tout au moins, pas celle que l'on puisse assigner à la réaction de la neurosécrétion hypothalamique. Opposé à celle-ci la neurosécrétion urophysaire ne paraît pas posséder des groupes sulfure et disulfure. La négativité vis à vis des réactions à l'acide performique — Alcian blue pour les groupes disulfure et celle de Chèvremont et Frédéric pour les sulfhydriles signifie ou bien l'absence d'acides sulfurés ou bien leur présence en quantité si petite qu'elle n'est pas révélée par de telles méthodes, peu sensibles; mais avec ces réactions on obtient toujours des résultats très positifs avec la neurosécrétion hypothalamique. HOLMGREN (1959a) a déjà communiqué des résultats négatifs avec la réaction de l'Alcian blue pour des groupes disulfure en ce qui concerne la neurosécrétion urophysaire de *Fundulus heteroclitus*.

La signification de APS négatif avec la neurosécrétion du système étudié a déjà été signalée par l'auteur précité (1959a); nous n'insisterons pas sur ce point.

Selon SANO (1958) la neurosécrétion urophysaire n'est pas colorable par l'aldéhyde fuchsine. HOLMGREN (1959a) a décrit dans le dos de l'urophyse de *Fundulus heteroclitus* des gouttes faiblement colorables par l'aldéhyde fuchsine après oxydation par l'acide performique mais ses résultats sont négatifs avec

d'autres parts du système. Nous rappellerons que la coloration avec l'aldéhyde fuchsine précédé de l'oxydation par l'acide performique a donné des résultats totalement négatifs dans les structures que nous avons étudiées. Le fait que nous ayons trouvé aussi bien dans les cellules sécrétoires que dans l'urophyse même que la neurosécrétion se colore massivement avec ce colorant peut être interprété comme lié à une différence due à la technique employée, puisque nous avons oxydé avec du KMnO_4 avant la coloration.

Il nous semble important de noter l'absence des grandes cellules à noyaux polymorphes, homologues aux cellules de Dahlgren (SPEIDEL 1919, 1922; FRIDBERG 1959; HOLMGREN 1959a, 1960) dont la présence est caractéristique du système neurosécrétoire caudal d'autres téléostéens (voir ENAMI 1959; HOLMGREN 1960). Cette absence a été déjà vue en d'autres espèces de Cyprinodontiformes; Sano et KAWAMOTO ne les retrouvent pas chez le *Lebistes reticulatus* et HOLMGREN (1959a) communique que les cellules du système neurosécrétoire caudal du *Fundulus heteroclitus* ne sont guère différents, sauf pour leurs réactions de coloration, des cellules nerveuses non modifiées; il s'agit là d'une situation fort semblable à celle que nous avons décrite dans *J. lineata*.

Résumé

On décrit le système neurosécrétoire caudal de *Jenynsia lineata*. L'urophyse de cette espèce est un organe bien différencié, séparé de la moelle par une membrane méningée discontinue, et formé de fibres qui y arrivent après avoir constitué un pédoncule principal. Les fibres ne pénètrent pas par celui-ci, le font par les orifices de la membrane méningée.

Dans l'urophyse comme dans les cellules neurosécrétoires du système, la neurosécrétion se colore à l'aldéhyde fuchsine après oxydation par le $\text{KMnO}_4/\text{H}_2\text{SO}_4$; à l'hématoxyline chromique de Gomori elle se colore aussi, mais faiblement, et toujours après mordantage par de l'alun chromique dans le Bouin. On en discute les causes, par rapport aux données obtenues par d'autres auteurs.

Il n'y a pas de cellules géantes, si caractéristiques du système neurosécréteur caudal d'autres Téléostéens. Les cellules neurosécrétoires du système sont petites et peu remarquables.

Bibliographie

- BARGMANN, W.: Über die neurosekretorische Verknüpfung von Hypothalamus und Neurohypophyse. Z. Zellforsch. **34**, 610—634 (1949).
- ENAMI, M.: Studies in neurosecretion. II. Caudal neurosecretory system in the eel (*Anguilla japonica*). Gunma J. med. Sci. **4**, 23—36 (1955).
- Studies in neurosecretion. VIII. Changes in the caudal neurosecretory system of the loach (*Misgurnus anguillicaudatus*) in response to osmotic stimuli. Proc. Jap. Acad. **32**, 759—764 (1956).
- The morphology and functional significance of the caudal neurosecretory system of fishes. Dans Comparative Endocrinology, pp. 697—724. New York: John Wiley 1959.
- ENAMI, M., and K. IMAI: Studies in neurosecretion. VI. Neurohypophysis-like organization near the caudal extremity of the spinal cord in several stuarine species of teleosts. Proc. Jap. Acad. **32**, 197—200 (1956a).
- Studies in neurosecretion. VII. Further observations on the caudal neurosecretory system and the neurohypophysis spinalis (urohypophysis) in marine teleosts. Proc. Jap. Acad. **32**, 633—638 (1956b).

- ENAMI, M., S. MIYASHITA and K. IMAI: Studies in neurosecretion. IX. Possibility of occurrence of a sodiumregulating hormone in the caudal neurosecretory system of teleosts. *Endocr. jap.* **4**, 280—290 (1956).
- FRIDBERG, G.: A histological evidence of the homology between Dahlgren's cells in rays and teleosts. *Acta zool. (Stockh.)* **40**, 101—104 (1959).
- HOLMGREN, U.: On the caudal neurosecretory system of the teleost fish *Fundulus heteroclitus*. *Anat. Rec.* **132**, 454—455 (1958).
- On the caudal neurosecretory system of the teleost fish, *Fundulus heteroclitus* L. *Breviora* **111**, 1—16 (1959 a).
- On the caudal neurosecretory system of the eel, *Anguilla rostrata*. *Anat. Rec.* **135**, 51—60 (1959 b).
- On the urophysis spinalis and the caudal neurosecretory system of teleost fishes. *Zool. Anz.* **165**, 77—83 (1960).
- On the morphology of the urophysis spinalis and the caudal neurosecretory system of two deep sea teleosts. *Zool. Anz.* **167**, 83—92 (1961).
- PEARSE, A. G. E.: *Histochemistry, Theoretical and Applied*. London: J. & A. Churchill 1960.
- SANO, Y.: Über die Neurophysis spinalis caudalis. *Verh. der Anat. Ges. auf der 55. Verslg in Frankfurt a. M.* 1958, S. 182—188.
- Über die Neurophysis (sog. Kaudalhypophyse, „Urohypophyse“) des Teleostiers *Tinca vulgaris*. *Z. Zellforsch.* **47**, 481—497 (1959).
- SANO, Y., u. M. KAWAMOTO: Entwicklungsgeschichtliche Beobachtungen an der Neurophysis spinalis caudalis von *Lebistes reticulatus* Peters. *Z. Zellforsch.* **51**, 56—64 (1959).
- SPEIDEL, C. C.: Gland-cells of internal secretion in the spinal cord of the skates. *Carnegie Inst. Wash. Publ.* **13**, 1—31 (1919).
- Further comparative studies in other fishes of cells that are homologous to the large irregular glandular cells in the spinal cord of skates. *J. comp. Neurol.* **34**, 303—317 (1922).

Dr. FEDERICO GARCÍA ROMEU,
Laboratorio de Ictiofisiología, Museo de La Plata, La Plata, Argentina