

L'ultrastructure des cellules du pancréas endocrine chez l'embryon et le rat nouveau-né

DAVID FERREIRA¹

Laboratoire de Microscopie Electronique de l'Institut de Recherches sur le Cancer, Villejuif (Seine). Directeur : Prof. Ch. Oberling

Reçu le 11 février 1957

Cette étude porte sur l'examen au Microscope Electronique de coupes ultra-fines de pancréas endocrine d'embryon et de rat nouveau-né.

Les îlots de Langerhans sont entièrement constitués par des cellules β . L'analyse de l'ultrastructure de ces éléments révèle, en dehors des organites cellulaires bien communs la présence de grains sphériques, d'un diamètre moyen de 150 μ , répondant aux granulations β .

On observe tous les stades intermédiaires entre cette granulation et les microvésicules de l'appareil de Golgi, généralement hypertrophié. L'auteur attribue un rôle essentiel à cette organite cellulaire dans l'élaboration des granules de sécrétion.

Les cellules endocrines sont séparées des capillaires sanguins par un espace péricapillaire ou subendothélial. Au niveau de la membrane des cellules endothéliales, qui délimite cet espace, on note l'existence de pores et de petites protrusions. Le mécanisme du transport du produit de sécrétion vers la lumière capillaire est discuté.

La découverte de Langerhans qui, en 1869 (22), a signalé dans le pancréas les îlots qui portent son nom, a ouvert dans les études biologiques un chapitre nouveau dont l'importance n'a été comprise que 50 ans plus tard, à l'occasion de la découverte de l'insuline.

Bien que cet auteur ait été le premier à signaler l'existence des groupes cellulaires auxquels, plus tard, on a attribué la sécrétion endocrine du pancréas, c'est à Laguesse (19, 20) et Tschassownikow (33) que revient le mérite d'avoir précisé la description cytologique des îlots pancréatiques et en particulier d'avoir signalé leurs granulations caractéristiques.

En 1907, Lane (21) a reconnu dans les îlots de Langerhans deux types cellulaires différents : les cellules α dont les granulations résistent aux fixateurs alcooliques et les cellules β dont les granulations sont dissoutes par ces mêmes fixateurs, mais conservées

¹ Assistant à l'Institut d'Histologie et d'Embryologie de la Faculté de Médecine de Lisbonne. Boursier de l'Instituto para a Alta Cultura.

après l'emploi de fixateurs aqueux. Ces observations ont pu être confirmées, en 1911, par Bensley (1) qui a mis au point des colorations spécifiques permettant l'identification des différents types cellulaires. Enfin, l'emploi de ces méthodes à l'étude des espèces animales les plus variées et l'introduction de nouveaux procédés de coloration, parmi lesquels ceux de Gomori (13, 14) occupent une place très particulière, ont permis l'identification dans cet organe, d'autres types cellulaires appelés C et D. Chez le rat adulte, en particulier, les îlots de Langerhans sont constitués par trois types cellulaires: α , β et D. De nombreux travaux ont établi le rôle fondamental que jouent les cellules β dans la sécrétion de l'insuline, d'où l'importance de leur étude cytologique et physiologique. Le but de notre travail est d'éclaircir l'organisation ultrastructurale de ces éléments à l'aide du microscope électronique. Dalton (8) ainsi que Robertson (30) rapportent déjà l'observation de tissu endocrine à l'occasion de leur étude sur le pancréas exocrine d'animaux adultes. Ces auteurs n'ont remarqué qu'un seul type de cellules sans avoir précisé leur nature.

On pourrait s'imaginer que les différences histochimiques permettant la classification de ces cellules au microscope optique seraient accompagnées de différences ultrastructurales suffisantes pour permettre leur distinction au microscope électronique. Malheureusement les coupes ultra-fines du pancréas de rat adulte n'intéressent que rarement la partie endocrine et de ce fait, l'étude de la structure fine des îlots de Langerhans est rendue assez difficile.

Pour faciliter l'investigation de ce tissu, il est utile de se servir de matériel embryonnaire, et ceci pour deux raisons: d'une part, les îlots occupent une portion plus importante du pancréas, et sont donc plus facilement accessibles, d'autre part, ils sont constitués d'un seul type cellulaire. En effet, selon les travaux de Hard (17) confirmés par Neremberg (26) les cellules β sont les premières à se différencier dans le pancréas endocrine de l'embryon de rat vers le 18^e jour de la vie intra-utérine, et jusqu'au second jour après leur naissance, ces mêmes cellules sont le constituant exclusif des îlots.

MATERIEL ET METHODES

Les tissus faisant l'objet de cette étude proviennent du pancréas de 15 embryons de rats du 18^e au 20^e jour de la gestation, ainsi que de 8 rats nouveaux-nés (1 à 2 jours).

L'extraction des embryons a été pratiquée sur des femelles préalablement anesthésiées à l'éther. Tout de suite après, la cavité abdominale du fœtus est ouverte et quelques gouttes de fixateur sont versées sur le pancréas. Celui-ci est ensuite isolé et coupé en petits morceaux d'un millimètre cube à l'aide d'une lame de rasoir. Les animaux nouveaux-nés, après décapitation ont subi le même traitement.

Après fixation d'une à deux heures à l'acide osmique à 1% tamponné selon Palade (+ 3°C), les fragments ont été déshydratés dans l'appareil de Bernhard (2) et inclus au *n*-butylméthacrylate selon la technique courante. Les coupes faites avec l'ultramicrotome de Porter-Blum ont été observées au microscope RCA EMU 2E.

RESULTATS

L'ultrastructure de la cellule β .—A un faible grossissement, les cellules présentent une région basale, en partie occupée par le noyau et une zone apicale (pôle vasculaire) en rapport avec un capillaire sanguin.

Dans le cytoplasme, outre les éléments communs à d'autres types cellulaires : le chondriome, l'appareil de Golgi et l'ergastoplasme, on observe des granulations frappantes par leur forte osmiophilie. (fig. 1.)

Le *noyau* à structure granuleuse est, comme d'habitude, limité par une double membrane où l'on peut observer des pores. Il n'est pas rare de voir un nucléole toujours relativement petit par rapport au volume total du noyau. Quelquefois, il présente l'aspect filamenteux ou réticulé décrit au microscope électronique dans d'autres cellules animales (3, 4, 5).

Le *chondriome* très polymorphe est constitué par des mitochondries ovalaires ou allongées, aspects résultant de différentes incidences de coupe.

L'*ergastoplasme* est représenté par des sacs ou des vésicules; sur leur membrane adhèrent les particules ribonucléoprotéiques décrites par Palade (28). Ceux-ci se trouvent également isolés et dispersés dans tout le cytoplasme.

L'*appareil de Golgi* paraît hypertrophié (fig. 2 à 4). En accord avec les descriptions de Dalton et Felix (8), Sjöstrand et Hanzon (32), Haguenau et Bernhard (16) on peut y reconnaître ces trois constituants habituels :

- 1° Les grandes vacuoles limitées par des membranes sans granules, quelquefois allongées avec l'aspect de canaux sinueux.
- 2° Les microvésicules ou granules limités par une membrane très nettement dessinée. De contenu très dense, ils sont surtout nombreux à la périphérie des grandes vacuoles.
- 3° Les faisceaux de doubles membranes lisses.

Ces trois éléments se situent dans une zone de la cellule dont la substance fondamentale plus dense est quelquefois parcourue par des fibrilles très minces (30 Å) qui s'entrecroisent (fig. 3).

Les *granulations β* , qu'on peut observer dans tout le cytoplasme sont plus nombreuses dans la zone située entre l'appareil de Golgi et le pôle vasculaire. Sphériques ou légèrement ovalaires (effet de compression de la coupe par le rasoir), elles possèdent un centre très osmiophile séparé du cytoplasme par une zone moins dense. Cette zone est séparée du corps central par une membrane interne, et du cytoplasme par une membrane externe. Le corps central est homogène dans la plupart des granulations, mais il peut présenter des zones de condensation. Le diamètre des granulations a été mesuré séparément chez les embryons et les nouveaux-nés. La différence des deux moyennes obtenues n'est pas significative.

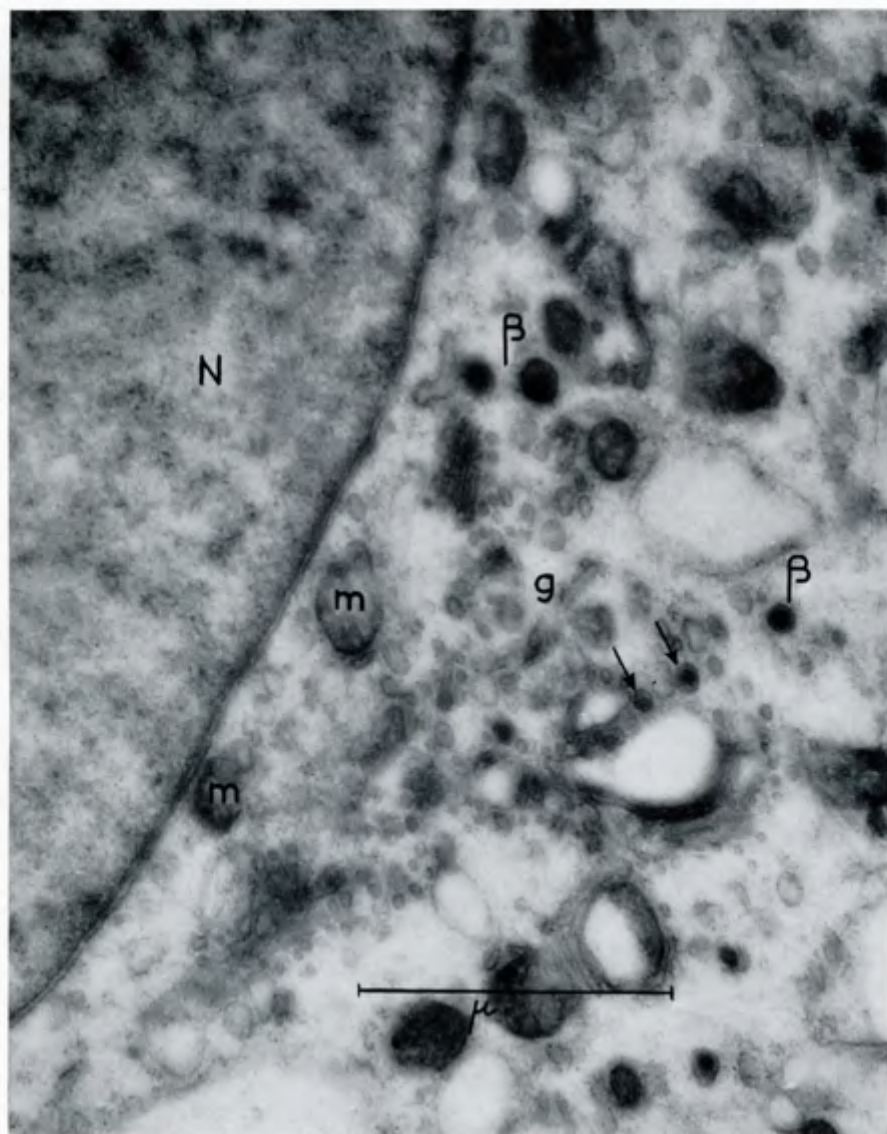


FIG. 1.—Cellule endocrine d'un îlot de Langerhans d'un rat âgé de 2 jours. Portion cellulaire avec noyau (*N*), Appareil de Golgi (*g*), mitochondries (*m*) et granulations β . Les flèches (\rightarrow) indiquent des ébauches de ces granules dans les microvésicules golgiennes. 42.000 \times .

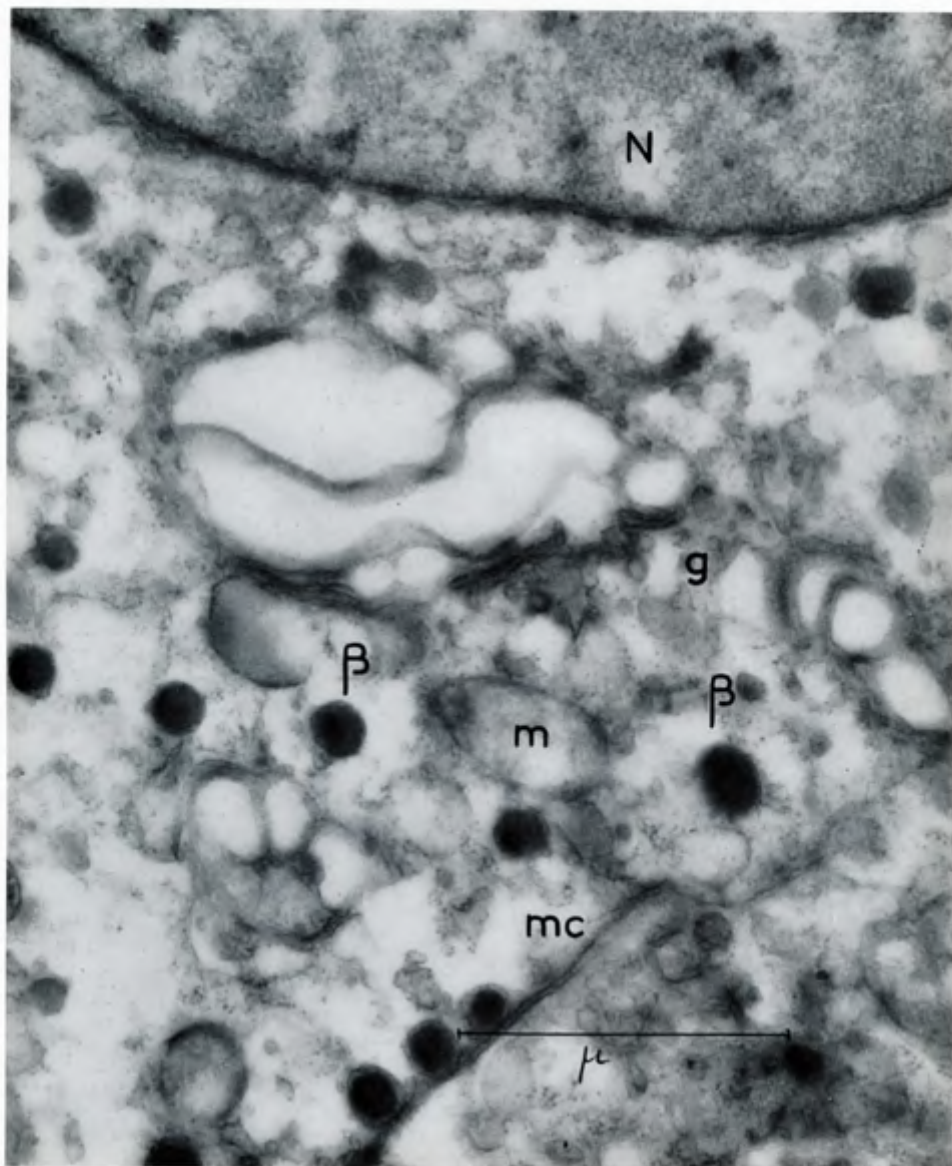


FIG. 2.—Cellule insulaire d'un embryon de rat de 20 jours, montrant l'appareil de Golgi (g) et dans son voisinage des granulations β . N = Noyau. mc = Membrane cellulaire. 44.000 \times .

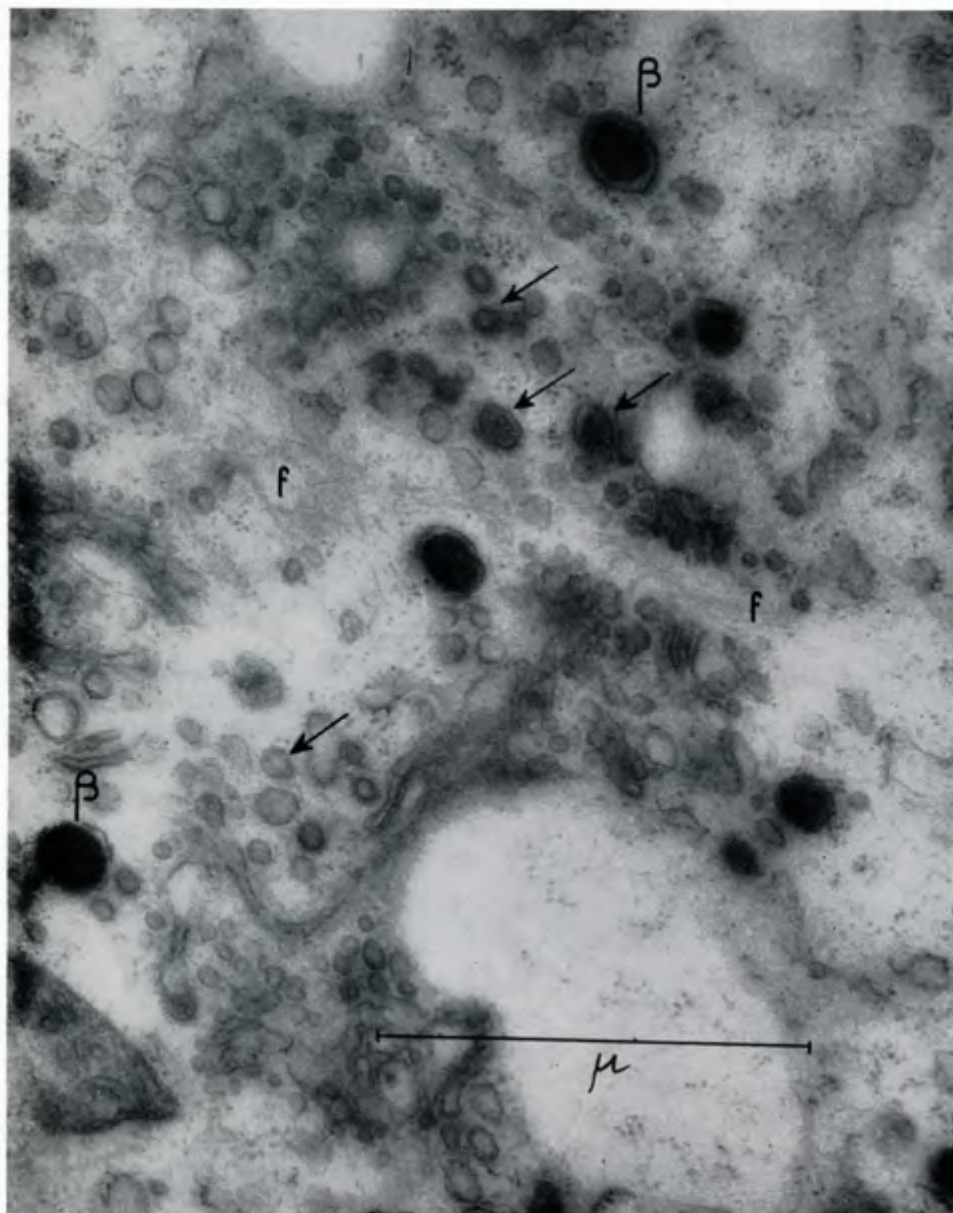


FIG. 3.—Îlot de Langerhans, rat de 2 jours. Portion d'une cellule avec un appareil de Golgi très développé au sein duquel on remarque des granules de transition (→) entre les microvésicules Golgiennes et la granulation β . Présence de fines fibrilles (*f*) dans la substance fondamentale. 59.000 \times .

L'ensemble des mesures considérées comme échantillons d'une seule population donne un diamètre moyen de 150 $m\mu$ environ.

Rapport entre l'appareil de Golgi et les granulations β .—Les microvésicules et les granules de l'appareil de Golgi ne sont pas homogènes (fig. 1). Leur différence de taille et de densité frappe l'observateur. En dehors des petites vésicules ou granules à parois simples qui sont les plus fréquentes, il en existe d'autres, plus grandes, à parois doubles et à contenu plus dense (fig. 3). Plus rarement, on observe des granules avec une zone centrale bien contrastée et très osmiophile. Ainsi, entre les vésicules et granules de l'appareil de Golgi et les granulations tous les aspects intermédiaires peuvent être observés. Cette succession d'images suggère l'origine de ces granulations. Ces observations sont en accord avec celles rapportées pour deux autres types cellulaires : d'une part Sjöstrand et Hanzon (32) ont décrit dans le pancréas exocrine de la souris des rapports semblables entre les granules de l'appareil de Golgi et les grains de zymogènes; d'autre part, Haguenau et Bernhard (16) ont signalé une participation probable de l'appareil de Golgi dans la formation des granulations spécifiques des cellules du lobe antérieur de l'hypophyse.

Rapport entre les cellules et les capillaires sanguins.—Dans les cellules endothéliales qui constituent la paroi des capillaires du pancréas endocrine, on observe, à l'exception de l'appareil de Golgi tous les organites cellulaires habituels.

La surface endothéliale peut présenter des encoches pénétrant profondément dans le cytoplasme (fig. 5). Les capillaires et les cellules du parenchyme endocrine sont séparés par un *espace péricapillaire ou sous-endothélial* (fig. 5), délimité d'une part par la membrane cellulaire de l'endothèle, d'autre part par la paroi du pôle vasculaire des cellules endocrines. Cet espace présente un écartement moyen d'environ 80 $m\mu$. On y trouve une substance amorphe de faible contraste électronique, adjacente aux deux membranes. L'ensemble de cette formation correspond à la basale des auteurs classiques. Fait important : la membrane endothéliale paraît fréquemment interrompue par des pores de 300 Å de diamètre environ. En coupe perpendiculaire, ceux-ci se présentent sous forme de petites protrusions vésiculaires dans le cytoplasme endothélial (fig. 5). Par ailleurs, les granulations β situées dans le pôle vasculaire de la cellule sont souvent en contact par l'intermédiaire de leur membrane avec l'espace péricapillaire (fig. 5).

DISCUSSION

Grâce à un matériel particulièrement favorable, ces observations nous ont permis en premier lieu d'identifier la structure des cellules et granulations β . Il est probable que la comparaison entre les cellules ici décrites et les îlots de Langerhans d'animaux adultes permettra également de reconnaître les autres types cellulaires. En second

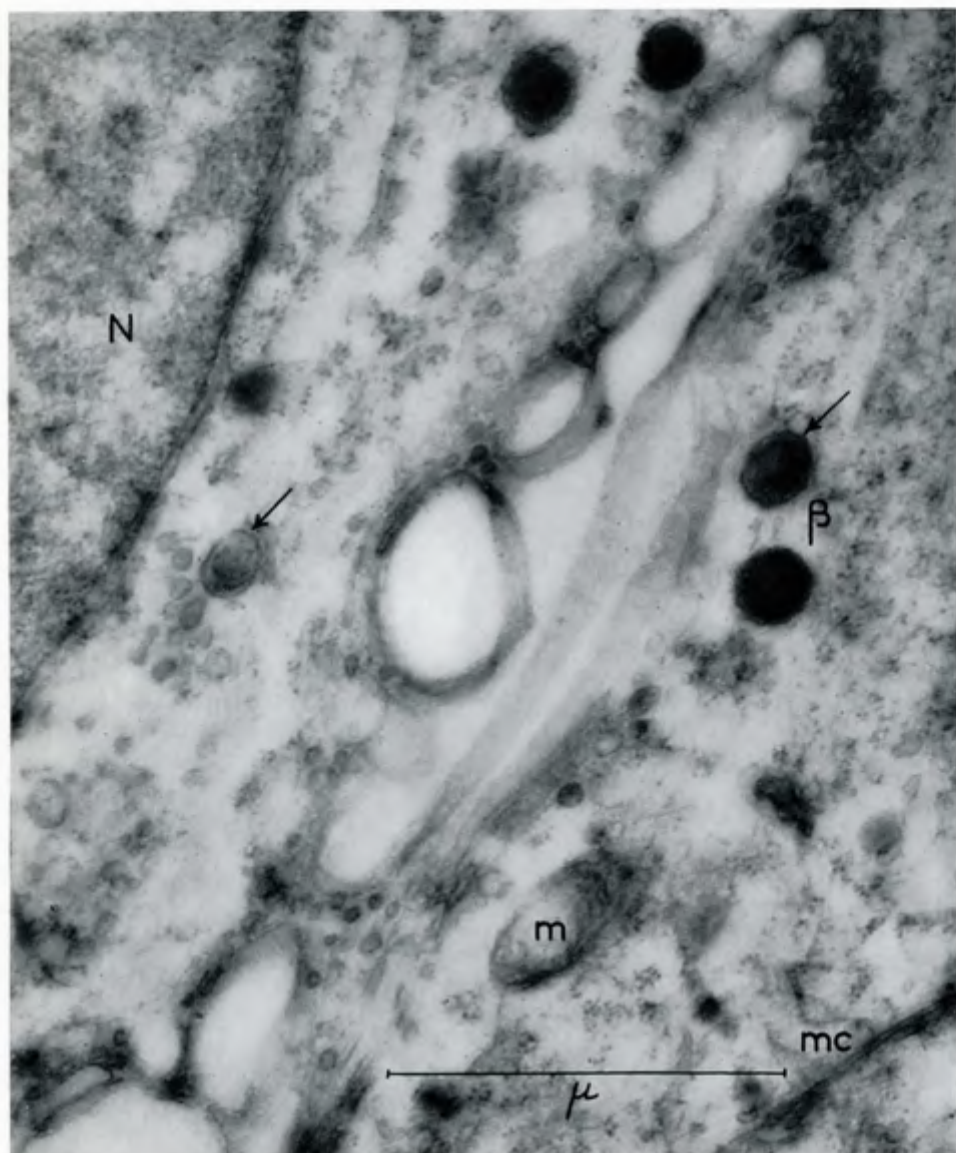


FIG. 4.—Îlots de Langerhans, embryon de 20 jours. Portion d'une cellule β avec quelques granulations spécifiques dont l'ultrastructure est bien visible (\rightarrow). *mc* = Membrane cellulaire. 53.000 \times .

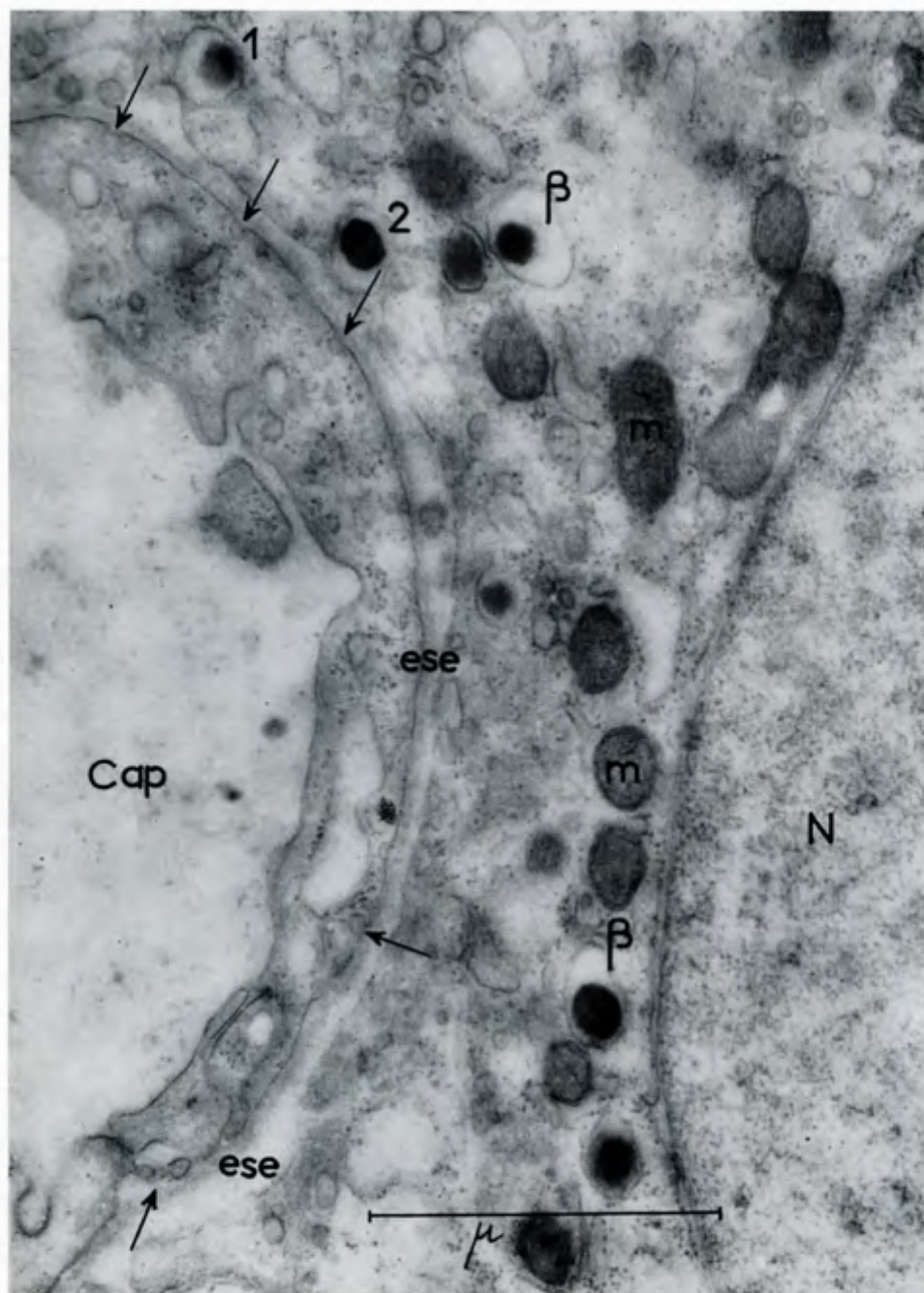
lieu, cette étude jette une lumière sur la genèse d'une granulation spécifique d'une glande endocrine. Etant donné que les granulations β contiennent les précurseurs de l'insuline, il est d'un grand intérêt de savoir quel organite cellulaire les élabore et quelle structure elles présentent au microscope électronique. En 3^e lieu, il a paru utile de préciser les rapports entre ces cellules et les capillaires afin de savoir si le mécanisme du passage d'un produit de sécrétion endocrine peut être éclairci par la morphologie ultrastructurale.

La *genèse des granulations* au sein de l'appareil de Golgi s'accorde bien avec certaines hypothèses classiques, notamment avec celle de Cajal (6), qui a déjà admis en 1914 que les produits de sécrétion des glandes salivaires et du pancréas exocrine seraient dus à l'activité de l'appareil de Golgi. Après cet auteur beaucoup d'autres ont essayé d'établir le même rapport, tant dans les cellules glandulaires exocrines que dans les cellules endocrines. La relation entre l'appareil de Golgi et le sens de l'excrétion signalée par Cajal (6) est largement rapportée par la littérature classique. Entre autres, plusieurs hypothèses ont essayé d'expliquer en détail sa participation dans l'élaboration des grains sécrétoires (voir 18), mais les ressources de la microscopie optique n'ont pas permis de les vérifier. Ce n'est qu'après la première mise en évidence, des structures golgiennes au microscope électronique par Dalton et Felix (8) que l'étude de ce mécanisme obscur pouvait être abordé. Ainsi, Sjöstrand et Hanzon (32) sont arrivés à admettre la participation de l'appareil de Golgi dans la formation des grains de zymogène dans les cellules du pancréas exocrine. Deux observations servent de base à leur conclusion: la localisation des granules de zymogène en rapport avec l'appareil de Golgi d'une part, et les images de transition entre les granules Golgiens et les granules de sécrétion de l'autre. Le rôle élaborateur de l'appareil de Golgi a aussi été admis, bien qu'avec réserves, par Haguénau et Bernhard (16) pour les granulations des cellules basophiles de la préhypophyse.

Nos observations sont analogues à celles de ces auteurs: la localisation topographique des grains rassemblés en plus grand nombre dans la zone comprise entre l'appareil de Golgi et le pôle sécrétoire de la cellule et les images de transition très frappantes entre les grains golgiens et les grains de sécrétion sont caractéristiques.

D'autre part, il n'a pas été possible de trouver de rapport entre les grains de sécrétion et les autres organites cellulaires. L'hypothèse de leur origine aux dépens du chondriome ne peut plus être admise. On se souvient que cette théorie a eu beaucoup de partisans parmi les histologistes classiques, et plus récemment encore le travail

FIG. 5.—Îlots de Langerhans, Rat de 2 jours. Cellule et Capillaire (Cap.) séparés par l'espace sub-endothélial (e.s.e.) (« Membrane basale » au microscope optique). Dans cet espace, présence d'une substance amorphe condensée le long des membranes cellulaires. Les flèches (\rightarrow) indiquent la portion des pores et protrusions de la membrane endothéliale. (1) et (2) Granulations β en contact avec l'espace subendothélial. 48.000 \times .



de Challice et Lacy (7) tend à démontrer l'élaboration des grains de zymogène par les mitochondries. Cependant la documentation apportée pour ces auteurs ne nous paraît pas suffisamment démonstrative.

Quant au rapport existant entre les cellules insulaires et les capillaires sanguins, il convient de comparer nos observations à celles déjà signalées pour d'autres organes. L'espace subendothélial ou péricapillaire a été déjà mis en évidence dans des tissus endocriniens. Il est d'autre part comparable à l'espace situé entre les cellules endothéliales et les cellules du foie décrites par Disse (10) et dont l'existence réelle a pu être démontrée au microscope électronique (12, 31).

Farquhar et Rinehart (11) l'ont décrit dans le lobe antérieur de l'hypophyse, Dempsey et Petterson (9) dans la thyroïde et Lever (25) dans la surrénale et parathyroïde. Nous n'avons pas observé dans cet espace des fibrilles collagènes comme le signalent ces auteurs. Dans le lobe antérieur de l'hypophyse, Green et van Bremen (15) y ont observé des granules de sécrétion, contrairement à ces auteurs, aucune formation identifiable aux granulations n'a pu être reconnue entre les deux membranes limitant l'espace péricapillaire.

Rinehart et Farquhar (29) ont décrit dans cet espace au niveau du lobe antérieur de l'hypophyse des masses cytoplasmiques contenant des granulations.

Selon ces auteurs, les granulations y seraient solubilisées et passeraient ainsi sous la forme diffuse dans la circulation. Le travail de Lever (24) pourrait être cité à l'appui de cette hypothèse. Etudiant après stimulation la médullaire et le cortex surrénal, cet auteur signale l'existence d'une masse diffuse dans l'espace sub-endothélial qu'il interprète comme produit de sécrétion. Mais, il ne s'agit probablement que de cette substance amorphe signalée ci-dessus, et constamment présente dans cet espace.

L'interprétation de nos propres images ne peut définitivement trancher la question. S'il paraît acquis que les granulations β se forment au niveau de l'appareil de Golgi s'accroissent ensuite à la membrane cellulaire pour entrer en contact intime avec l'espace péricapillaire, le mécanisme de leur passage reste à être élucidé. Les granules pourraient en effet se solubiliser et leur contenu passer à travers les différentes barrières membraneuses sur une forme invisible au microscope électronique. Mais, tenu compte de l'existence des pores et des protrusions au niveau de la membrane endothéliale basale, il est fort probable que le produit de sécrétion traverse par petits paquets la membrane selon un mécanisme déjà suggéré par Palade (28).

En conclusion, ce travail ne donne que les premiers éléments d'une étude des îlots de Langerhans au microscope électronique. On peut cependant facilement prévoir de nouvelles recherches qui, s'attaquant surtout à l'étude des variations fonctionnelles et des états pathologiques de ces glandes, pourront fournir d'autres renseignements du plus haut intérêt sur leur structure fine.

Nous exprimons notre profonde reconnaissance au D^r Bernhard qui nous a guidé de ses précieux conseils tout au long de ce travail. Nous remercions très vivement M^{lle} Karin Lindmark et M. Halpern pour leur très utile collaboration technique.

BIBLIOGRAPHIE

1. BENSLEY, R. R., *Am. J. Anat.* 12, 297 (1911).
2. BERNHARD, W., *Exptl. Cell Research* 8, 248 (1955).
3. BERNHARD, W., BAUER, A., GROPP, A., HAGUENAU, F. et OBERLING, CH., *Exptl. Cell Research* 9, 88 (1955).
4. BERNHARD, W., HAGUENAU, F. et OBERLING, CH., *Experientia* 8, 58 (1952).
5. BORYSKO, E. et BANG, F., *Bull. Johns Hopkins Hosp.* 89, 468 (1951).
6. CAJAL, S. R., *Trab. lab. inv. bio.* 12, 127 (1914).
7. CHALLICE, C. E. et LACY, D., *Nature* 174, 1150 (1954).
8. DALTON, A. J., *Am. J. Anat.* 89, 109 (1951).
9. DEMPSEY, E. W. et PETERSON, R. R., *Endocrinology* 56, 46 (1955).
10. DISSE, J., cité d'après FAWCETT, D. W., *J. Appl. Phys.* 24, 1424 (1953).
11. FARQUHAR, M. G. et RINEHART, J. F., *Endocrinology* 55, 857 (1954).
12. FAWCETT, D. W., *J. Natl. Cancer Inst.* 15, 1475 (1955).
13. GOMORI, G., *Anat. Record* 74, 439 (1939).
14. — *Am. J. Pathol.* 15, 497 (1939).
15. GREEN, J. D. et VAN BREMEN, V. L., *Am. J. Anat.* 97, 177 (1955).
16. HAGUENAU, F. et BERNHARD, W., *Arch. anat. micr. morph. exp.* 44, 27 (1955).
17. HARD, W., *Am. J. Anat.* 75, 369 (1944).
18. HIRSCH, G. C., *Form und Stoffwechsel der Golgi-Körper*, Edit. BORNTÄGER. Berlin, 1939.
19. LAGUESSE, E., *Compt. rend. soc. biol.* 45, 819 (1893).
20. — Rapport au 16^e Congr. intern. Médec. Budapest, 1909.
21. LANE, M. A., *Am. J. Anat.* 7, 409 (1907).
22. LANGERHANS, cité d'après WARREN, S. et LE COMPTE, P., *The Pathology of Diabetes Mellitus*, Lea & Febiger, Philadelphia, 1952.
23. LEVER, J. D. *Am. J. Anat.* 97, 409 (1955).
24. — *Endocrinology* 57, 621 (1955).
25. — *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 2, Suppl. 1956.
26. NEREMBERG, S. T., *A.M.A. Arch. Pathol.* 58, 236 (1954).
27. OPIE, E. L., *Cytology of the Pancreas in Special Cytology*. Ed. by E. COWDRY. New York, 1932.
28. PALADE, G. E., *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 2, Suppl. 1956.
29. RINEHART, J. F. et FARQUHAR, M. G., *Anat. Record* 121, 207 (1955).
30. ROBERTSON, J. S., *Australian J. Exptl. Biol. Med. Sci.* 32, 229 (1954).
31. ROUILLER, CH., *Compt. rend. soc. biol.* 148, 2008 (1954).
32. SJÖSTRAND, F. S. et HANZON, V., *Exptl. Cell Research* 7, 415 (1954).
33. TSCHASSOWNIKOW, S., cité d'après WARREN, S. et LE COMPTE, P., *The Pathology of Diabetes Mellitus*. Lea & Febiger, Philadelphia, 1952.