

**Etude au Microscope Electronique du Reticulum Endoplasmique dans des Fibres Musculaires du Crabe Bleu.** PAR ROGER LAVALLARD. (*Département de Physiologie Générale et Animale et Section de Microscopie Electronique de l'Université de São Paulo, Brésil.*)\*

Une série de travaux, dont le progrès des résultats a été retracé par Palade (1), a démontré l'existence du reticulum endoplasmique dans la majorité des catégories de cellules animales. Dans le cas de fibres musculaires striées, Bennett et Porter (2) ont mis en évidence, entre les myofibrilles, un système de membranes intrasarcoplasmiques qu'ils ont identifié avec le reticulum endoplasmique des autres catégories cellulaires. Étudiant les relations morphologiques entre les formations du reticulum endoplasmique et la striation des myofibrilles dans trois types différents de fibres musculaires, Porter et Palade (3) ont révélé et analysé les variations qui se produisent d'un type à l'autre.

Au cours d'une étude au microscope électronique de coupes transversales provenant de muscles des pièces buccales du crabe bleu, certaines particularités dans l'organisation du reticulum endoplasmique ont été relevées et font l'objet d'une description préliminaire dans cette courte note.

#### *Matériel et Méthodes*

Les muscles utilisés proviennent des maxillipèdes du crabe bleu, *Callinectes danae*, Smith (4); ce sont les deux muscles antagonistes qui provoquent les battements du fouet à l'extrémité de l'exopodite. L'article est prélevé par rupture de son attache sur le basipodite pour éviter toute lésion des fibres musculaires, notamment au niveau de leur insertion proximale. Une fenêtre est alors découpée dans la partie molle de la cuticule de l'exopodite et ce dernier est ensuite immergé dans le fixateur. Les muscles sont donc fixés *in situ*, insérés par leurs deux extrémités, sans avoir subi de dommages liés à une dissection.

Le fixateur est une solution de OsO<sub>4</sub> à 3 pour cent, tamponnée au pH 7,4-7,6, agissant pendant 1 heure à 18° C. Après un lavage rapide, les muscles sont extraits du tégument, découpés en petits fragments qui sont déshydratés, et inclus dans du méthacrylate de *n*-butyl mélangé avec 10 pour cent de méthacrylate de *n*-methyl. Les coupes sont effectuées avec couteau de verre sur microtome Porter-Blum. Les micrographies sont obtenues aux grossissements originaux de × 5500 à × 10500, avec une microscope RCA, modèle EMU.

#### RÉSULTATS

La morphologie du reticulum endoplasmique varie avec les différentes zones du sarcomère (3).

\* Reçu le 24 juillet 1959.

L'identification de ces zones sur les coupes transversales de myofibrilles est donc fondamentale pour une description du reticulum. Dans la zone isotrope (*I*, Fig. 1), les myofilaments ne sont pas discernables. La ligne *Z*, sur coupe transversale légèrement oblique (*Z*, Fig. 1), apparaît comme une bande sombre sur le fond moins dense de la zone *I*; à part cette différence de densité, l'aspect de la ligne *Z*, comme celui de la zone *I*, n'offre pas de structures reconnaissables. Au contraire dans la zone *A* (*A*, Fig. 2), les myofilaments sont bien individualisés avec un diamètre de 120 à 150 Å. Sur la Fig. 1, en *A* à *I*, la légère obliquité de la coupe permet d'observer la transition entre la zone *I* et la zone *A* à l'intérieur d'une même myofibrille. Au niveau de la bande *H*, le contour des myofilaments est plus nettement délimité et leur diamètre est supérieur, atteignant 200 Å (*H*, Figs. 2 et 3).

Comme dans d'autres types de muscles (3, 5), le reticulum endoplasmique semble interrompu au niveau de la ligne *Z*. A proximité de cette région se constate seulement ici une disparition progressive des contours du reticulum qui s'estompent complètement en face de la ligne *Z*. Un caractère remarquable du reticulum endoplasmique au niveau de la zone *I* est sa continuité transversale dans tout l'ensemble du sarcoplasme interfibrillaire. Ce sarcoplasme semble ainsi compartimenté transversalement par une double membrane (*r.e.*, Fig. 1) qui, en quelque sorte, délimite une série de loges dans chacune desquelles se trouve enclose la zone *I* d'une myofibrille. A certains endroits, cette double membrane montre pourtant des contractions ou même des petites ruptures, mais ces irrégularités sont probablement dues à des altérations de fixation, car elles se produisent avec des fréquences inégales selon les préparations. A ce même niveau, face aux zones *I*, le reticulum endoplasmique différencie des cavités (*x*, Fig. 1), dont le contenu est constitué par du sarcoplasme qui comprend comme partout ailleurs dans la fibre musculaire, des petits granules denses (*gr*). La double paroi de ces cavités présente quelquefois des interruptions et semble isoler incomplètement un îlot de sarcoplasme (*x*<sub>1</sub>, Fig. 1), mais le plus souvent, elle n'affecte pas de solution de continuité notable, (*x*, Fig. 1). Ces cavités ont leur plus grande dimension dans le sens transversal; elles n'entourent

cependant pas les myofibrilles, étant seulement localisées contre l'une des faces de ces dernières. A chaque formation de ce type d'un sarcomère correspond une formation équivalente de l'autre côté de la ligne *Z*, dans le sarcomère voisin ( $x_1$  et  $x_2$ , Fig. 1).

Au niveau de la zone anisotrope (Fig. 2), l'organisation du reticulum s'oppose aux aspects précédents par sa discontinuité transversale. Le reticulum se présente alors essentiellement sous forme de tubules et de vésicules en orientation longitudinale. En général, les tubules sont prédominants du côté de la zone *I*, tandis que les vésicules sont plus abondantes vers le centre du sarcomère. A proximité de la bande *H*, une dilatation plus avancée des vésicules aboutit à la formation de cisternae (*cs*, Fig. 2) avec une paroi faite d'une simple membrane et un contenu d'apparence homogène qui représente la phase interne du reticulum endoplasmique.

En face de la bande *H*, le reticulum présente une structure particulière composée de trois doubles membranes contiguës dont l'orientation est transversale (*y*, Figs. 2 et 3); en général, la double membrane centrale est la plus développée. Ces trois formations sont seulement localisées en face de *H*, mais elles ne sont pas toujours rigoureusement au même niveau à l'intérieur de cette zone, ce qui explique l'absence fréquente d'une ou même deux d'entre elles selon le passage de la coupe. Cette structure forme une zone de séparation pour le reticulum de chaque demi sarcomère; aucun des tubules ou vésicules d'un côté de *H* ne se prolonge dans l'autre moitié du sarcomère et les cisternae de la zone *A* sont ainsi opposées de part et d'autre de cette structure.

#### DISCUSSION

Dans les fibres musculaires des vertébrés (3), le reticulum endoplasmique est un système qui comporte seulement des tubules, des vésicules, et des cisternae, formant comme des manchons très fenestrés autour des myofibrilles. Dans le cas présent des muscles du crabe bleu, la continuité transversale du reticulum au niveau de la zone *I* suggère un type de structure semblable à une paroi faite d'une double membrane, développée autour des myofibrilles et en connexion avec les autres parties tubulaires et vésiculaires du reticulum.

Au sujet des îlots de sarcoplasme isolés par le reticulum endoplasmique aux extrémités des sarcomères, en dépit de leur localisation terminale et

de leur présence de part et d'autre de la ligne *Z*, il s'agit là de formations différentes des "terminal cisternae" (3) du fait de leur paroi à double membrane et de leur contenu sarcoplasmique. Une alternative d'interprétation est alors possible: ou bien il n'y a pas de formations équivalente aux terminal cisternae dans ce type de muscle, ou bien ce sont les doubles membranes de la paroi des ces îlots qui correspondent aux "terminal cisternae."

Les cisternae de la zone *A* ont été désignées sous le terme de "central cisternae" par Porter et Palade (3) dans les muscles de la larve d'*Amblistoma* en raison de leur position en face de la bande *H*; ce sont des formations impaires en ce sens qu'elles sont représentées une seule fois dans chaque sarcomère. Dans le cas du crabe bleu, les cisternae de la zone *A* sont de chaque côté de la région de la bande *H*, séparée par la structure particulière du reticulum qui se rencontre au niveau de *H*; ce sont donc des formations paires et le terme de "cisternae proximales" pourrait être proposé pour marquer cette distinction.

Aucune communication transversale n'a été relevée entre les trois formations contiguës qui se trouvent en face de la bande *H*. D'autre part, les relations de ces formations avec les autres parties du reticulum ne peuvent malheureusement pas être définies ici, d'après des coupes transversales. Cette question est pourtant d'une certaine importance pour savoir dans quelle mesure ces formations introduisent une zone de séparation dans le reticulum des deux moitiés d'un sarcomère et en corollaire, dans quelle mesure elles peuvent communiquer entre elles par l'intermédiaire des cisternae et des vésicules qui sont situées à proximité. Pour essayer de résoudre ce problème et pour tenter de relier entre elles dans un sens longitudinal, les différentes modalités d'organisation du reticulum observées sur les coupes transversales, une étude de coupes longitudinales de ces muscles du crabe bleu est en cours d'élaboration.

#### REFERENCES

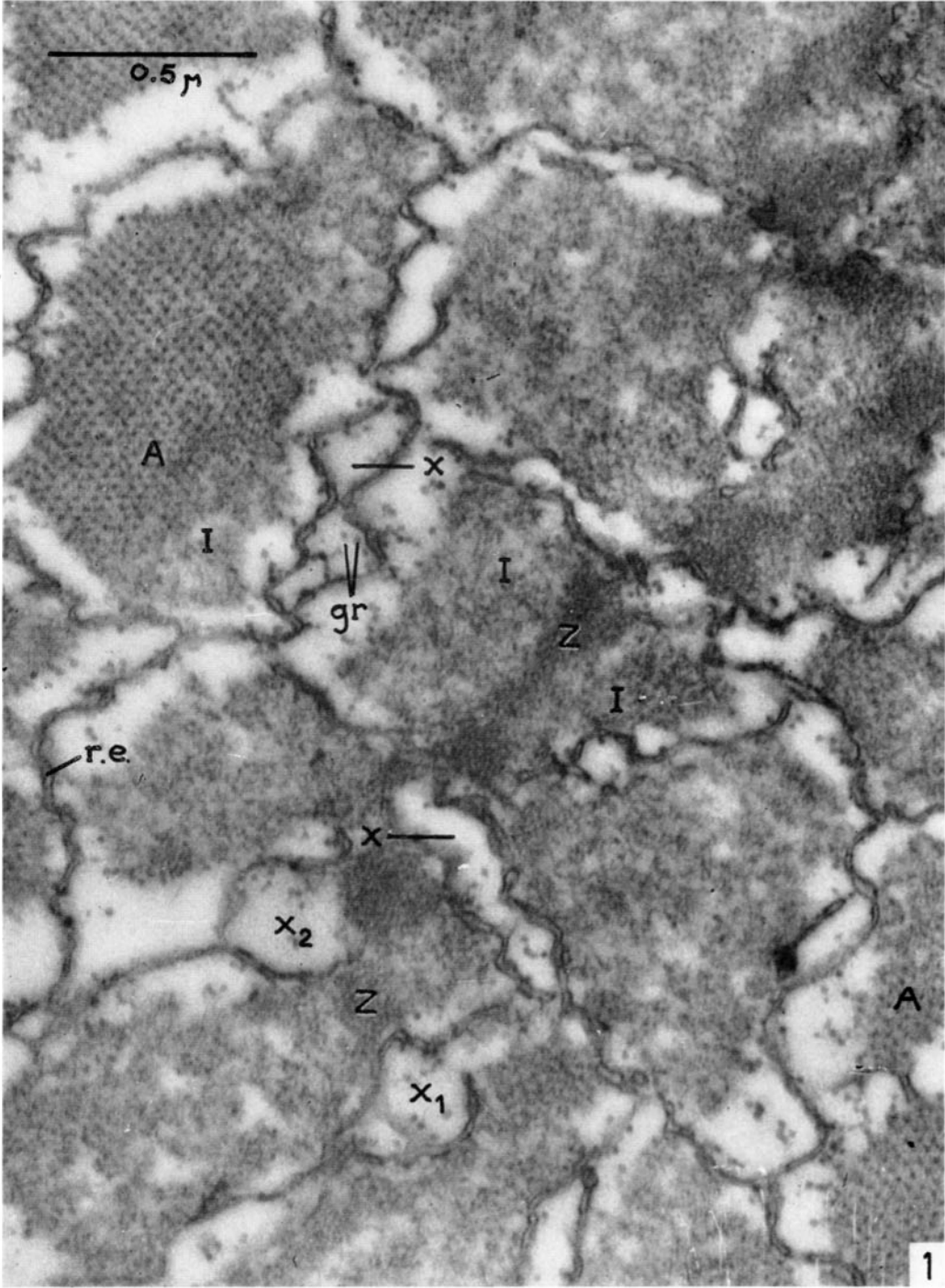
1. Palade, G. E., *J. Biophysic. and Biochem. Cytol.*, 1956, **2**, No. 4, suppl., 85.
2. Bennett, H. S., et Porter, K. R., *Am. J. Anat.*, 1953, **93**, 61.
3. Porter, K. R., et Palade, G. E., *J. Biophysic. and Biochem. Cytol.*, 1957, **3**, 269.
4. Smith, S. L., *Tr. Connecticut Acad. Sc.*, 1869, **2**, 7.
5. Sjöstrand, F. S., et Andersson-Cedergren, E., *J. Ultrastruct. Research*, 1957, **1**, 108.

EXPLICATION DES PLANCHES

## PLANCHE 220

FIG. 1. Micrographie électronique d'une coupe transversale de myofibrilles dans une fibre musculaire qui provient d'un maxillipède du crabe bleu. La coupe est légèrement oblique et passe en majorité par les zones isotropes (*I*) de deux sarcomères voisins, de chaque côté de la ligne *Z* (*Z*). Les zones anisotropes (*A*) sont atteintes par la coupe seulement vers la périphérie de la micrographie. A l'intérieur d'une même myofibrille est visible, en *A* à *I*, la transition entre la zone *I*, sans structure reconnaissable, et la zone *A*, à myofilaments bien individualisés.

La description du reticulum endoplasmique est donnée dans le texte et utilise les légendes suivantes: *r.e.*, reticulum endoplasmique; *x*, îlot de sarcoplasme isolé par le reticulum à proximité de la ligne *Z*; *x*<sub>1</sub>, même formation que *x* à laquelle correspond, de l'autre côté de *Z*, une formation équivalente, *x*<sub>2</sub>; *gr*, petits granules denses du sarcoplasme.  $\times 60.000$ .



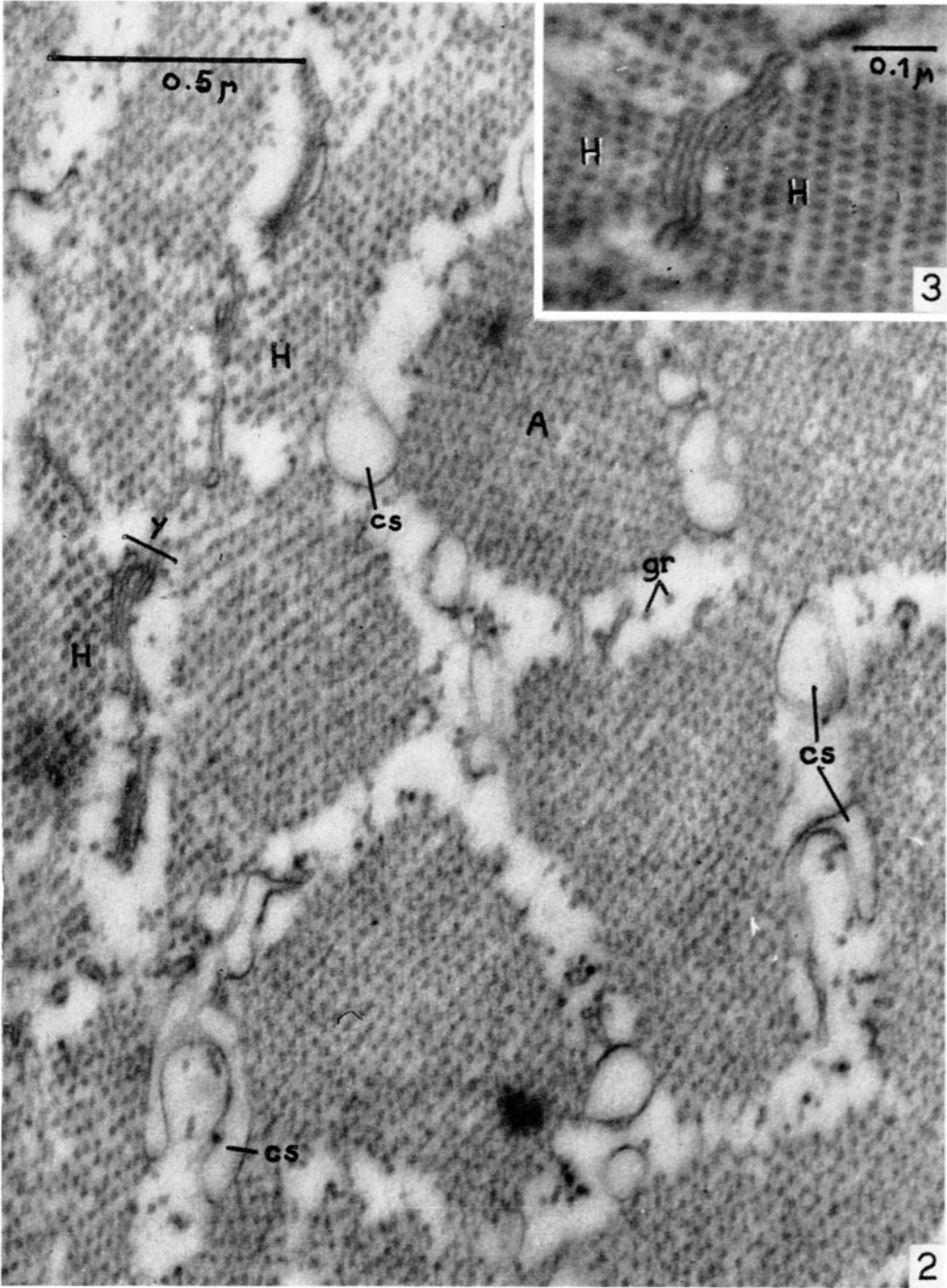
(Lavallard: Reticulum endoplasmique dans des fibres musculaires)

PLANCHE 221

FIG. 2. Micrographie électronique du même type de matériel que dans la Fig. 1, mais la coupe transversale intéresse ici la zone anisotrope (*A*) avec la bande *H* (*H*).

Les explications à propos du reticulum sont inclus dans le texte avec les légendes suivantes: *cs*, cisternae localisées à proximité de la bande *H*; *y*, reticulum endoplasmique au niveau de la bande *H*; *gr*, petits granules denses.  $\times 73.000$ .

FIG. 3. Micrographie électronique d'une coupe transversale passant par la bande *H* de deux myofibrilles voisines. Une formation analogue à celle désignée par *y* dans la Fig. 2 et comportant trois doubles membranes contigües, se trouve localisée dans le sarcoplasme interfibrillaire.  $\times 120.000$ .



(Lavallard: Reticulum endoplasmique dans des fibres musculaires)